

## Diagnóstico Parasitológico

Dra. María Elisa Solana Prof. Regular Adjunta

Cátedra I de Microbiología y Parasitología

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES FACULTAD DE MEDICINA DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E INMUNOLOGÍA

### **Objetivos**

- Brindar una introducción sobre:
- Conceptos de diagnóstico (parasitológico)
- Abordajes metodológicos del diagnóstico parasitológico, basado en características biológicas de los parásitos.
- Fundamentar los criterios de:
  - Selección y procedimientos de toma de la muestra.
  - Elección de la prueba diagnóstica.

### Contenidos

- Conceptos de especificidad y sensibilidad.
- ✓ Diagnóstico directo de enteroparasitosis.
  - Tipos de muestras, métodos de obtención, estabilidad y procesamiento.
  - Métodos de rutina y especiales.
- ✓ Diagnóstico directo de parasitosis tisulares.
  - Tipos de muestras, oportunidad de obtención, estabilidad y procesamiento.
  - Métodos de rutina y especiales.
- ✓ Diagnóstico inmunológico: utilidad y valor predictivo.

### Es importante para.....

- ✓ Diagnosticar patologías parasitarias a fin de lograr su prevención y/o detección precoz (ej. enteroparasitosis)
- Establecer el diagnóstico diferencial con otras patologías brindando la oportunidad de tratamiento específico
- Estimar el estado de una enfermedad ya establecida a fin de elegir la mejor conducta terapéutica (e, hidatidosis)
- Evaluar actividad o reactivación de una patología (ej. Toxoplasmosis)

# Fases del proceso diagnóstico en el laboratorio:

PREANALÍTICA: es la que insume mayor tiempo: solicitud, obtención, almacenamiento, transporte y recepción. Está sujeta a mayor cantidad de errores.

ANALÍTICA: Corresponde a la realización del procedimiento diagnóstico. Incluye la calibración de equipos, validación de pruebas diagnósticas, controles de calidad, etc

POSTANALÍTICA: Cálculos, interpretación de resultados, emisión de informe.

## **METODOS DIRECTOS**

Son aquellos que ponen en evidencia el agente o sus formas evolutivas, fragmentos, antígenos, ADN, etc.

### METODOS DIRECTOS PARASITOLÓGICOS

Permiten su visualización o su aislamiento a partir del material patológico

Los parásitos pueden ser observados a partir del material "en fresco" o mediante coloraciones u otros procedimientos

## PARÁSITOS DEL TRACTO INTESTINAL

### PROTOZOARIOS:

Quistes u ooquistes en heces formes

Trofozoítos en heces diarreicas

Por su tamaño el reconocimiento es siempre MICROSCÓPICO

# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO DIRECTO

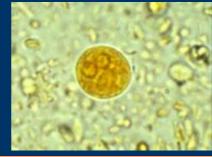
**MUESTRA: MATERIA FECAL** 

Recolección: SERIADA (no menos de 3 muestras durante una semana) en formol y una última en solución fisiológica o en fijadores con capacidad para conservar trofozoítos (PAF, MIF u otro) PAF: fenol-alcohol-formol; MIF: merthiolate-iodo-formol

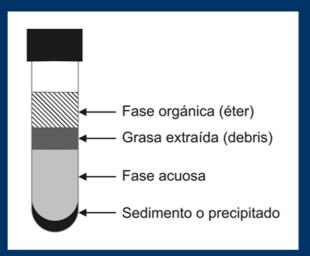
1. Examen sin enriquecimiento previo: observación microscópica directa a partir de material fresco o de material

fijado en formol

Quiste Giardia intestinalis



Quiste *Entamoeba histolytica/dispar*  2. Técnicas de concentración: en casos de baja carga parasitaria. Se recomienda su utilización



El solvente orgánico disuelve el contenido graso de las heces

3. Tinciones especiales: para coccidios (Ziehl- Neelsen o Kinyoun), microsporidios (tricrómico de Weber) y *E. hietalutica* (hemotoxilina fórrica)

histolytica (hematoxilina férrica)







4. Isoenzimas: detección de patrones electroforéticos característicos de diversas enzimas (zimodemas). Diferencian *E. histolytica* de *E. dispar*.

5. Detección de antígenos: Ensayos inmunocromatográficos:

Detección simultánea de Giardia intestinalis, E. histolytica/E. dispar, y Cryptosporidium parvum mediante tiras reactivas



No disponible en la Argentina

# 4. Detección de DNA: Amplificación secuencia DNAr 18S de *Entamoeba histolytica por PCR*



Inhibidores!!!

Falta validación.

No disponible en la Argentina

## Métodos especiales

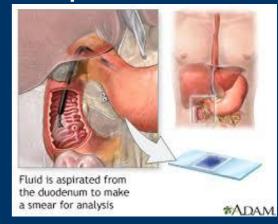
RECTOSIGMOIDEOSCOPIA (para detección de úlceras

colónicas en amebosis)



SONDEO DUODENAL (para obtención de aspirado

duodenal en giardiasis)



# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO INDIRECTO

Detección de anticuerpos específicos: Es útil para el diagnóstico en personas provenientes de países no endémicos.

Es de utilidad en AMEBIASIS EXTRAINTESTINAL

# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO DIRECTO

### **HELMINTOS:**

1. Diagnóstico macroscópico: Vermes adultos

(Ascaris lumbricoides) o sus segmentos

(proglótides de Taenia sp)



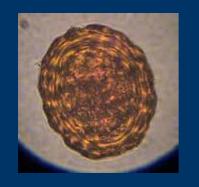
10-20 cm





### 2. Diagnóstico microscópico:

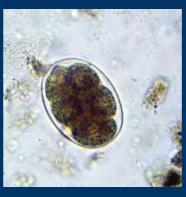
Huevos: sus características morfológicas permiten el diagnóstico de especie



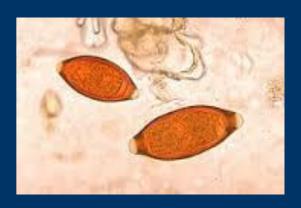
Ascaris lumbricoides



Taenia sp



Uncinaria



Genital Primodi

Trichuris trichiura

Larvas: sus características morfológicas permiten

diferenciar S. stercoralis de Uncinarias

Strongyloides stercoralis

# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO DIRECTO

**MUESTRA: MATERIAL PERIANAL** 

En población pediátrica.....

En población adulta......

Técnica de Graham -Garaguso



ESCOBILLADO PERIANAL SERIADO



Enterobius vermicularis

# Diagnóstico de enteroparasitosis Procesamiento de Muestras I

- Métodos de rutina (macro y microscopía)
  - Técnicamente simples.
  - Escasa/nula automatización.
  - Alto costo horas-hombre.
- Métodos especiales (detección de Ag y ác. nucleicos)
  - Técnicamente complejos.
  - Automatización variable.
  - Alto costo material.
  - Requiere de validación

# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO INDIRECTO

### **HELMINTOS**

Difícil para diferenciar infección actual de pasada por la persistencia de la respuesta inmune.

En pacientes inmunocomprometidos, la serología puede ser negativa.

Detección de DNA: puede ser una alternativa útil en aquellas parasitosis subdiagnosticadas por su baja carga parasitaria y por la fluctuación en la eliminación de elementos parasitarios como en estrongiloidosis crónica. Por el momento, esta tecnología no se utiliza de rutina.

Inhibidores!!!

Falta validación.

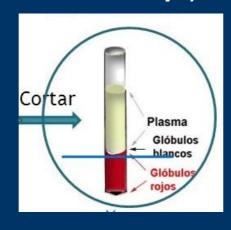
## PARÁSITOS DE SANGRE Y TEJIDOS DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO DIRECTO

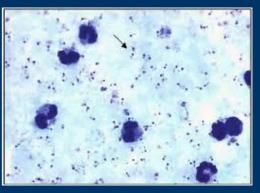
### PROTOZOARIOS:

1. Directo sin concentración previa:
Observación microscópica de gota de sangre
(Trypanosoma cruzi) o frotis de sangre teñido
con Giemsa (Plasmodium sp). Requiere de altas
parasitemias.

# 2. Directo CON concentración previa: Microhematocrito ( *Trypanosoma cruzi*) o gota gruesa (*Plasmodium sp*)







Plasmodium sp

3. Histopatología: de material de punción/biopsia o improntas (ej. *Leishmania sp*)

4. Por amplificación biológica: Cultivos axénicos, celulares (*T. cruzi* y *Leishmania sp*) o inoculación en animales de experimentación (*Toxoplasma gondii*). Son laboriosos, requieren de infraestructura especial y se demora en su detección

5. Por amplificación molecular: Existen técnicas artesanales para TODOS los protozoarios, algunas en proceso de validación

# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO INDIRECTO

### Protozoos de sangre y tejidos

Según la finalidad del estudio:

Técnicas de screening: utilizadas para el estudio de grandes poblaciones

Técnicas confirmatorias: utilizadas para confirmar el diagnóstico en forma específica

# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO DIRECTO

#### **Helmintos tisulares**

 Observación de componentes del quiste hidatídico eliminados por vómica

- ✓ Observación de larvas cisticerco en fondo de ojo
- ✓ Observación de microfilarias en sangre

# DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO INDIRECTO

#### **Helmintos tisulares**

Detección de IgG en triquinosis, cisticercosis e hidatidosis en suero y en LCR en neurocisticercosis

#### Diagnóstico por imágenes:

Pueden facilitar el diagnóstico de larvas de cestodes (Rx pulmón/hidatidosis, ecografía/hidatidosis hepática, TAC / neurocisticercosis)

### Algunos parámetros serológicos:

> SENSIBILIDAD

> ESPECIFICIDAD

### Desde el punto de vista analítico:

Sensibilidad: expresa la capacidad de la técnica para detectar las menores concentraciones posibles de anticuerpos

Especificidad: expresa la capacidad de la técnica para diferenciar los anticuerpos específicos de otros presentes en el suero

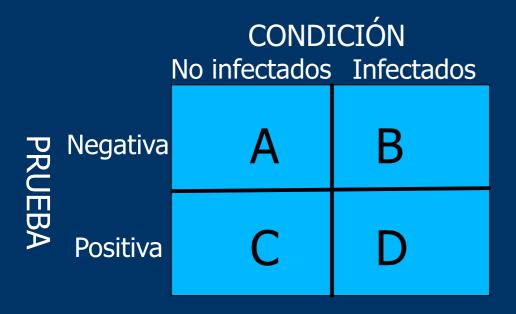
### Desde el punto de vista clínico:

Sensibilidad: expresa la capacidad de la técnica para diagnosticar casos positivos en el conjunto de personas estudiadas

Especificidad: expresa la capacidad para determinar resultados verdaderos

### Especificidad y sensibilidad

- Son parámetros estadísticos.
- Los cálculos se basan en casos positivos y negativos.
- Reflejan la correcta (verdadera) o incorrecta (falsa) identificación:
  - Del parásito (macroscopía, microscopía).
  - De componentes parasitarios (antígenos, ácidos nucleicos).
  - De la respuesta inmune frente a la infección parasitaria.



A: Verdaderos negativos

B: Falsos negativos

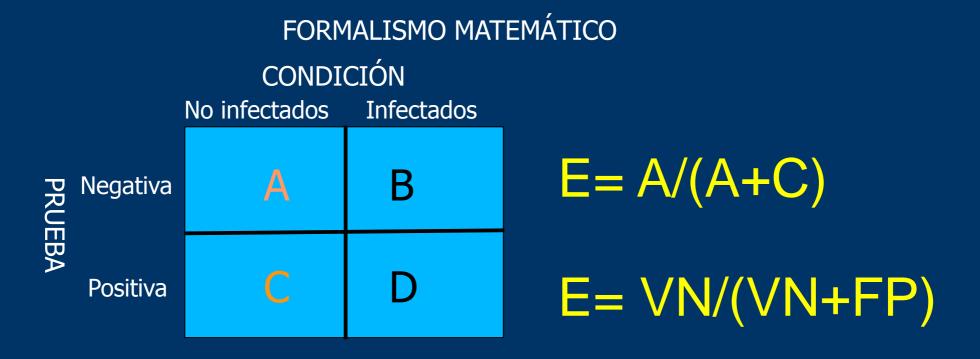
C: Falsos positivos

D: Verdaderos positivos

### Especificidad

#### NOCIÓN PRÁCTICA DE ESPECIFICIDAD

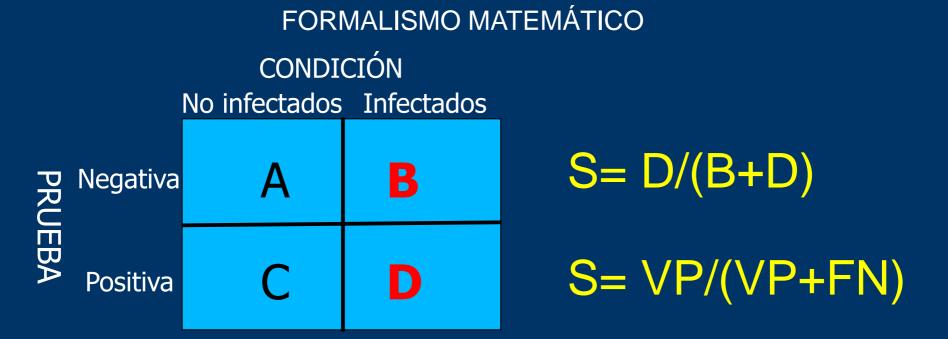
- Alta especificidad: La prueba es negativa en individuos no infectados.
- Baja especificidad: La prueba es positiva en individuos no infectados (FALSOS POSITIVOS).



### Sensibilidad

#### NOCIÓN PRÁCTICA DE SENSIBILIDAD

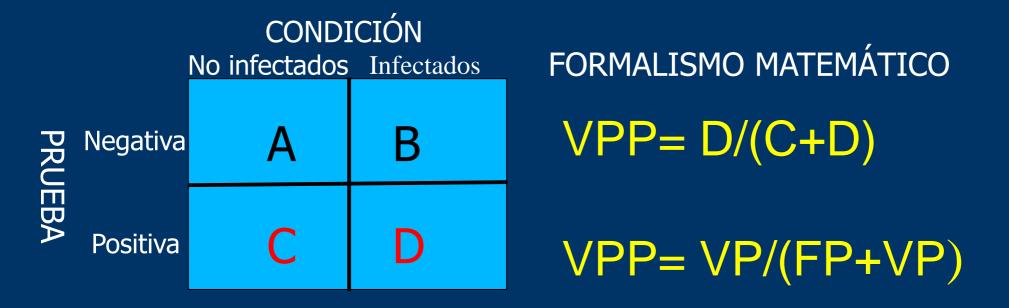
- Alta sensibilidad: La prueba es positiva en individuos infectados.
- Baja sensibilidad: La prueba es negativa en individuos infectados (FALSOS NEGATIVOS).



# Diagnóstico de Parasitosis Valor predictivo positivo

#### NOCIÓN PRÁCTICA

■ Ante un resultado positivo ¿Cuál es la probabilidad de que el individuo realmente padezca la infección investigada?



# Diagnóstico de Parasitosis Valor predictivo negativo

#### NOCIÓN PRÁCTICA

Ante un resultado negativo ¿Cuál es la probabilidad de que el individuo no padezca la infección investigada?



FORMALISMO MATEMÁTICO

VPN = A/(A+B)

VPN= VN/(VN+FN)

# Diagnóstico de Parasitosis Utilidad de las pruebas serológicas

#### ¿Para qué emplearlas?

- ✓ Identificar pacientes con infección parasitaria sistémica, tisular o extraintestinal. Ej.: *T. cruzi, T. gondii* y *E. histolytica*.
- ✓ Realizar encuestas epidemiológicas. Ej.: T. cruzi y T. gondii.

#### ¿Qué información proveen?

- ✓ Etapa de la infección. Ej.: T. cruzi y T. gondii.
- ✓ Evolución de la infección. Ej.: Leishmania spp.
- ✓ Estado del sistema inmune en relación con la infección. Ej.: Leishmania spp.
- ✓ Respuesta al tratamiento. Ej.: *T. cruzi* y *T. gondii.*

# Diagnóstico de Parasitosis Limitaciones de las pruebas serológicas

- ✓ No establecen una medida cuantitativa de la carga parasitaria.
- La magnitud de la respuesta inmune no siempre tiene correlación con la carga parasitaria.
- Componentes homólogos proveen reacción cruzada.
- ✓ La sensibilidad y especificidad de las pruebas es variable.

#### Por estas razones:

✓ La confirmación diagnóstica requiere al menos dos pruebas con resultados concordantes positivos.

# Diagnóstico parasitológico Conclusiones

- El diagnóstico parasitológico tiene por objetivo ASOCIAR la enfermedad actual con la presencia del parásito.
- Se basa en abordajes prácticos que requieren la optimización de parámetros para lograr alta FIABILIDAD en los métodos y CERTEZA en los resultados.
- La posibilidad de confirmar la infección depende de:
  - La ETAPA en la que ésta es diagnosticada.
  - La LOCALIZACIÓN de los distintos estadios parasitarios.
  - La CARGA PARASITARIA y/o características de la RESPUESTA INMUNE frente al parásito.
  - La adecuada ELECCIÓN, TOMA y PROCESAMIENTO de las MUESTRAS.
  - La correcta ELECCIÓN de las PRUEBAS DIAGNÓSTICAS e INTERPRETACIÓN de los RESULTADOS.