

Nueva técnica difásica en tubo para el diagnóstico de estrogiloidiasis

New diffasic tube technique for the diagnosis of strongyloidiasis

Maldonado Adriana¹, Rivero de Rodríguez Zulbey², Bracho Angela¹, Avila Ayarí³.

¹Práctica Profesional de Parasitología (P. P. de Parasitología). Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

²Docente Jubilado de P. P. de Parasitología Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia y Docente de Parasitología de la Universidad Estatal del Sur de Manabí (UNESUM)

³Departamento de Salud Pública y Social, Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia.

Autor de correspondencia: Adriana Maldonado, e-mail: adrianam2410@hotmail.com

Resumen

Se realizó un estudio de enteroparásitos en una población indígena, a través del cual se propuso un nuevo procedimiento de diagnóstico para estrogiloidiasis, técnica difásica en tubo (TDT), con el objeto de compararla con la de agar en placa (Arakaki). La metodología consistió en análisis de muestras fecales de 50 individuos mediante examen al fresco, técnica de concentración de Ritchie, técnica de agar en placa y la TDT aquí propuesta. Se obtuvo una prevalencia parasitaria y poliparasitismo elevados, con 94% y 70% respectivamente. *Blastocystis* spp. (chromista) prevaleció, seguido de *Giardia intestinalis*, entre los protozoarios, mientras entre los helmintos predominaron los geohelmitos, encabezados por *Trichuris trichiura* y *Strongyloides stercoralis*. La sensibilidad y especificidad de la TDT fue 75% y 66,7 %, respectivamente, a las 24 horas de lectura, aislándose la especie 1,5 veces más sobre la técnica tradicional, y de 85,71% y 16,67% a las 48 horas, recuperándose el nemátode 1,6 veces más, mostrando una mayor sensibilidad. No se reportaron casos de estrogiloidiasis a través del examen al fresco, ni por la técnica de Ritchie. Se concluye que la TDT, es más eficaz para diagnóstico de la especie *S. stercoralis*, tanto a las 24 como a las 48 horas de lectura.

Palabras Clave: Parásitos intestinales; *Strongyloides stercoralis*; estrogiloidiasis; técnica de agar en placa; técnica difásica en tubo.

Abstract

A study of enteroparasites in an indigenous population was carried out, through which a new diagnostic procedure for strongyloidiasis, diphasic technique in tube (DTT), was proposed, in order to compare it with plaque agar (Arakaki). The methodology consisted in the analysis of fecal samples of 50 individuals by means of a fresh test, Ritchie concentration technique, plate agar technique and the DTT proposed here. A high parasitic prevalence and poliparasitism was obtained, with 94% and 70% respectively. *Blastocystis* spp. (chromist) prevailed, followed by *Giardia intestinalis*, among the protozoa, while among the helminths the geohelminths predominated, headed by *Trichuris trichiura* and *Strongyloides stercoralis*. The sensitivity and specificity of DTT was 75% and 66.7%, respectively, at 24 hours of reading, the species being isolated 1.5 times more on the traditional technique, and 85.71% and 16.67% at 48 hours, recovering the nematode 1.6 times more, showing greater sensitivity. No cases of strongyloidiasis were reported through the fresh examination, nor by the Ritchie technique. It is concluded that DTT, is more effective for diagnosis of the species *S. stercoralis*, both at 24 and at 48 hours of reading.

Keywords: Intestinal parasites; *S. stercoralis*; strongyloidiasis; agar plate technique; diphasic tube technique.

Introducción

Las parasitosis intestinales durante muchos años se han mantenido como un problema de gran importancia en salud pública, principalmente en países de economías emergentes, donde diversos estudios demuestran que las condiciones insatisfactorias de saneamiento básico, favorecen el contacto entre las formas evolutivas infectantes de los enteroparásitos y sus hospederos, encontrándose así ampliamente distribuidas en todo el mundo (1-3). Resaltan también por su elevada diversidad de manifestaciones clínicas, ya que, aunque la mayoría cursan de forma asintomática y poseen una tasa de mortalidad relativamente baja, pueden presentar complicaciones (4,5).

Existen parásitos intestinales con características particulares para su investigación, tal es el caso de *Strongyloides stercoralis*. Este geohelminto posee factores biológicos excepcionales, como lo son sus formas evolutivas tanto infectante como diagnóstica dentro de su ciclo habitual. En este sentido, la larva filariforme que penetra activamente a través de la piel de su hospedero definitivo humano, requiere condiciones climáticas y del suelo que le permitan su viabilidad y mantenimiento hasta su penetración. Por otro lado, su forma

diagnóstica más frecuente, la larva rhabditoide, por lo regular requiere métodos más específicos para su separación que un examen de heces directo, que por sí mismo confiere una baja sensibilidad para su detección (6).

S. stercoralis es un reconocido patógeno causante de la strongiloidiasis que, si bien puede presentarse de manera asintomática, también se manifiesta en forma aguda o crónica, caracterizándose por la aparición de signos clínicos intestinales, de piel y pulmonares, o complicaciones severas como el síndrome de hiperinfección y la strongiloidiasis diseminada, generalmente asociados con algún tipo de inmunodeficiencia que pueden conllevar a malnutrición y acentuación de síntomas (7).

Es conocido por su capacidad patógena en estrecha relación con la respuesta inmune del hospedero, comportándose como un agente oportunista en pacientes inmunocomprometidos por causas como trasplantes, desnutrición, alcoholismo y VIH, quienes presentan infecciones masivas o síndromes de hiperinfección, con invasión de todo el intestino, incluso los conductos pancreático y biliar, con posible diseminación sistémica que comprometen la vida del paciente (6).

En años anteriores se ha reportado que alrededor de cien millones de personas en el mundo han sido infectadas por *S. stercoralis*, ya que, siendo una enfermedad endémica del trópico, su prevalencia oscila ampliamente entre 1% y hasta 48% dependiendo de la región estudiada (8) y probablemente de las metodologías usadas para su diagnóstico. Por las mismas razones, en Venezuela, existen estudios que reportan prevalencias variables en diferentes estados (9-11) incluyendo el Zulia (12,13).

La indagación sobre la aplicación de métodos parasitológicos más sensibles y específicos para la detección del mencionado helminto en zonas endémicas, es sumamente relevante dada la morbilidad que puede ocasionar la parasitosis; los resultados serían un gran aporte para el manejo de la entidad parasitaria en la población susceptible, lo cual redundaría en un mejor tratamiento de los pacientes afectados, con probables repercusiones en la disminución de su morbi-mortalidad.

Aun cuando existen técnicas destinadas a la determinación de esta especie y varios estudios que soportan su aplicación (14-16), el objetivo de la presente investigación es comparar la nueva metodología o técnica difásica en tubo (TDT) aquí propuesta, con la técnica tradicional de agar en placa de Arakaki, ya que se considera que elevaría la sensibilidad y aportaría grandes ventajas al momento de realizar el diagnóstico de esta parasitosis.

Material y método

Diseño de la investigación: la investigación es de tipo descriptivo y comparativo, ya que se centró en la recolección, sistematización y ordenación de la información obtenida, para la presentación y posterior análisis de los datos, que permitieron describir la situación objeto de estudio, y comparar las técnicas de análisis parasitológico (17). El diseño de la investigación es no experimental transversal de prevalencia y de campo, pues se fundamentó en la indagación en un momento específico, de la prevalencia de enteroparasitosis y particularmente de la estrongiloidiasis en la población objeto de

estudio, para posteriormente comparar las técnicas de diagnóstico analizadas. Este tipo de trabajos poseen fines descriptivos, o bien pueden tener a la vez fines explicativos, encaminándose a la obtención de información sobre la presencia de asociación entre variables (18).

Población y Muestra: la población estuvo conformada por individuos de todas las edades sin distinción de sexo, pertenecientes a la comunidad indígena Iripa con una estimación aproximada de 300 habitantes, ubicada en el sector El Tokuko del municipio Machiques de Perijá del estado Zulia, Venezuela; cuyas coordenadas son 10°03'38"N 72°33'00"O, en la costa occidental del lago de Maracaibo. La muestra se calculó mediante la fórmula $Z_2PQN/E_2(N-1)+Z_2QP$ que se emplea para poblaciones finitas en estudios cualitativos, eligiéndose los sujetos en forma aleatoria (19). De esta manera, quedó constituida por un grupo de 50 personas.

Así mismo, se realizó un muestreo aleatorio simple, y posteriormente se agrupó según sexo y de acuerdo a la edad, en intervalos de 1 a 5 años, 6 a 10 años, 11 a 18 años, 19 a 49 años y más de 50 años.

Método: para la recolección de las muestras de heces, se realizó una visita a la comunidad, solicitando la autorización a sus dirigentes para la realización del estudio, a la vez que se hizo entrega de un envase recolector de plástico grande por cada individuo. El muestreo se realizó en el mes septiembre de 2016, siguiendo las normas de bioética establecidas en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, en su versión adoptada en la LII Asamblea General de Edimburgo (20).

Una vez reunidas, las muestras fueron procesadas lo antes posible en el mismo sitio de su obtención, donde se les practicó un examen de heces al fresco con solución salina fisiológica y coloración temporal de lugol (21), así como el montaje de la técnica de agar en placa para la investigación de larvas de *S. stercoralis* (22); a la vez, se realizó el montaje de una "técnica difásica en tubo" (TDT). Por otro lado, una porción de cada espécimen, fue preservada en formol salino al 7% y trasladada al laboratorio de Parasitología de la Escuela de Bioanálisis

de la Universidad del Zulia, para la posterior realización de la técnica de concentración fecal de Ritchie (21).

Descripción de la Técnica Difásica en Tubo: Esta es la metodología propuesta e ideada para el aislamiento y obtención de larvas de *S. stercoralis*. Se fundamenta básicamente en el hidrotropismo, capacidad de migración y tendencia a sedimentar que poseen las formas larvianas, empleando para ello dos fases, una semisólida que permite sembrar la muestra y propiciar el recorrido de las formas evolutivas hacia la segunda fase, la líquida, que facilitará su sedimentación, recolección y final visualización microscópica.

Para realizar esta técnica, se siguieron los pasos que se detallan a continuación:

Se preparó agar nutritivo en bisel sometido a autoclave para su esterilización, empleando tubos de ensayo de 17x100 mm.

Al momento de la inoculación del agar, se le agregó 0,5 ml (500 micro litros) de agua destilada, en función de aprovechar el hidrotropismo de las larvas, empleando una pipeta semiautomática calibrada.

Posteriormente, una vez bien mezclada la muestra fecal con la ayuda de un aplicador de madera, se tomó una porción de 50 mg aproximadamente (tamaño de un frijol) y se sembró el agar, colocándola en la parte superior del bisel.

Seguidamente, se cerró el tubo con una capa de gasa para evitar contaminantes externos y a la vez permitir la aireación del tubo, incubándose a temperatura ambiente por 24 horas.

Transcurrido ese tiempo, se mezcló el tubo con ligeros movimientos, para que las larvas que podían estar aún en el bisel fueran arrastradas hacia la fase líquida. Inmediatamente, se procedió a tomar 0,05 ml (50 micro litros) con una pipeta semiautomática calibrada, para ser visualizada posteriormente al microscopio óptico entre lámina y laminilla con objetivo de 10X. En el caso de observar larvas, se le agregó por capilaridad la coloración

de lugol, para inmovilizarlas e identificarlas según su morfología. Este paso puede realizarse igualmente empleando una pipeta Pasteur, un gotero, o simplemente por inversión del tubo, ya que no se requiere exactitud en la cantidad.

Al no observar larvas a las 24 horas, se procedió a incubar nuevamente el tubo a temperatura ambiente para un total de 48 horas, repitiendo entonces el paso anteriormente descrito. Los agares en tubo con resultados negativos a las 48 horas, fueron descartados.

Se aclara que los tubos fueron manejados en todo momento empleando las técnicas de bioseguridad pertinentes (uso de guantes), pues al incubar, las larvas rhabditoides pueden evolucionar a larvas filariformes, forma infectante del geohelminto.

Análisis estadístico; el análisis de los datos se efectuó a través de estadística descriptiva, empleando valores absolutos, porcentajes y razones, para lo cual se elaboraron tablas representando las principales variables en estudio. Para demostrar el poder predictivo de la prueba propuesta: técnica difásica en tubo para el diagnóstico de estrongiloidiasis, se realizaron análisis de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, utilizando como prueba de gold standard o test de referencia, la técnica tradicional de cultivo de agar en placa, y se compararon entre esas metodologías la obtención de larvas estimando los intervalos de confianza al 95%. Se empleó el programa SPSS versión 20.

Resultados

Participaron en el estudio 29 personas del sexo femenino (58%) y 21 del sexo masculino (42%) de todas las edades. El grupo etario con mayor participación fue el de 19-49 años con 18 individuos (36%), la media de la edad fue de 19,5+-16,26 años. Habiendo analizado los datos correspondientes, se obtuvieron los siguientes resultados.

La tabla 1 revela los resultados obtenidos en forma general. La prevalencia de parasitados fue de 94%, representada por 47 individuos;

Blastocystis spp. (chromista) y los protozoarios alcanzaron un 26% mientras que los helmintos

18%, obteniéndose un 50% de individuos afectados por todos los tipos de parásitos.

Tabla 1. Prevalencia de enteroparásitos en individuos de la comunidad Iripa, Sector El Tokuko, Municipio Machiques de Perijá, Estado Zulia, Venezuela, 2016.

Tipo	N°	%
Helmintos+Protozoarios+Chromista	25	50
Protozoarios y Chromista*	13	26
Helmintos	9	18
No Parasitados	3	6
Total	50	100

**Blastocystis* spp.

Por otro lado, debe destacarse que predominó el poliparasitismo (70,0%) sobre el monoparasitismo (24,0%).

En la tabla 2 se observan las especies parasitarias identificadas en el estudio, ocupando el primer lugar *Blastocystis* spp. con

54% (chromista); dentro de los protozoarios, *G. intestinalis* y el complejo *Entamoeba*, se ubicaron respectivamente en el primer (32%) y tercer lugar (24%). Así mismo, para los helmintos, el primer lugar lo obtuvo *T. trichiura* con un 46%, seguido por *S. stercoralis* con un 26%.

Tabla 2. Prevalencia de especies parasitarias en individuos de la comunidad Iripa, Sector El Tokuko, Municipio Machiques de Perijá, Estado Zulia, Venezuela, 2016.

Especies Parasitarias		N°	%
Chromista	<i>Blastocystis</i> spp.	27	54
	<i>Giardia intestinalis</i>	16	32
Protozoarios	<i>Entamoeba coli</i>	14	28
	Complejo <i>Entamoeba</i>	12	24
	<i>Endolimax nana</i>	10	20
	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	4	8
	<i>Chilomastix mesnili</i>	3	6
	<i>Iodamoeba butschlii</i>	1	2
	<i>Balantidium coli</i>	1	2
Helmintos	<i>Trichuris trichiura</i>	23	46
	<i>Strongyloides stercoralis</i>	13	26
	<i>Ascaris lumbricoides</i>	10	20
	Ancylostomideos	10	20
	<i>Hymenolepis nana</i>	8	16

*Incluidas las asociaciones parasitarias

Al analizar las dos técnicas para el aislamiento de *S. stercoralis*, en la tabla 3 se aprecia en primer lugar, la comparación de la obtención de larvas entre placas incubadas a las 24 y 48 horas, observándose que es 1,8 veces más probable recuperarlas a las 48 que a las 24; igual probabilidad (1,8) se encontró cuando se equipararon tubos en ambos períodos de

incubación. Posteriormente, se visualiza la comparación entre la técnica tradicional en placa y la técnica en tubo, tanto a las 24 como a las 48 horas, en cuyo caso siempre fue 1,5 y 1,6 veces más probable recuperar las formas larvarias en tubo que en placa, en las dos etapas de incubación.

Tabla 3. Comparación de aislamiento de *Strongyloides stercoralis* según técnica de agar en placa y técnica difásica en tubo, en individuos de la comunidad Iripa, Sector El Tokuko del Municipio Machiques de Perijá, Estado Zulia. Venezuela, 2016.

Técnica de Cultivo (tipo/hora)	Positivo		Negativo		Total		Razón de aislamiento	Razón de aislamiento tubo/placa	
	n	%	n	%	n	%			
Placa	24	4	30,7	9	69,2	13	100	1,8 Placa48/Placa24	1,5 Tubo24/Placa24
	48	7	70,0	6	30,0	13	100		
Tubo	24	6	30,0	7	70,0	13	100	1,8 Tubo48/Tubo24	1,6 Tubo48/Placa48
	48	11	84,6	2	15,4	13	100		

En la tabla 4, respecto a la técnica difásica en tubo, 6 pruebas resultaron positivas a las 24 horas (46,2%) y 4 (30,7%) mediante la técnica de agar en placa; es decir, que se observó un 1 falso negativo (7,6%) a través de la metodología

en tubo. Del total de 13 muestras que fueron positivas a *S. stercoralis*, 9 fueron negativas mediante cultivo de agar en placa a las 24 horas (69,2%) y sólo 7 mediante técnica de agar en tubo fueron también negativas (53,8%).

Tabla 4. Comparación de aislamiento de *Strongyloides stercoralis* según la técnica de agar en placa y técnica difásica en tubo a las 24 horas, en individuos de la comunidad Iripa, Sector El Tokuko del Municipio Machiques de Perijá, Estado Zulia. Venezuela, 2016.

Técnica de tubo a las 24 horas	Resultados Prueba Gold Standard				Total	
	Placa 24 horas		Negativo			
	Positivo					
	n	%	n	%	n	%
Positivo	3	23,1	3	23,1	6	46,2
Negativo	1	7,6	6	46,1	7	53,8
Total	4	30,7	9	69,2	13	100,0

En la tabla 5, en referencia a la técnica difásica en tubo, 11 pruebas resultaron positivas a las 48 horas (84,7%), de las cuales sólo 6 pruebas por medio de agar en placa arrojaron similar resultado representado por un 46,3%.

Por otro lado, de las 2 pruebas a través de técnica difásica en tubo negativas a las 48 horas, sólo una de agar en placa fue positiva; es decir, un falso negativo por la técnica en tubo.

Tabla 5. Comparación de aislamiento de *Strongyloides stercoralis* según la técnica de agar en placa y técnica difásica en tubo a las 48 horas, en individuos de la comunidad Iripa, Sector El Tokuko del Municipio Machiques de Perijá, Estado Zulia. Venezuela, 2016.

Técnica de tubo a las 48 horas	Resultados Prueba Gold Standard Placa 48 horas				Total	
	Positivo		Negativo			
	n	%	n	%	n	%
Positivo	6	46,3	5	38,4	11	84,7
Negativo	1	7,7	1	7,6	2	15,2
Total	7	54,0	6	46,0	13	100,0

Del total de 13 muestras positivas con *S. stercoralis*, 6 fueron negativas mediante cultivo en placa de agar a las 48 horas (46,0%) y sólo 2 por técnica difásica en tubo fueron también negativas (15,2%).

Según se aprecia en la tabla 6, la prevalencia o proporción de positivos del total, mediante la técnica difásica en tubo, se incrementa con la lectura de la prueba a las 48 horas, pasando de 30,7% a 53,8%, con intervalos de confianza que van desde 10,3 IC inferior a 61,1 IC superior a las 24 horas, y 26,1 IC inferior a 79,6 IC superior a las 48 horas.

La sensibilidad o verdaderos positivos respecto al total de positivos, muestra igualmente en la metodología probada (TDT) un porcentaje

importante de detección de la especie de 75%, con amplios intervalos de confianza (21,9 IC inferior y 68,6 IC superior) a las 24 horas, con 85,71% de recuperación de la misma con intervalos de confianza que disminuyen (42,01 IC inferior y 99,25 IC superior) a las 48 horas. Así mismo, la especificidad y valor predictivo negativo de la prueba decrecen a las 48 horas. De tal manera, la primera es de 66,7 a las 24 frente a 16,67 a las 48, mientras el segundo muestra un resultado de 85,7 a las 24 horas en contraposición a 50,0 a las 48.

Estos resultados permiten afirmar que la técnica difásica en tubo para el diagnóstico de estrongiloidiasis es más sensible pero menos específica a las 48 horas.

Tabla 6. Capacidad predictiva de la técnica difásica en tubo para el diagnóstico de *Strongyloides stercoralis*, a las 24 y 48 horas de lectura, en individuos de la comunidad Iripa, sector El Tokuko del municipio Machiques de Perijá, estado Zulia. Venezuela, 2016.

Capacidad predictiva de la prueba a las 24 hora	%	IC 95%	
		Límite inferior	Límite superior
Prevalencia de la enfermedad	30,7	10,3	61,1
Pacientes correctamente diagnosticados	69,2	38,8	89,6
Sensibilidad	75,0	21,9	68,6
Especificidad	66,7	30,9	90,9
Valor predictivo positivo	50,0	13,9	86,0
Valor predictivo negativo	85,7	42,0	99,9
Coficiente de probabilidad positiva	2,2	0,7	6,6
Coficiente de probabilidad negativa	0,3	0,06	2,18

Tabla 6. (Cont). Capacidad predictiva de la técnica difásica en tubo para el diagnóstico de *Strongyloides stercoralis*, a las 24 y 48 horas de lectura, en individuos de la comunidad Iripa, sector El Tokuko del municipio Machiques de Perijá, estado Zulia. Venezuela, 2016.

Capacidad predictiva de la prueba a las 48 horas	%	IC 95%	
		Límite inferior	Límite superior
Prevalencia de la enfermedad	53,8	26,1	79,6
Pacientes correctamente diagnosticados	53,85	26,12	79,60
Sensibilidad	85,71	42,01	99,25
Especificidad	16,67	0,88	63,52
Valor predictivo positivo	54,55	24,56	81,86
Valor predictivo negativo	50,00	2,67	97,33
Coficiente de probabilidad positiva	1,03	0,64	1,6
Coficiente de probabilidad positiva	0,86	0,07	10,96

Discusión

La prevalencia general de parásitos intestinales en la población estudiada es marcadamente elevada con un porcentaje del 94%; dichos hallazgos coinciden con otros estudios realizados previamente en otras comunidades indígenas de la región. Díaz y cols. (23) reportaron una prevalencia de enteroparásitos en Santa Ana de Wasama de 90,2% y Kasmera de la Sierra de Perijá de 93,1%. Por otro lado, Rivero y cols. (24) y Bracho y cols. (25) obtuvieron prevalencias de 82,20% y 88% respectivamente. Igualmente, Díaz y cols. (26) encontraron 83,5% de enteroparásitos en población indígena infantil de la etnia Yukpa de la comunidad de Toromo de la Sierra de Perijá, similar a Acuro y cols. (13) con 87,7%. Estos resultados están en concordancia con las pobres condiciones sanitarias que favorecen la transmisión de las enteroparasitosis.

En este sentido, cabe destacar que los individuos estudiados habitan en modestas viviendas, algunas con piso de tierra, careciendo de los servicios básicos y de infraestructura tales como red de cloacas, acueductos y disposición de basura. Los habitantes utilizan el agua proveniente de caños o ríos cercanos para los quehaceres domésticos y aseo personal, y no

poseen pozos sépticos o letrinas para la adecuada eliminación de excretas.

La prevalencia de enteroparásitos en estas poblaciones, se ha mantenido a través de los años, demostrándose que aún cuando son prevenibles y controlables, continúan siendo un problema de salud en zonas rurales y marginales de la región. Probablemente esto se deba a una falta de aplicación adecuada del nivel primario de prevención en salud, por la dificultad en el acceso y la carencia de servicios asistenciales, donde una de las principales actividades de fomento de la salud para evitar las parasitosis intestinales es la educación sanitaria a la población. Como lo corroboran algunos estudios (2,27) al ser transmitidas principalmente por vía oral-fecal o por mecanismo activo a través de la piel, se ven favorecidas por la pobreza y condiciones como la falta de aseo personal o lavado frecuente de las manos, no clorar o hervir el agua, carencia de un adecuado cuidado y manejo de los alimentos, inadecuada disposición de excretas y basuras y falta de empleo del calzado.

Sin embargo, se hace difícil la aplicación de las medidas arriba mencionadas, ya que la situación de infraestructura sanitaria continúa siendo precaria en estas comunidades, aunado a la carencia de recursos económicos, y probablemente también a los hábitos muy

arraigados propios de la cultura de estas poblaciones indígenas. En otros estados del país, se han descrito también elevadas prevalencias de parásitos intestinales en población rural o indígena; en este sentido, Devera y cols. (28) y Devera y cols. (29), refirieron 84,3% y 86,8% de enteroparásitos. Así mismo, otros países latinoamericanos en poblaciones similares reportan altas prevalencias, todas ellas asociadas a deficientes condiciones sanitarias; entre ellos, en Colombia Agudelo y cols. (30) 92%, Espinosa y cols. (31) 96,4%; en Bolivia y finalmente en Paraguay, Echagüe y cols. (32) 56,1%.

Elevadas proporciones del poliparasitismo sugieren una gran susceptibilidad de los individuos, al estar expuestos constantemente a un medio ambiente contaminado propicio para la transmisión de las enteroparasitosis, así como también pudieran ser un reflejo de las costumbres y hábitos arraigados. En esta investigación, el poliparasitismo predominó con 70%, lo cual ha sido análogamente observado por otros investigadores en poblaciones rurales venezolanas, cuyas condiciones sanitarias son deficientes (25,28), y en otros países (2,31). Se ha encontrado un incremento de la intensidad de las helmintiasis cuando existen asociaciones de diferentes especies, destacando que las manifestaciones clínicas producidas por enteroparásitos patógenos, son proporcionales a las cargas parasitarias (33).

En esta comunidad rural, predominó *Blastocystis* spp. (chromista) sobre los helmintos. Este hallazgo se reproduce en otras investigaciones (10,32), donde además los protozoarios también prevalecen, sugiriendo una gran contaminación ambiental y de fuentes hídricas, ya que presentan formas evolutivas quísticas de resistencia (6), que les permiten la supervivencia a altas temperaturas, desecación e incluso tratamientos químicos, al igual que *Blastocystis* spp. cuyo quiste fue tardíamente descubierto probablemente por su pequeño tamaño entre 2 y 5 micras (35).

Así mismo, se observaron nemátodos y céstodos, cuyas especies en orden de frecuencia fueron *T. trichiura*, *S. stercoralis*, *A. lumbricoides*, *Ancylostomidae* e *H. nana*. La presencia de geohelminths en importantes

proporciones, corrobora el constante contacto de la población con el suelo contaminado, resultados que son similares a los de otros autores en el país (28,36).

Probablemente la elevada prevalencia de *T. Trichiura*, sugiere que los huevos de esta especie poseen gran resistencia a las condiciones adversas del medio ambiente, con lo cual pueden permanecer viables en la tierra por varios meses e incluso años, desarrollándose bien en diferentes condiciones. La trichuriasis se estima que afecta a 800 millones de personas, si bien la mayoría asintomáticas, las infecciones masivas pueden causar complicaciones graves, como sangrado digestivo, diarrea prolongada y prolapso rectal (37).

En el caso del parasitismo por *S. stercoralis*, este geohelminto obtuvo un importante porcentaje de 26%; tanto en estudios nacionales como internacionales se han reportado prevalencias variables del mismo, tomando en consideración que puede cambiar de una región a otra según las características climatológicas y del suelo que deben ser óptimas, como clima cálido de 15°C a 30°C, elevada humedad relativa de 60% a 70%, suelos ricos en agua dulce y sustancias orgánicas, para permitir el desarrollo y evolución de sus estadíos larvarios (38). Maldonado y cols. (39) refieren que tiene gran influencia el tipo de suelo y la conservación de la humedad del mismo para el desarrollo de las larvas infectantes de ciertos nemátodos.

Los factores arriba mencionados, determinan la distribución de *S. stercoralis*, con lo cual queda claro, que es una infestación endémica en áreas tropicales y subtropicales, y constituye un indicador de las condiciones sanitarias y ecológicas del entorno. Influyen igualmente en su variabilidad el empleo de técnicas parasitológicas inadecuadas de diagnóstico.

En Venezuela, existen varios reportes del referido nemátodo en diferentes áreas geográficas que incluyen poblaciones de zonas rurales e indígenas. Así, Rivero y cols. (24) no reportaron casos de esta especie, mientras que Acurero y cols. (13) obtuvieron un 5,76%, ambas determinaciones realizadas en población

indígena del mismo municipio del estado Zulia estudiado en la presente investigación; por su parte, Atencio y cols. (12) señalaron un 8% de prevalencia en varias comunidades similares del estado. Cabe destacar que en dichos estudios no se emplearon métodos específicos para la recuperación de las formas larvarias.

En otras zonas del país las prevalencias de esta especie parasitaria también fluctúan. Devera y cols. (29) en el estado Bolívar obtuvieron 0,7% de *S. stercoralis*, no utilizándose tampoco métodos específicos para su detección, mientras que Marcano y cols. (10) en el estado Aragua, encontraron una proporción de 1,9% mediante la técnica Baermann, que ha sido reseñada como apropiada para la recuperación de este parásito en otros estudios (9).

Los reportes de estrogiloidiasis son igualmente variables en otros países según la zona geográfica y metodologías empleadas. Agudelo y cols. (30) hallaron 3% de esta especie en Colombia, sólo fueron procesadas las muestras según examen de heces al fresco y técnica de concentración de Ritchie. Socias y cols. (40) en Argentina, efectuaron una revisión de reportes de prevalencias de dicho nemátode, de el año 1980 hasta el 2011, con un rango de 0 a 80%; según los autores, esto se debe a la sensibilidad prácticamente nula para *S. stercoralis* (que se elimina en materia fecal en su estadio larvario) por el uso de técnicas parasitológicas basadas en el diagnóstico de huevos, como las de Mc Master, FLOTAC o la técnica de Kato-Katz recomendada por la OMS. Así mismo, Navone y cols. (3) en el mismo país refirieron un rango de 0,2% a 11,1%.

El diagnóstico directo de *S. stercoralis* consiste en la detección de las larvas rabditoides, mediante el examen microscópico de muestras fecales, aunque en casos de hiperinfección las larvas filariformes pueden observarse en secreciones respiratorias, y en las formas diseminadas incluso en otros fluidos orgánicos (41). Según Hernández (38), este parásito ha sido subestimado por factores como la poca cantidad de huevos que oviposiciona la hembra por día respecto de otros helmintos; la oviposición se efectúa en el epitelio de la mucosa intestinal y no en la luz; los huevos eclosionan y dan origen a larvas rabditoides que salen a la luz intestinal

y luego se eliminan con la materia fecal, pero la oviposición no es continua y por lo tanto no siempre salen formas diagnósticas.

Varios autores reseñan la necesidad de la realización de análisis seriados o repetidos de heces en cinco a siete muestras, especialmente en infecciones leves o moderadas, utilizando técnicas más sensibles que el examen directo, tales como método de Baermann o el cultivo en placa de agar, de otra manera se subestima la prevalencia real de la parasitosis; el examen directo de las heces es rápido, pero con sensibilidad baja 3-4.76%, incluso en manos de analistas experimentados (42).

Por otro lado, Zapata y cols. (43) indican que también inciden en el diagnóstico demorado y poco asertivo, las manifestaciones gastrointestinales poco específicas de la enfermedad. La eosinofilia (5-15%) es, con frecuencia, la única señal de la presencia del parásito, pero no es un dato específico; además, que las pruebas inmunológicas no son útiles en pacientes inmunocomprometidos. Según el autor, los pacientes con una estrogiloidiasis crónica suelen tener una baja carga parasitaria y expulsión larvaria irregular, lo que dificulta el diagnóstico por los métodos normalmente empleados para la detección de nemátodos intestinales. En pacientes asintomáticos la sensibilidad de estos exámenes es significativamente menor y se consideran inadecuados para dicho propósito.

Si bien existen pruebas serológicas para *S. stercoralis*, entre ellas inmunofluorescencia indirecta, ELISA, o técnicas aún más modernas como las de sistemas de inmunoprecipitación por luciferasa (LIPS) y finalmente la PCR en tiempo real, que han demostrado sensibilidades y especificidades elevadas, usualmente no se encuentran disponibles en los laboratorios clínicos para el diagnóstico de rutina y son utilizadas básicamente en investigación (43).

La forma en la que el coprológico directo y el coprológico por concentración de formol-éter (Ritchie) muestran una baja sensibilidad en el diagnóstico de estrogiloidiasis, mientras que el Baermann y el aislamiento en placa de agar se señalan como técnicas más idóneas y adecuadas,

es un hecho reiterado por varias investigaciones tanto en Venezuela como en otros países.

Así, en el estado Zulia Rivero y cols. (14) compararon cuatro técnicas para el diagnóstico de *S. stercoralis*; examen directo, método de concentración de Ritchie, técnica de Baermann y cultivo de agar en placa; de éstos, el Arakaki detectó la mayoría de los casos seguido del Baermann. A su vez, Figuera y cols. (9) en el estado Sucre, analizaron el cultivo de heces en placas de agar, el examen directo, el método de Ritchie modificado y el de Baermann modificado, siendo nuevamente el cultivo de heces en placas de agar el más sensible. Por su parte Franceschi y cols. (15) en el estado Bolívar, estudiaron los métodos de Micro-Baermann, Harada-Mori y Cultivo en placa de agar, siendo este último igualmente el de mayor rendimiento con 100% de positividad.

En otros países como Perú, Lau Chong y cols. (44) investigaron la estrongiloidiasis mediante examen directo, técnica de sedimentación espontánea en tubo, técnica de Baermann modificada en copa por Lumbreras, Cultivo de Dancescu y cultivo en agar. Al comparar las técnicas entre sí, el cultivo de agar en placa detectó la mayoría de los casos, seguido del cultivo de Dancescu, la técnica de Baermann, la técnica de sedimentación espontánea en tubo y finalmente, el examen directo. No hubo diferencia significativa entre el cultivo de agar en placa y el cultivo de Dancescu, pero sí entre éstos y el resto de las técnicas estudiadas. Campo y cols. (16), realizaron un meta análisis de estudios acerca de técnicas de diagnóstico para este geohelminto en 6 bases de datos entre los años 1980 a 2013, incluyendo 11 estudios con 9.025 individuos. El cultivo en placa de agar presentó una sensibilidad de 89%; el método de Baermann 72%; el examen directo en heces 21%; la concentración formol-éter 48%.

Mediante el análisis de las muestras fecales por examen coproscópico directo con solución salina fisiológica y tinción temporal de lugol y la técnica de concentración de Ritchie, el presente estudio no arrojó ningún caso de estrongiloidiasis. Los 13 especímenes positivos (20,3%), fueron diagnosticados a través de las técnicas de agar en placa (Arakaki) y difásica en

tubo (TDT) aquí propuesta. Esta última, aumentó las probabilidades de hallazgo del parásito 1,6 veces más a las 24 horas y 1,8 veces más a las 48 horas, sobre la técnica de agar en placa. Así mismo al comparar ambas metodologías, en el segundo período de incubación, la difásica en tubo alcanzó una sensibilidad de 85,71%. Según estos hallazgos, se evidencia una satisfactoria recuperación del nemátode, incluso con mejores resultados sobre el método convencional en placa.

Es de hacer notar que en esta investigación se observó un caso del patógeno *B. coli*, el cual se diagnosticó sólo a través de la técnica difásica en tubo, sugiriendo que podría aprovecharse la capacidad motil de los trofozoítos de esta especie y su tendencia a migrar hacia la porción líquida, para ser recuperados. Éste, es el único protozoo ciliado que infecta al humano. Existen otras especies en diversos hospederos animales como primates, ratas, cobayos, peces, perros y anfibios, siendo el cerdo el reservorio de mayor importancia epidemiológica para el hombre, aunque en este último se ha reportado mayor prevalencia de otra especie morfológicamente idéntica, *Balantidium suis* (6). Otros autores han referido casos del protozoario en el municipio Machiques de Perijá, al cual pertenece la población objeto del presente estudio (39,45).

Se destacan entonces las ventajas principales que ofrece la aplicación de la técnica difásica en tubo sobre el método de agar en placa. En primer lugar, se necesita menor cantidad de agar para preparar los tubos; en segundo lugar, se aprovecha el hidrotropismo de las larvas, al poseer dos fases que les permiten a las mismas migrar hacia la porción líquida del cultivo; en tercer lugar la lectura de la muestra es más fácil de manejar, ya que sólo se debe tomar una porción del líquido para ser visualizada entre lámina y laminilla al microscopio óptico, mientras que en el cultivo tradicional debe observarse en primer término la placa completa, lo cual puede representar cierta dificultad para microscopistas no experimentados; finalmente, se requiere menor cantidad de muestra para la realización de la metodología propuesta.

Con base en los planteamientos realizados, puede concluirse que las parasitosis intestinales

están relacionadas no sólo a un medio ambiente contaminado con deficientes condiciones sanitarias, sino a hábitos arraigados en las poblaciones y a la falta de educación, dado su mantenimiento a través del tiempo, aclarando que la estrongiloidiasis, además de esto, presenta patrones de distribución variable según el área geográfica y las metodologías de diagnóstico empleadas, siendo la técnica difásica en tubo aquí propuesta, más eficaz para su diagnóstico.

Referencias Bibliográficas

1. Solano L, Acuña I, Barón M, Morón A, Sánchez A. Influencia de las parasitosis intestinales y otros antecedentes infecciosos sobre el estado nutricional antropométrico de niños en situación de pobreza. *Parasitol Latinoam* 2008;63(1):12-19.
2. Arosemena V, Casillo C, Guerra G. Detección de enteroparasitosis humana y fuentes de contaminación ambiental en el río Chagres, Panamá. *Rev Vezlana Sal Pub* 2014;2(2):35-44.
3. Navone G, Zonta M, Cociancic P, Garraza M, Gamboa M, Giambelluca L, *et al.* Estudio transversal de las parasitosis intestinales en poblaciones infantiles de Argentina. *Rev Panam Sal Pub* 2017;41:1-9.
4. Quintero-Victoria A, Torres-Farías D, Villalobos-Beuses M, Nápoles M, Pérez L, Villalobos-Perozo R. Pancreatitis ascaridiana aguda en niños en el hospital “Nuestra Señora de Chiquinquirá” de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. *Kasmera* 2008;36(2):129-136.
5. Cordero R, Infante B, Zabala M, Hagel I. Efecto de las parasitosis intestinales sobre los parámetros antropométricos en niños de un área rural de Río Chico, Estado Miranda, Venezuela. *RFM* 2009;32(2):132-138.
6. Botero D, Restrepo M. *Parasitosis humanas*. 5ta ed. Medellín, Colombia: Ediciones Corporación para Investigaciones Biológicas; 2012. p. 4-16, 20-21, 93-97, 162-177.
7. World Gastroenterology Organization (WGO). 2017 Practice Guidelines: Manejo de la estrongiloidiasis. Disponible en: <http://worldgastroenterology.org/UserFiles/files/guidelines/management-strongyloidiasis-spanish.pdf>
8. Arango J. (1998). *Strongyloides stercoralis*. *Colombia Med*; 29: 32-42.
9. Figuera L, Ramírez E, Marchán E. *Strongyloides stercoralis*: Prevalencia y evaluación del diagnóstico utilizando cuatro métodos coproparasitológicos. *Rev Soc Ven Microbiol* 2002;22(2).
10. Marcano Y, Suárez B, González M, Gallego L, Hernández T, Naranjo M. Caracterización epidemiológica de parasitosis intestinales en la comunidad 18 de Mayo, Santa Rita, estado Aragua, Venezuela, 2012. *Bol Mal Salud Amb* 2013;53(2):135-145.
11. Devera R, Blanco Y, Amaya I, Becerra E, González A. Prevalencia de *Strongyloides stercoralis* y otros parásitos intestinales en indigentes alcohólicos de ciudad bolívar, estado Bolívar, Venezuela. *Saber* 2015;27(4):651-654.
12. Atencio R, Perozo I, Rivero Z, Bracho A, Villalobos R, Osorio S, *et al.* Detección de rotavirus y parásitos intestinales en infantes menores de 5 años de edad de comunidades indígenas del Estado Zulia, Venezuela. *Kasmera* 2016; 44(1):7-17.
13. Acurero E, Díaz O, Rivero Z, Bracho A, Calchi M, Terán R, *et al.* Enteroparásitos en niños de una comunidad indígena del municipio Machiques de Perijá, estado Zulia Venezuela. *Kasmera* 2016;44(1):26-34.

14. Rivero Z, Chourio G, Díaz I, Padilla L, Zárate M, Ferrer J. Comparación de cuatro técnicas de laboratorio para el diagnóstico de estrombiloidiasis. *Rev Soc Ven Microbiol* 2002;22(1):68-73.
15. Franceschi G, Finali M, Angulo V, Amaro E, Requena I, Blanco Y, *et al.* Comparación de técnicas para el diagnóstico de *Strongyloides stercoralis*. *Saber* 2008; 20(3):289-297.
16. Campo L, Gutiérrez L, Cardona J. Infección por *Strongyloides stercoralis*: metanálisis sobre evaluación de métodos diagnósticos convencionales (1980-2013). *Rev Esp Salud Pública* 2014; 88:581-600.
17. Cerda H. Los elementos de la investigación. 2da ed. Bogotá: Editorial El Buzo; 1995. p. 71-76.
18. Evans R, Albornoz R. Principios de epidemiología moderna. Caracas: Ediciones de la Biblioteca (UCV); 1994. p 293-303.
19. García C, Almenara J. Determinación del tamaño de muestra en variables cualitativas en las que se desconoce el valor del parámetro. *Med Clin (Barc)* 1999; 112: 797-798.
20. World Medical Association. Ethical principles for medical research involving human subjects. Declaration of Helsinki: 2008. 1-5.
21. Melvin D, Brooke M. Métodos de laboratorio para el diagnóstico de parasitosis intestinales. 1971. México: Editorial Interamericano.
22. Arakaki T, Hasegawa H, Asato R, Ikeshiro T, Kinjo F, Saito A. A new method to detect *Strongyloides stercoralis* from human stool. *Jpn J Trop Med Hyg* 1988; 16:11-17.
23. Díaz I, Chourio-Lozano G, Barrios Y, Díaz D, Finol R. Enteroparasitosis en comunidades de la etnia Yukpa del Estado Zulia. *Kasmera* 1994; 22(1-4):1-27.
24. Rivero Z, Maldonado A, Bracho A, Gotera J, Atencio R, Leal M, *et al.* Enteroparasitosis en indígenas de la comunidad Japrería, estado Zulia, Venezuela. *INCI* 2007; 32(4):270-273.
25. Bracho A, Martínez K, Roldan A, Rivero Z, Atencio R, Villalobos R, *et al.* Parasitosis intestinales en diferentes comunidades indígenas del estado Zulia, Venezuela. *Rev Vzlaná Sal Pub* 2016; 4(1):9-15.
26. Díaz I, Rivero Z, Bracho A, Castellanos M, Acurero E, Calchi M, *et al.* Prevalencia de enteroparásitos en niños de la etnia yukpa de Toromo; Estado Zulia Venezuela. *Rev Med Chile* 2006; 134:72-78.
27. Solano L, Acuña I, Barón M, Morón de Salim A, Sánchez A. Asociación entre pobreza e infestación parasitaria intestinal en preescolares, escolares y adolescentes del sur de valencia estado Carabobo-Venezuela. *Kasmera* 2008; 36:137-147.
28. Devera R, Blanco Y, Amaya I, Álvarez E, Rojas J, Tutaya R *et al.* Prevalencia de parásitos intestinales en habitantes de una comunidad rural del estado Bolívar, Venezuela. *Kasmera* 2014; 42(1):22-31.
29. Devera R, Blanco Y, Vera N, Amaya I, Requena I, Nastasi J, *et al.* Infección por *Hymenolepis nana* en una comunidad indígena del estado Bolívar, Venezuela. *Rev Cubana Med Trop* 2016; 68(1).
30. Agudelo S, Gómez L, Coronado X, Orozco A, Valencia C, Restrepo L, *et al.* Prevalencia de parasitosis intestinales y factores asociados en un corregimiento de la costa atlántica colombiana. *Rev Sal Pub* 2008; 10(4):633-642.
31. Espinosa D, Gómez N, Campo L, Cardona J, Ríos L. Prevalencia de parasitismo intestinal en la comunidad Seminke del resguardo indígena Wiwa de la Sierra Nevada de Santa Marta, 2014. *Archivos de Medicina* 2015; 11(2):6-10.

32. Echagüe G, Sosa L, Díaz V, Ruiz I, Rivas L, Granado D *et al.* Enteroparasitosis en niños bajo 5 años de edad, indígenas y no indígenas, de comunidades rurales del Paraguay. *Rev Chil Infectol* 2015; 32(6).
33. Fleming F, Brooker S, Geiger S, Caldas I, Correa-Oliveira R, Hotez, P *et al.* Synergistic associations between hookworm and other helminth species in a rural community in Brazil. *Tropical Medicine and International Health* 2006; 2(1):56-64.
34. Andrade C Alava T, De Palacio I, Del Poggio P, Jamoletti C, Gulletta M. Prevalence and intensity of soil-transmitted helminthiasis in the City of Portoviejo (Ecuador). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96(8):1075-1079.
35. Tan, K. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 2:639-665.
36. Rivero Z, Bracho A, Calchi M, Díaz I, Acurero E, Maldonado A *et al.* Detección y diferenciación de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* mediante reacción en cadena de la polimerasa en individuos de una comunidad del estado Zulia, Venezuela. *Cad Saúde Pública.* 2009; 25(1):151-159.
37. Alonso M, Jovel L. Tricuriasis: Causa de diarrea crónica y sangrado digestivo. *Acta Pediátrica Hondureña* 2015; 5(1).
38. Hernández, F. *Strongyloides stercoralis*: Un parásito subestimado. *Parasitol Día* 2001; 25(1).
39. Maldonado I, Rivero Z, Chourio G, Díaz I, Calchi M, Acurero E *et al.* Prevalencia de enteroparásitos y factores ambientales asociados en dos comunidades indígenas del estado Zulia. *Kasmera* 2008; 36(1):53-66.
40. Socías M, Fernández A, Gil J, Krolewiecki A. Geohelmintiasis en la Argentina. Una revisión sistemática. *Medicina (B. Aires)* 2014; 74(1).
41. Igual R, Domínguez V. Estrongiloidiasis: epidemiología, manifestaciones clínicas y diagnóstico. Experiencia en una zona endémica: la comarca de La Safor (Valencia). *Enferm Infec Microbiol Clin* 2006; 25(3):38-44.
42. Cerrada, T. *Strongyloides stercoralis*: Ciclo vital, cuadros clínicos, epidemiología, patología y terapéutica. *Rev Mex Patol Clin.* 2008; 55(2):88-110.
43. Zapata H, Rincón A, Botero L, Hernández M, Gutiérrez L. Estrongiloidiasis humana: una enfermedad olvidada, un problema vigente. *Med UPB* 2014; 33(1):38-47.
44. Lau Chong C, Samalvides F, Terashima A. Evaluación de técnicas parasitológicas en el diagnóstico de estrongiloidiasis por *Strongyloides stercoralis*. *Rev Med Hered* 2005; 16(1).
45. Cheng R, Villaroel F, Mindiola R, Díaz O, Atencio R, Dorfman S. Balantidiasis en una niña indígena de la Sierra de Perijá-Venezuela: reporte de un caso. *Kasmera* 2006; 34(2)127-132.