LAB-acta 1995; 7: 103-6

# Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios XII. Evaluación externa de la calidad en parasitología

***Rosa María Sánchez Manzano, **Lilia Mireya Fuentes Mancilla, *Jorge Sánchez Obregón, *Jesús Arnulfo Ramblas Angeles, ***Sergio Ignacio Alva Estrada, **Elvia Mercedes Cabañas Cortés.**

**Resumen**

En México son muchos los laboratorios clínicos que ya realizan su control de calidad analítica, pero generalmente sólo abarcan la química clínica. En otras áreas como hematología y parasitología, la situación se agrava por la carencia de materiales de control o de sistemas definidos para hacerlos.

Para contribuir a mejorar la calidad analítica en parasitología, en junio de 1995 se incluyó en el Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios Clínicos (PECEL) esta área.

Durante seis ciclos de evaluación se les enviaron a los laboratorios participantes muestras de materia fecal de humano, inoculada cuantitativamente con un determinado parásito. Se valoró el resultado y la técnica empleada para el análisis coproparasitoscópico.

Los resultados señalaron que hay variados y diferentes problemas en este estudio, debido en parte a la gran variación en las técnicas utilizadas y a deficiencias para la identificación de quistes y huevecillos.

Se encontró que la técnica más utilizada por los laboratorios participantes era la de Faust en un 90% y el resto emplea: Faust modificado, Ritchie, eter-formol, concentración por sedimentación y la observación directa.

Para uniformar la técnica de análisis, se propuso a los participantes utilizar la recomendada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards, de los Estados Unidos, a la cual denominamos técnica del NCCLS. En ella se utiliza sulfato de zinc con densidad de 1.18 y se debe leer tanto el sedimento como la película superficial. Varios participantes señalaron, que al adoptar esta técnica mejoró su calidad en el diagnóstico.

**Palabras clave:** *Parasitología, Calidad analítica, Técnica NCCLS.*

**Summary**

In Mexico there are many clinical laboratories, that accomplish their analytical control; however, generally they just cover the clinical chemistry. In other areas such as hematology and parasitology the situation is worse because of the lack of control material or definitly systems to do it. To contribute to the improvement of the analytical quality in parasitology in June, 1995 this area was included in the program of Quality of Evaluation in Clinica Laboratories (PECEL). In the six evaluation cycles human excrement was sent to the participant laboratories. It was inoculated quantitatively with a specific parasite. The result and the technique used in the coproparasitoscopic analysis were evaluated. The results pointed out that there are many different problems in this analysis due to the many different techniques used and the cyst and eggs not satisfactorily identified. The most common technique used in the participant laboratories was the Faust technique in 90% and the rest used Ritchie, ether-formol, concentration by sedimentation and direct observation. To standardize the analysis technique it was suggested to use the technique recommended by the National Committe for Clinical Laboratory Standards, from the U.S.A. which we name NCCLS technique. In it the zinc sulfate is used with a density of 1.18 and the sediment and superficial film should be read. Some participants pointed out that when they adopted this technique the percentage of positive samples rose.

**Keywords:** *Parasitology, Analitical quality, NCCLS technique.*

* Profesor Investigador. Departamento de Parasitología, ENCB-IPN.
** Profesor Investigador, Departamento de Bioquímica, ENCB-IPN.
*** Profesor Investigador. Departamento de Bioquímica, ENCB-IPN. Jefe del Depto. de Bioquímica, Carpermor, S.A. de C.V.
Correspondencia a: M. en C. Sergio Ignacio Alva Estrada, Laboratorio de Bioquímica Clínica, Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Carpio y Plan de Ayala, Colonia Santo Tomás, CP 11340, México, D.F.

## Introducción

En México no existen a la fecha, normas oficiales que obliguen a los laboratorios clínicos a realizar ningún control de su calidad analítica ni a participar en programas externos de evaluación. En consecuencia, muchos laboratorios ingresan al Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios (PECEL) y sólo participan temporalmente; sin embargo, a la fecha se ha logrado mantener el interés en muchos de ellos y se cuenta con un grupo que participa de manera regular, que incluye a 350 laboratorios, distribuidos en 26 estados de la República Mexicana y el Distrito Federal.

Los resultados de la evaluación mensual en química clínica, realizada por cinco años son alentadores, ya que muestran que la calidad analítica de los participantes ha mejorado.[1-5] Esto nos impulsó a incluir la evaluación de la calidad en otras áreas como parasitología (junio de 1995) y hematología (octubre de 1995).

## Objetivo

Presentar el sistema de evaluación de la calidad en el diagnóstico coproparasitoscópico y los resultados de los primeros seis ciclos.

## Material y Métodos

En seis ciclos de evaluación, se utilizaron muestras de materia fecal de humano, sin conservadores y negativas a parásitos, de donadores conocidos y con seguimiento. La materia fecal fue homogeneizada y dividida en fracciones aproximadas de 1 gramo, que se colocaron en recipientes de plástico. Cada alícuota se inoculó con un volumen fijo de una suspensión que contenía quistes o huevecillos de un parásito (excepto en un ciclo) en concentración conocida y de suficiente magnitud para facilitar su observación.

Las muestras fueron preparadas en el Laboratorio de Helmintología del Departamento de Parasitología de la ENCB y se enviaron a los diferentes laboratorios en un lapso no mayor de dos días.

En el momento del envío, se tomaron muestras aleatorias para confirmar su positividad, y comprobar la adecuada conservación de quistes o huevecillos.

Los laboratorios analizaron las muestras con su técnica habitual e informaron mensualmente al PECEL los resultados obtenidos del examen coproparasitoscópico y la técnica utilizada.

También se realizó un estudio comparativo del procedimiento analítico de los participantes, para el examen coproparasitoscópico.

## Resultados

En los cuadros del 1 al 6, se indica: a) el parásito (quistes o huevecillos) con que fue inoculada cada muestra; b) el total de resultados recibidos; c) el número de laboratorios que informaron el parásito a identificar (acreditados); d) el número de participantes que no lo identificaron o informaron otros parásitos (no acreditados) y e) la relación de los otros parásitos que informaron.

## Discusión

La evaluación de la calidad en parasitología, puede ser enfocada de distintas maneras, por ejemplo, pueden enviarse suspensiones concentradas de parásitos, laminillas o diapositivas, con el propósito de evaluar únicamente la correcta identificación del parásito. Sin embargo, en nuestra experiencia, hemos observado que el procesamiento de las muestras de materia fecal es muy variado y en esta primer etapa de la sección de parasitología decidimos enviar materia fecal inoculada con un parásito para evaluar todo el proceso, ya que aún si se tiene la capacidad de identificar a los parásitos en cualquiera de sus fases, el éxito de una prueba dependerá también de que se realice una técnica de concentración adecuada.

Los resultados obtenidos en las primeras seis evaluaciones son sorprendentes, ya que el porcentaje de laboratorios acreditados es bajo y esto permite suponer que la técnica de concentración no se realiza

**Cuadro 1. Resultados del primer ciclo**

PARASITO A IDENTIFICAR: *Ascaris lumbricoides*

| | | |
|---|---|---|
| TOTAL DE RESULTADOS | 187 | 100% |
| ACREDITADOS | 17 | 9% |
| NO ACREDITADOS | 170 | 91% |

OTROS PARASITOS INFORMADOS:

| | |
|---|---|
| *Uncinarias* | *Taenia sp.* |
| *Nematelmintos* | *Enteromonas hominis* |
| *Enterobius vermicularis* | *Strongyloides stercoralis* |
| *Hymenolepis nana* | *Endolimax nana* |
| *Fasciola hepatica* | *Giardia lamblia* |
| *Necator americanus* | *Entamoeba histolytica* |

**Cuadro 2. Resultados del segundo ciclo**

PARASITO A IDENTIFICAR: *Hymenolepis nana*

| | | |
|---|---|---|
| TOTAL DE RESULTADOS | 125 | 100% |
| ACREDITADOS | 96 | 77% |
| NO ACREDITADOS | 29 | 23% |

OTROS PARASITOS INFORMADOS:

| | |
|---|---|
| *Hymenolepis sp.* | |
| *Ascaris lumbricoides* | *Taenia sp.* |
| *Entamoeba histolytica* | *Giardia lamblia* |
| *Fasciola hepatica* | *Trichiuris trichiura* |
| *Endolimax nana* | *Enteromonas hominis* |
| *Chilomastix mesnili* | *Enterobius vermicularis* |

**Cuadro 3. Resultados del tercer ciclo**

PARASITOS A IDENTIFICAR: *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Ascaris lumbricoides*

| | | |
|---|---|---|
| TOTAL DE RESULTADOS | 184 | 100% |
| ACREDITADOS (con 2 de 3 parásitos) | 52 | 28% |
| NO ACREDITADOS (negativo o un parásito) | 132 | 72% |

OTROS PARASITOS INFORMADOS:

| | |
|---|---|
| *Endolimax nana* | *Giardia lamblia* |
| *Trichiuris trichiura* | *Hymenolepis diminuta* |
| *Taenia sp.* | Larvas de nematelmintos |
| *Hymenolepis nana* | *Enterobius vermicularis* |

**Cuadro 5. Resultados del quinto ciclo**

PARASITO A IDENTIFICAR: *Giardia lamblia*

| | | |
|---|---|---|
| TOTAL DE RESULTADOS | 194 | 100% |
| ACREDITADOS | 76 | 39% |
| NO ACREDITADOS | 118 | 61% |

OTROS PARASITOS INFORMADOS:

| | |
|---|---|
| *Strongyloides stercoralis* | *Hymenolepis nana* |
| *Fasciola hepatica* | *Ascaris lumbricoides* |
| *Entamoeba coli* | *Iodamoeba butschlii* |
| *Endolimax nana* | *Taenia sp.* |
| Larvas rabditoides | *Entamoeba histolytica* |
| Larvas filariformes | Larvas de namátodos |
| *Paragonimus mexicanus* | *Blastocystis hominis* |
| *Dipylidium caninum* | |

adecuadamente. Sin embargo, el número de parásitos distintos al esperado, informado por los participantes es más sorprendente aún, ya que con frecuencia confunden restos de desechos con parásitos. Al respecto, cabe señalar que en cinco de los seis ciclos, el total de la materia fecal utilizada fue de un solo donador y sería casi imposible que un mismo huésped pudiera contener tantos parásitos.

En los ciclos 1, 4 y 6, las muestras problema contenían huevecillos de *Ascaris lumbricoides* o *Fasciola hepatica*, que son muy pesados y difícilmente flotan en las soluciones de sulfato de zinc. En las tres ocasiones el porcentaje de laboratorios que acreditaron fue muy bajo, lo cual sugiere que los laboratorios no revisan el sedimento, que es de especial importancia para el diagnóstico de helmintos, como señala la técnica sugerida por el National Committee for Clinical Laboratory Standards de los Estados Unidos (NCCLS).

En el cuarto y sexto ciclo, en los que las muestras contenían huevecillos de *Fasciola hepatica*, se pudo investigar que muchos participantes los vieron, pero que por el gran tamaño no creyeron que se tratara de un parásito, lo cual señala que efectivamente hay problemas en su identificación. Además también fueron confundidos con huevecillos de otros parásitos.

En la información enviada por los participantes, observamos que hay muchas variaciones en la técnica, a la que casi todos denominan de Faust. El lavado lo realizan desde 1 hasta 6 veces; utilizando una velocidad de centrifugación desde 1500 hasta 3000 rpm, por tiempos que van desde 30 segundos hasta 15 minutos.

Para la flotación, con el sulfato de zinc, centrifugan desde 1500 hasta 2500 rpm y en tiempos que van desde 10 segundos hasta 5 minutos.

En la técnica original reportada por Faust y cols en 1938,[6] se describe que las heces se lavan de 2 a 3 veces con agua de la llave y para ello se centrifuga durante 1 minuto a 2300 rpm, después se agrega el sulfato de zinc de peso específico 1.180 y se centrifuga 1 minuto a 2300 rpm. Esta técnica adolece de seguridad, ya que por un lado, el agua de la llave puede alterar la morfología de algunas estructuras y por otro lado, no es conveniente expresar la velocidad en rpm, porque la

**Cuadro 4. Resultados del cuarto ciclo**

PARASITO A IDENTIFICAR: *Fasciola hepatica*

| | | |
|---|---|---|
| TOTAL DE RESULTADOS | 193 | 100% |
| ACREDITADOS | 10 | 5% |
| NO ACREDITADOS | 183 | 95% |

OTROS PARASITOS INFORMADOS:

| | |
|---|---|
| *Entamoeba coli* | Larvas nematelmintos |
| *Endolimax nana* | *Entamoeba histolytica* |
| *Ascaris lumbricoides* | *Hymenolepis diminuta* |
| *Giardia lamblia* | *Cryptosporidium sp.* |
| *Dipylidium caninum* | *Iodamoeba butschlii* |
| *Trichostrongylus sp.* | *Taenia sp.* |
| *Paragonimus mexicanus* | *Taenia solium* |
| *Hymenolepis nana* | |

**Cuadro 6. Resultados del sexto ciclo**

PARASITO A IDENTIFICAR: *Fasciola hepatica*

| | | |
|---|---|---|
| TOTAL DE RESULTADOS | 183 | 100% |
| ACREDITADOS | 11 | 6% |
| NO ACREDITADOS | 172 | 94% |

OTROS PARASITOS INFORMADOS:

| | |
|---|---|
| *Entamoeba coli* | *Hymenolepis nana* |
| *Endolimax nana* | *Ascaris lumbricoides* |
| *Necator americanus* | *Taenia sp.* |
| *Anchylostoma duodenale* | *Chilomastix mesnili* |
| Larvas de nematelmintos | *Entamoeba histolytica* |
| *Paragonimus mexicanus* | *Diphyllobotrium latum* |
| *Trichostrongylus sp.* | *Fasciolopsis buski* |
| *Giardia lamblia* | Granos de polen |

fuerza centrífuga dependerá entonces del equipo utilizado.

Con el propósito de unificar el procedimiento, se les proporcionó la TÉCNICA RECOMENDADA POR EL NCCLS,[7] que se describe a continuación:

1. Tamizar 1 gramo de la muestra con solución salina fisiológica.
2. Centrifugar a 500 g durante 10 minutos.
3. Decantar y resuspender con sulfato de zinc densidad 1.18.
4. Centrifugar a 500 g durante 1 minuto.
5. Tomar con una pipeta Pasteur la película superficial y colocarla en un portaobjetos con lugol.
6. Decantar el sobrenadante, y con la misma pipeta Pasteur, tomar una muestra del sedimento y ponerla sobre un portaobjetos con lugol.
7. Revisar al microscopio ambas preparaciones.

Hasta el momento, 30% de los laboratorios participantes ha adoptado la técnica del NCCLS, 43% utiliza la de Faust (con sus diferentes variaciones), 9% la de Ritchie, 15% el examen directo y 3% utiliza otras.

Varios de los participantes nos han informado que a partir de que adoptaron la técnica sugerida, observaron un incremento en el número de pruebas positivas, tanto de helmintos como de protozoarios. Esto sugiere que la participación de los laboratorios en programas externos de evaluación, es benéfico aún si los resultados no son satisfactorios, porque contribuyen a incrementar el interés por lo que se hace, mejorando así la calidad analítica.

## Referencias


1. Alva-Estrada SI, Benito-Mercadé MC, Guerrero-Andrade R, Gómez ML, y Salcedo-Romero R. Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios. II. Resultados de los seis primeros ciclos. LABORAT-acta 1991; 3(3):21-8.
2. Alva-Estrada SI, Benito-Mercadé MC, Bautista-González J, Fuentes-Mancilla LM, Salcedo-Romero R, y Gómez ML. Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios. IV. Resultados del año 1991. LABORAT-acta 1992; 4:31-41.
3. Alva-Estrada SI, Cabañas-Cortés EM, Curiel-López P, y Valles de Bourges V. Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios. V. El Estado del Arte y la Calidad Analítica. LABORAT-acta 1992; 4:115-20.
4. Alva-Estrada SI, Curiel-López P, Cabañas-Cortés EM, Fuentes-Mancilla LM, González-Salayandía MA, y Valle de Bourges V. Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios. VI. Análisis de los progresos observados. LABORAT-acta 1992; 4:156-62.
5. Alva-Estrada SI, Fuentes-Mancilla LM, Valles de Bourges V, Romero-Camarena A, Lara-Uc M, y Oliva-Arana AO. Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. XI. Resultados de cuatro años. LABORAT-acta 1994; 6:131-7.
6. Faust EC, PF, Russel y Jung RC, Craig y Faust. Parasitología Clínica. Salvat Editores, S.A. 1974.
7. NCCLS 1993. Procedures for the recovery and identification of Parasites from the intestinal tract; Proposed Guideline. Document M28-P, December 13; Vol. 20:26-9.