

SECCIÓN III

PARASITOLOGÍA: Protocolo de trabajo

AUTORES: Luis Montesano y Mercedes Subirats*.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA

**HOSPITAL CARLOS III
(INSTITUTO DE SALUD CARLOS III)**

*Facultativo responsable

ÍNDICE DE CAPÍTULOS	pag.
PARÁSITOS INTESTINALES	3
Muestras	3
Examen de muestras fecales	3
Examen macroscópico y procesamiento general	3
Concentración en formalina-éter	3
Examen en fresco	4
Tinción de Field	5
Tinción de Ziehl-Neelsen modificada	5
Tinción tricrómica modificada para microsporidios	6
Jugo duodenal y yeyunal	7
Aspirado duodenal y yeyunal	7
Enterotest	7
Detección de oxiuros	9
Test de Graham	9
Detección de Vermes	9
Fijación de vermes en formalina	9
Método de la tinta china para identificación de proglótides	9
PARÁSITOS EN ORINA	12
Concentración de orina para detección de parásitos	12
PARÁSITOS SANGUÍNEOS	13
Diagnóstico de malaria	13
Extensiones de sangre periférica	13
Gota gruesa	14
Prueba de detección antigénica de <i>Plasmodium falciparum</i>	16
Prueba de detección de LDH específica de <i>Plasmodium</i> spp	17
Diagnóstico de microfilaremia	17
Método de concentración de Knott para detección de microfilaremia	18
Tinción para identificación de microfilarias en sangre periférica	18
PARÁSITOS CUTÁNEOS	20
Diagnóstico de oncocercosis	20
Diagnóstico de escabiosis	21
APÉNDICES, ESQUEMAS Y TABLAS (en los diferentes capítulos)	
BIBLIOGRAFÍA	22

PARÁSITOS INTESTINALES

MUESTRAS

- Muestras fecales (preferiblemente 3 muestras obtenidas en días no consecutivos).
- Jugo duodenal y yeyunal (aspirado y enterotest).
- Muestras del margen anal para oxiuros.
- Vermes completos o sus segmentos (proglótides).

EXÁMEN DE MUESTRAS FECALES

Examen macroscópico y procesamiento general.

- Todas las muestras deberán manejarse con guantes y bajo cabina de flujo o campana extractora (cabinas de seguridad de clase I o II).
- Las muestras fecales serán examinadas macroscópicamente e incluidas en una de las siguientes categorías:
 - Diarreicas.
 - Blandas.
 - Normales.
- Deberá anotarse la presencia de sangre, moco y elementos parasitarios como vermes o gusanos adultos y proglótides o segmentos de tenia.
- A todas las muestras fecales se les realizará la técnica de concentración en formalina-éter de Ridley.
- Las muestras diarreicas o blandas y las procedentes de pacientes pediátricos serán también procesadas para tinción directa con Giemsa o Field y Ziehl-Neelsen modificado.
- Las muestras procedentes de pacientes inmunodeprimidos serán procesadas para tinción con Giemsa o Field, Ziehl-Neelsen modificado y tricrómico modificado para microsporidios.
- El examen en fresco se realizará a las muestras líquidas o diarreicas a las que expresamente se solicite, en un plazo no superior a 2-4 horas desde su obtención.
- Los vermes adultos y proglótides deberán ser extraídos, lavados cuidadosamente y sumergidos en formalina caliente al 10%, para su desinfección y posterior identificación.

Técnica de concentración en formalina-éter

Fundamento:

Cuando las muestras fecales contienen escaso número de parásitos, éstos pueden pasar desapercibidos en el examen en fresco. Las técnicas de concentración son utilizadas para aumentar la sensibilidad del examen parasitológico. Los huevos y larvas de helmintos así como los quistes protozoarios, pueden ser detectados en las técnicas de concentración, sin embargo, los trofozoitos no suelen observarse ya que este procedimiento habitualmente los destruye.

Procedimiento:

1. En un tubo de cristal de boca ancha, mezclar 7 ml de formalina al 10% (a partir de formaldehído al 35-40%) con 1 g. de heces aproximadamente, ayudándose con varillas de madera (incluyendo porciones internas y externas de materia fecal), hasta obtener una suspensión turbia.
2. Dejar reposar durante 15 minutos, para inactivación de patógenos.
3. Filtrar o colar la suspensión mediante un colador de café (diámetro de poro de 425 µm) y verter el filtrado en un tubo de ensayo largo.
4. Lavar cuidadosamente el colador hasta eliminar todos los residuos.
5. Añadir 3 ml de éter y mezclar bien en vórtex durante 15 segundos.
6. Transferir a un tubo cónico de centrifugade 10 ml y centrifugar durante 3 min. a 3000 rpm. Al finalizar la centrifugación deberán observarse 4 capas (éter, tapón de residuos, formalina y sedimento).
7. Despegar cuidadosamente el tapón de residuos con varillas de madera, para evitar que caiga en el sedimento, y decantar por inversión rápida del tubo.
8. Mezclar bien el sedimento y transferir una gota a un portaobjetos limpio.
9. Añadir al portaobjetos una gota de lugol diluido al 20% (1:5) en suero salino y colocar un cubreobjetos de 20 x 20 mm.
10. Examinar al microscopio para detectar la presencia de quistes y huevos. Utilizar el objetivo seco de 10x barriendó toda la preparación para la detección de huevos y larvas, y el objetivo de 40x para la identificación de quistes.

Interpretación:

Para la detección e identificación de huevos es importante valorar su forma, contenido y tamaño, verificando sus dimensiones, si es necesario, con ayuda del micrómetro ocular. Con los quistes se procederá de igual forma, valorando también la presencia, número, forma y tamaño de los núcleos y las organelas intracelulares (inclusiones, vacuolas, barras cromatoidales, axostilo, etc.).

Se deberá registrar todo parásito hallado se considere o no patógeno (el hallazgo de algún parásito, aunque no sea considerado patógeno, suele asociarse con la presencia de otros parásitos patógenos, aunque no se detecten en esa misma muestra). Los cristales de Charcot también serán informados, dada su vinculación con la presencia de eosinófilos, tan habituales en las parasitosis. Las levaduras pueden formar parte de la flora normal, pero si se hallan en abundancia también deberán ser informadas.

Examen en fresco

Fundamento:

Se realiza para detección de trofozoitos protozoarios móviles, especialmente de *Entamoeba histolytica*, cuya viabilidad se ve afectada por los otros procedimientos de detección. La movilidad de los trofozoitos puede verse alterada por la demora en la realización de la prueba, la desecación y los cambios de temperatura, por lo que hay que proceder con rapidez, manteniendo húmeda la muestra y a una temperatura cercana a 37°C.

Procedimiento:

1. Bajo una campana apropiada, dispensar sobre un portaobjetos limpio una gota de suero salino, previamente atemperado a 37°C.
2. Añadir una pequeña porción de heces (1 gota) y mezclar con el suero salino.

3. Colocar un cubre y observar rápidamente al microscopio para detectar la presencia de trofozoitos móviles.

Interpretación

Los trofozoitos y quistes de *E. histolytica* suelen ser indistinguibles de los de *E. dispar*, considerada como no patógena.

Tinción de Field

Fundamento:

Se realiza para la detección de trofozoitos protozoarios que normalmente son destruidos durante la realización de las técnicas de concentración. Especialmente útil para la detección de *Blastocystis hominis* y *Dientamoeba fragilis*, que carece de fase quística.

Procedimiento:

1. Realizar bajo campana una extensión fina de materia fecal sobre un portaobjetos limpio, ayudándose de varillas de madera y solución salina.
2. Dejar secar completamente a temperatura ambiente.
3. Fijar la preparación con metanol absoluto durante al menos 1 minuto.
4. Eliminar el exceso de metanol y teñir con colorante Field B (diluido al 20% en agua destilada) cubriendo toda la preparación, y añadir a continuación el colorante Field A (sin diluir), a partes iguales.
5. Mover el portaobjetos horizontalmente para repartir los colorantes durante 1 minuto aproximadamente.
6. Lavar con agua del grifo hasta eliminar todo el colorante no fijado y dejar secar en posición vertical.
7. Observar al microscopio buscando la presencia de formas protozoarias; también es importante registrar la presencia de leucocitos polimorfonucleares. Los núcleos de los parásitos y las estructuras que contienen cromatina se tiñen de rojo, el citoplasma de gris azulado, los núcleos de los leucocitos de púrpura, y las levaduras y bacterias de azul oscuro.

Tinción de Ziehl-Neelsen modificada

Fundamento:

Se realiza fundamentalmente para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* spp, que aparecen en heces con morfología esférica y un tamaño de entre 4 y 6 μm . En ocasiones también pueden detectarse ooquistes de otros coccidios intestinales como *Isoospora* spp. y *Cyclospora* spp.

Procedimiento:

1. Realizar bajo campana una extensión fina de materia fecal sobre un portaobjetos limpio, ayudándose de varillas de madera y solución salina.
2. Dejar secar completamente a temperatura ambiente.
3. Fijar la preparación con metanol absoluto durante al menos 3 minutos.
4. Eliminar el exceso de metanol y cubrir la preparación con carbol-fucsina durante 5 a 15 minutos.
5. Lavar con agua del grifo hasta eliminar todo el colorante no fijado.

6. Decolorar con alcohol ácido al 3% (3% de CIH en etanol de 70°) durante unos instantes, aclarando rápidamente con agua durante 10-15 segundos (la preparación deberá quedar semitransparente y con un color ligeramente rosado, sin precipitados).
7. Contrateñir con azul de metileno al 0,1% durante 15 a 30 segundos.
8. Lavar con agua del grifo y dejar secar en posición vertical.
9. Observar al microscopio buscando la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y otros coccidios característicamente ácido-alcohol resistentes (color rojo o rosado).

Tinción tricrómica modificada para microsporidios

Fundamento:

Los microsporidios son un extenso grupo de parásitos intracelulares, de los cuales solo unas pocas especies pueden infectar al ser humano (*Encephalitozoon intestinalis*, *Enterocytosoon bienewisi*, etc.). Esta tinción permite la detección de las pequeñas esporas del parásito, la fase infectiva que habitualmente se encuentra en las heces o la orina.

Procedimiento:

a) Preparación del colorante.

Cromotropo 2R	6.0 g
Fast Green	0.15 g
Ácido fosfotúngstico	0.7 g

1. Mezclar los componentes en 3 ml de ácido acético glacial y dejar reposar durante 30 minutos.
2. Añadir 100 ml de agua destilada.

b) Tinción.

1. Bajo una campana apropiada, tomar una pequeña cantidad (una gota) de heces frescas o "formalinizadas", y realizar una extensión muy fina sobre 2/3 de la superficie de un portaobjetos limpio.
2. Dejar secar completamente a temperatura ambiente.
3. Fijar en metanol durante 5 minutos.
4. Teñir sumergiendo en colorante tricrómico durante 90 minutos a temperatura ambiente, o durante 10 minutos a 50°C.
5. Aclarar en vasija de Coplin con agua corriente
6. Lavar el portaobjetos por inmersión agitando durante 10 segundos exactos en alcohol ácido (solución al 0.45% de ácido acético glacial en etanol de 90°).
7. Lavar la preparación en etanol de 95° agitando hasta eliminar el exceso de colorante.
8. Deshidratar en etanol al 95% durante 5 minutos.
9. Deshidratar en etanol absoluto durante 5 minutos.
10. Aclarar en xileno durante 5 a 10 minutos.
11. Montar la preparación con resina de montaje (DPX o Entellán) entre porta y cubre.
12. Examinar al microscopio con el objetivo de inmersión. Las esporas de microsporidios tienen un tamaño de 1.0 x 0.5 µm, se tiñen de color rojo o rosado y presentan una vacuola sin teñir.

JUGO DUODENAL Y YEYUNAL

La obtención de jugo duodenal y yeyunal, mediante aspiración o por medio del "Enterotest", permite el diagnóstico de parasitosis no detectadas en otras muestras. Algunos parásitos colonizan el intestino delgado durante alguno de sus estadios, permaneciendo habitualmente en el área yeyunal y siendo infrecuentemente detectados en las heces durante estas fases. Este es el caso de los trofozoitos de *Giardia lamblia* y las larvas rhabditiformes de *Strongyloides* spp. Los conductos biliares desembocan en duodeno, por lo que también pueden hallarse huevos de parásitos procedentes del hígado o del árbol biliar.

Aspirado duodenal y yeyunal

Las muestras de jugo duodenal y yeyunal suelen obtenerse mediante sonda o durante el procedimiento endoscópico. Tras su adecuada identificación, las muestras deberán ser rápidamente enviadas al laboratorio y procesadas inmediatamente sin previa manipulación.

Procesamiento

a) Preparación en fresco:

1. Bajo una campana apropiada, depositar una gota de aspirado sobre un portaobjetos.
2. Colocar un cubre y observar rápidamente al microscopio en busca de elementos parasitarios, fundamentalmente trofozoitos móviles de *G. lamblia* y larvas de *Strongyloides*. También pueden ser hallados huevos de trematodos procedentes del tracto biliar.

b) Concentración:

1. Transferir la muestra a un tubo de centrifuga y centrifugar durante 2 minutos a 2000 rpm.
2. Decantar el sobrenadante por inversión y mezclar el sedimento obtenido.
3. Realizar una preparación en fresco del sedimento tal como se explica en el párrafo anterior.
4. Con el sedimento restante realizar otras dos preparaciones, una para tinción de Field o Giemsa y otra para tinción de Ziehl-Neelsen modificada, tal y como se ha descrito anteriormente para las muestras fecales.

Enterotest

Fundamento:

En este procedimiento se utiliza un largo cordón de nylon, con una pesa en uno de sus extremos, encerrado en una cápsula de gelatina. Una vez deglutida, la cápsula llega al duodeno y el cordón nylon queda liberado a medida que se digiere la gelatina, permitiendo así que parte del contenido duodenal se fije al cordón. Una vez extraído el cordón se procede al examen del jugo duodenal obtenido.

Obtención de la muestra:

El extremo del cordón se pega a la cara del paciente, que a continuación deberá deglutir la cápsula. Pasadas 4 horas, el cordón es extraído por la boca, y la pesa es eliminada posteriormente con las heces. El cordón deberá hallarse teñido con bilis y moco, confirmando su paso por el duodeno; de no ser así, la prueba deberá ser repetida.

El cordón se deposita en un contenedor con suero salino y se envía rápidamente al laboratorio para su procesamiento.

Procesamiento:

1. Agitar el recipiente que contiene el cordón de nylon y el suero salino, utilizando un vórtex para despegar el moco duodenal y yeyunal del cordón.
2. Exprimir el cordón enrollándolo en un aplicador y presionándolo contra las paredes del contenedor, para extraer el mucus restante.
3. Desechar el cordón una vez exprimido totalmente.
4. Centrifugar la mezcla de suero salino y mucus durante 2 minutos a 2000 rpm.
5. Decantar el sobrenadante por inversión y mezclar el sedimento obtenido.
6. Realizar una preparación en fresco del sedimento y observar al microscopio inmediatamente.
7. Con el sedimento restante realizar otras dos preparaciones, una para tinción de Field o Giemsa y otra para tinción de Ziehl-Neelsen modificada, tal y como se ha descrito anteriormente para las muestras fecales.

DETECCIÓN DE OXIUROS

Test de Graham

Fundamento

La detección de oxiuros (*Enterobius vermicularis*) suele realizarse a partir de muestras obtenidas del margen anal. Los huevos de oxiuros suelen hallarse en los pliegues del ano; en heces es muy raro encontrarlos. El uso de una cinta adhesiva transparente favorecerá la obtención de la muestra, al adherirse los huevos a su superficie, permitiendo la posterior observación directa al microscopio. Ante un paciente con clínica sospechosa, lo ideal es obtener 3 muestras del margen anal de días consecutivos y 3 muestras fecales de días no consecutivos.

Procedimiento:

1. La toma de muestras deberá realizarse preferentemente por la noche o a primera hora de la mañana antes de que el paciente orine, defaque o se bañe.
2. Utilizando un depresor de madera recubierto de cinta adhesiva transparente (que no sea mate), realizar varias aplicaciones sobre los pliegues de los márgenes del ano. Es imprescindible el uso de guantes durante la toma y el lavado cuidadoso de las manos tras su realización.
3. Pegar la cinta adhesiva solamente sobre una de las dos caras de un portaobjetos.
4. Observar al microscopio buscando la presencia de los característicos huevos de oxiuro (para facilitar la observación puede emplearse una gota de aceite de inmersión entre la cinta adhesiva y el portaobjetos).

IDENTIFICACIÓN DE VERMES

Fijación de vermes en formalina

La fijación de vermes o gusanos adultos de nematodos y cestodos puede hacerse por inmersión en formalina tamponada al 10% y calentada a 60-63°C. La identificación se basará en la medición y la observación macro y microscópica de sus elementos.

Método de la tinta china para la identificación de proglótides

Fundamento:

La inyección de tinta china en las proglótides puede mostrarnos las ramificaciones uterinas, ayudando a la diferenciación entre *Taenia solium* y *Taenia saginata*. Es importante manejar las proglótides con guantes para evitar la infestación con huevos.

Procedimiento:

1. Colocar la proglótide en agua durante varias horas para obtener su relajación (alternativamente pueden emplearse proglótides fijadas en formalina caliente al 10% en solución salina).
2. Secar la proglótide con papel y colocarla cuidadosamente en un portaobjetos limpio.
3. Localizar el poro genital e inyectar la tinta china con una jeringa de insulina.
4. Lavar rápidamente la proglótide con agua, secarla y colocarla entre dos portaobjetos limpios.
5. Examinar al microscopio con objetivo de 4x o 10x en busca de las ramificaciones uterinas.

Interpretación:

Las ramificaciones uterinas se observan en forma de digitaciones transversales oscuras. *T. saginata* posee un largo canal central con 15 a 30 ramificaciones laterales y con numerosas subdivisiones delgadas. En cambio, *T. solium* solo posee 5 a 10 ramificaciones laterales que se subdividen en gruesas digitaciones dentríticas.

TABLA 1: PRINCIPALES PROTOZOOS INTESTINALES HALLADOS EN MUESTRAS FECALES

ORGANISMO	ESTADIO FECAL	TAMAÑO (μm)	PATOLOGÍA
<u>AMOEBAE</u>			
<i>Entamoeba histolytica</i>	Trofozoito Quiste (1-4 núcleos)	10-30 10-15	Disentería, abscesos hepáticos
<i>Entamoeba dispar</i>	Trofozoito Quiste (1-4 núcleos)	10-30 10-15	No patógeno
<i>Entamoeba hartmanni</i>	Trofozoito Quiste (1-4 núcleos)	5-15 7-10	No patógeno
<i>Entamoeba coli</i>	Trofozoito Quiste (1-8 núcleos)	10-30 15-30	No patógeno
<i>Endolimax nana</i>	Trofozoito Quiste (4 núcleos)	5-15 7-10	No patógeno
<i>Iodamoeba butschlii</i>	Trofozoito Quiste (1 núcleo)	5-20 9-12	No patógeno
<u>BLASTOCYSTIDA*</u>			
<i>Blastocystis hominis</i>	Cuerpo pseudoquistico	6-20	¿Diarrea?
<u>FLAGELADOS</u>			
<i>Giardia lamblia</i>	Trofozoito (2 núcleos) Quiste (4 núcleos)	12-15 8-12	Diarrea, malabsorción, dispepsia
<i>Chilomastix mesnili</i>	Trofozoito (1 núcleo) Quiste (1 núcleo)	10-12 7-10	No patógeno
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	Trofozoito (1 núcleo)	10-12	No patógeno
<i>Enteromonas hominis</i>	Trofozoito (1 núcleo) Quiste (1-4 núcleos)	7-9 6-8	No patógeno
<i>Retortamonas intestinalis</i>	Trofozoito (1 núcleo) Quiste (1 núcleo)	5-7 4-7	No patógeno
<i>Dientamoeba fragilis</i>	Trofozoito (1-2 núcleos)	9-12	¿Colitis?
<u>CILIADOS</u>			
<i>Balantidium coli</i>	Trofozoito Quiste	60-70 50-60	Disentería
<u>COCCIDIOS</u>			
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Ooquiste esporulado	4-6	Diarrea acuosa y crónica (VIH)
<i>Isospora belli</i>	Ooquiste no esporulado	20-33 x 10-19	Diarrea acuosa y crónica (VIH)
<i>Sarcocystis hominis</i>	Ooquiste esporulado Esporoquiste	15-20 8-10 x 15-19	Dudosa
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Ooquiste no esporulado	8-10	Diarrea subaguda o crónica
<u>MICROSPORIDIA</u>			
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	Espora	1,0 x 1,5	Diarrea (VIH)
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	Espora	1,2 x 2,2	Diarrea (VIH)
<i>Encephalitozoon hellen</i>	Espora	1,5 x 2,2-2,5	Bonquial, renal, ocular

*Nuevo orden propuesto

TABLA 2: PRINCIPALES HELMINTOS HALLADOS EN MUESTRAS FECALES

ORGANISMO	ESTADIO FECAL	TAMAÑO (µm)	PATOLOGÍA
<u>NEMATODOS</u>			
<i>Enterobius vermicularis</i>	Huevos Vermes adultos	50-54 x 20-27 2-13 mm	Anal (prurito, insomnio, irritabilidad)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Huevos Vermes adultos	45-75 x 35-50 150-350 mm	Pulmonar, intestinal, biliar, etc.
<i>Trichuris trichiura</i>	Huevos	50-55 x 22-24	Intestinal (dolor, diarrea, etc.)
<i>Uncinarias</i>	Huevos	50-75 x 35-40	Pulmonar, intestinal (anemia, diarrea)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Larva rabadiforme	100-300	Cutánea, pulmonar, intestinal, sistémica.
	Larva rabadiforme	200-300	
	Larva filariforme	500-600	
<i>Trichostrongylus spp.</i>	Huevos	85-115 x 40-50	Ferropenia
	Larva rabadiforme		
<i>Capillaria philippinensis</i>	Huevos	21 x 36-45	Intestinal (diarrea, deshidratación, etc.)
	Vermes adultos	2-5 mm	
	Larvas	200-300	
<u>CESTODOS</u>			
<i>Taenia saginata</i>	Huevos	31-43	Intestinal (dispepsia, vómitos, diarrea)
	Proglótides	18-20 x 5-7 mm	
<i>Taenia solium</i>	Huevos	35	Intestinal, sistémica y SNC (cisticercosis)
	Proglótides	20 x 30 mm	
<i>Hymenolepis nana</i>	Huevos	30-47	Intestinal (dolor, diarrea)
<i>H. diminuta</i>	Huevos	60-80 x 70-85	Dudosa
<i>Diphyllobotrium latum</i>	Huevos	44-50 x 58-75	Intestinal (diarrea, dolor, anemia)
	Proglótides	3 x 15 mm	
<i>Dipylidium caninum</i>	Huevos en sacos	20-30	Dudosa
	Proglótides	8-12 x 23-27	
<u>TREMATODOS</u>			
<i>Schistosoma mansoni</i>	Huevos	40-70 x 114-175	Intestinal, hepática, etc.
<i>S. japonicum</i>	Huevos	55-65 x 70-100	Intestinal, hepática, SNC, etc.
<i>S. mekongi</i>	Huevos	39-66 x 51-78	Intestinal, hepática, SNC, etc.
<i>S. intercalatum</i>	Huevos	50-85 x 140-240	Intestinal, hepática, etc.
<i>S. haematobium</i>	Huevos (orina)	40-70 x 110-170	Vías urinarias, riñón.
<i>Paragonimus westermani</i>	Huevos	45-70 x 80-120	Pulmonar, digestiva, SNC, etc.
<i>Clonorchis sinensis</i>	Huevos	12-19 x 27-35	Biliar, hepática, pancreática.
<i>Opistorchis spp.</i>	Huevos	15-20 x 30-35	Biliar, hepática, pancreática.
<i>Fasciola hepatica</i>	Huevos	63-90 x 130-150	Hepática, biliar, pulmonar, cutánea, etc.
<i>Fasciolopsis buski</i>	Huevos	80-85 x 130-140	Intestinal (diarrea, dolor abdominal)
<i>Heterophyes heterophyes</i>	Huevos	13-18 x 17-30	Intestinal (diarrea, dolor abdominal)
<i>Metagonimus yokogawai</i>	Huevos	13-18 x 17-30	Intestinal (diarrea, dolor abdominal)

PARÁSITOS EN ORINA

CONCENTRACIÓN DE ORINA PARA DETECCIÓN DE PARÁSITOS

Fundamento:

El tracto urinario no es el hábitat natural de los helmintos adultos, pero los huevos de algunas especies, principalmente *Schistosoma haematobium*, suelen hallarse en la orina de los pacientes parasitados. Ocasionalmente también pueden encontrarse huevos de oxiuros (*Enterobius vermicularis*) y trofozoitos de *Trichomonas vaginalis*. Excepcionalmente podemos hallar también larvas de *Strongyloides stercoralis* y microfilarias de *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* y *Onchocerca volvulus*.

Preferiblemente se obtendrán muestras de orina de 24 h., o bien una muestra de las 11 A.M. tras 10 minutos de ejercicio, lo que favorece el desprendimiento de los huevos. Si no es posible, se pueden recoger muestras de la porción terminal de una o varias micciones.

Procedimiento:

a) Método de centrifugación.

1. Recoger todo el volumen posible de orina y centrifugar a 1500 rpm. durante 2 minutos.
2. Decantar el sobrenadante por inversión y colocar una gota entre porta y cubreobjetos.
3. Examinar al microscopio toda la superficie del cubreobjetos en busca de huevos de *Schistosoma*, utilizando primero el objetivo 10x y luego el 40x.

b) Método de filtración.

1. Colocar una membrana de policarbonato transparente (Nucleopore), de 12-13 μm de tamaño de poro, en el soporte apropiado (Swinnex 13 o Millipore 25), y con la superficie brillante hacia arriba.
2. Mediante una jeringa, recoger todo el volumen posible de la muestra de orina.
3. Conectar la jeringa al soporte y hacer pasar verticalmente todo el volumen de orina por el filtro, con cuidado de no aspirar.
4. Volver a cargar la jeringa y repetir la operación hasta completar todo el volumen de la muestra.
5. Extraer la jeringa, cargarla de aire y hacer pasar por el filtro todo el volumen de aire contenido en ella.
6. Extraer cuidadosamente el filtro utilizado mediante pinzas y colocarlo en un portaobjetos limpio con la superficie brillante del filtro hacia arriba.
7. Añadir una gota de suero salino y colocar un cubreobjetos.
8. Examinar al microscopio toda la superficie del filtro en busca de huevos de *Schistosoma* spp, utilizando primero el objetivo 10x y luego el 40x.

Interpretación:

Los huevos de *S. haematobium* tienen forma oval, miden 150 x 50 μm y están dotados de una espina terminal. *S. intercalatum*, frecuente en Guinea ecuatorial, tiene un tamaño similar, una espina terminal lateralizada y dos estrechamientos a lo largo del cuerpo.

PARÁSITOS SANGUÍNEOS

DIAGNÓSTICO DE MALARIA

Las muestras de sangre deberán ser extraídas preferentemente durante los accesos febriles. Son adecuadas las muestras venosas recogidas en EDTA y las de sangre capilar obtenidas directamente mediante lanceta, pero en este último caso las preparaciones deben ser realizadas inmediatamente a la cabecera del enfermo; en cualquier caso se deberá registrar el país de procedencia del paciente. A todas las muestras enviadas para diagnóstico de malaria se les realizará como mínimo 2 extensiones y una preparación de gota gruesa, y si es posible serán sometidas también a pruebas de detección antigénica de plasmodios.

Extensiones de sangre periférica

Fundamento

La tinción con colorantes de Romanowsky (Giemsa, Field...) de las extensiones o frotis de sangre periférica permite la detección microscópica de los parásitos palúdicos en el interior de los hematies. Esta técnica tiene la ventaja de la rapidez, lo que permite un diagnóstico de urgencia, y es especialmente adecuada para la identificación de la especie, ya que se conserva mejor la morfología parasitaria.

Procedimiento

a) Realización de la extensión:

1. Depositar una pequeña gota de sangre en uno de los extremos de un portaobjetos limpio y desengrasado.
2. Extender la gota de sangre inmediatamente (antes de que empiece a secarse), con la ayuda del borde de otro portaobjetos, y manteniendo entre ambos un ángulo de unos 45°. En una extensión bien realizada los límites de la preparación no deben contactar con el borde del portaobjetos y podrán distinguirse tres partes: cabeza, cuerpo y cola.
3. Secar rápidamente la preparación, agitándola manualmente, para obtener una distribución homogénea de los hematies y evitar su apilamiento.
4. Realizar la tinción rápida de Field o la de Giemsa según se describe a continuación.

b) Tinción rápida de Field:

1. Fijar la extensión cubriéndola con metanol absoluto durante 1 minuto, No mas de 1 min. porque el pH menor de 7.2 impide que se tiñan los punteados que son una importante clave diagnóstica.
2. Eliminar el exceso de metanol.
3. Teñir con colorante B de Field (diluido 1/5 en agua tamponada a pH 7.2), cubriendo la extensión completamente.
4. Añadir inmediatamente igual cantidad de colorante A de Field (sin diluir) y mezclar bien, inclinando alternativamente el portaobjetos durante un minuto.
5. Lavar la extensión en un vaso de precipitado con agua del grifo, agitándola fuertemente en su interior, hasta eliminar todo el colorante no fijado.

6. Dejar secar en posición vertical y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

c) Tinción de Giemsa:

1. Fijar la extensión con metanol absoluto durante un minuto como máximo (la prolongación del tiempo de fijación puede dificultar la visualización del punteado de Schüffner y las tachuelas de Maurer).
2. Eliminar el exceso de metanol.
3. Teñir con Giemsa al 3% en agua destilada y tamponada (pH 7.2) durante 30 minutos (o bien durante 20 minutos con Giemsa al 10%).
4. Lavar la extensión con agua agitando fuertemente, hasta eliminar todo el colorante no fijado.
5. Dejar secar la preparación en posición vertical y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

Interpretación:

Es imprescindible examinar numerosos campos en ambas extensiones (un mínimo de 100 a 150 campos o unos 10 minutos por preparación) antes de considerar un resultado negativo. Si es posible, sería conveniente la lectura de las preparaciones por dos observadores.

La detección de plasmodios deberá ir seguida de un recuento semicuantitativo informando el número de hematies parasitados por cada 100 hematies:

$$\% \text{ parasitemia} = (\text{promedio de hematies parasitados por campo} / \text{promedio de hematies totales por campo}) \times 100$$

Para la identificación de la especie es importante buscar e informar la presencia de parásitos en diferentes estadios del ciclo vital (trofozoitos, esquizontes, gametocitos), valorar la morfología y el tamaño de los hematies parasitados, y la existencia de punteado, granulaciones y pigmento malárico. La procedencia del paciente será de utilidad para orientar el diagnóstico, valorando la prevalencia de las diferentes especies y la presencia de resistencias a los antipalúdicos en la zona.

Tabla 3: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE PLASMODIUM

ESPECIE	HEMATIES PARASITADOS	TROFOZOITOS	ESQUIZONTES	GAMETOCITOS
<i>P. falciparum</i>	Normales o pequeños. Tachuelas de Maurer (a veces)	Pequeños. Anillos dobles frec.	Ausentes en SP. *Merozoitos: 8-26	Falciformes (banana) Pigmento grueso
<i>P. vivax</i>	Grandes. Punteado de Schüffner.	Grandes, ameboides A veces anillo doble	Tamaño grande. *Merozoitos: 12-24	Esféricos y grandes. Pigmento fino.
<i>P. ovale</i>	Grandes, ovales, con fimbrias. Punteado de Schüffner.	Pequeños. Anillos dobles raros	Tamaño medio. *Merozoitos: 6-12	Esféricos, pequeños. Pigmento fino.
<i>P. malariae</i>	Normales o pequeños. Sin gránulos ni punteado.	Pequeños, en banda Anillos dobles raros	Tamaño pequeño. *Merozoitos: 6-12	Esféricos, pequeños. Pigmento fino.

* N° de merozoitos en el esquizonte maduro

Gota gruesa.

Fundamento:

La técnica de la gota gruesa consiste en el examen microscópico de una gruesa capa de sangre teñida sin fijar, en busca de plasmodios. El mayor grosor de la preparación

permite el examen de una mayor cantidad de sangre en menos tiempo, pero la lisis completa de los hematíes, antes y durante el proceso de tinción, es esencial para una adecuada observación.

Uno de los principales inconvenientes es la necesidad de un observador experimentado. La presencia de leucocitos, plaquetas, restos eritrocitarios y artefactos diversos, así como una morfología parasitaria alterada, dificulta la interpretación del examen y la identificación de la especie.

Procedimiento

a) Preparación de la gota:

1. Dispensar una gota de sangre sobre un portaobjetos limpio y desengrasado y extenderla ligeramente sobre su superficie evitando que la capa de sangre sea demasiado gruesa (lo suficiente para que pueda leerse a su través la letra impresa de un periódico).
2. Desfibrinar la gota de sangre realizando movimientos circulares con la ayuda de la esquina de otro porta (este paso no es necesario si la muestra está anticoagulada con EDTA).
3. Dejar secar completamente durante varias horas a temperatura ambiente. En situaciones de urgencia puede acelerarse el secado por agitación o con calor suave, evitando que con el exceso de calor quede fijada la preparación.
4. Realizar la tinción rápida de Field o la de Giemsa según se describe a continuación.

b) Tinción de Field:

1. Teñir con Field A durante 3 segundos, vertiendo el colorante con suavidad hasta cubrir completamente la preparación (si se dispone de cubetas de tinción con colorante, bastará con sumergir la preparación sin agitar).
2. Lavar suavemente introduciendo en un vaso de precipitados con agua pH 7,2 .
3. Teñir con Field B (sin diluir) durante 3 segundos, vertiendo el colorante con suavidad hasta cubrir completamente la preparación (si se dispone de cubetas de tinción con colorante, bastará con sumergir la preparación sin agitar).
4. Lavar cuidadosamente en agua.
5. Dejar secar en posición vertical y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

c) Tinción de Giemsa.

1. Teñir suavemente con Giemsa al 3% en agua destilada y tamponada (pH 7.2) durante 20 a 30 minutos.
2. Lavar cuidadosamente en agua.
3. Dejar secar en posición vertical y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

Interpretación:

Las formas parasitarias deben ser distinguidas de los restos eritrocitarios, leucocitarios y plaquetarios, así como de los artefactos producidos durante el procedimiento. En los parásitos palúdicos pueden observarse tres componentes: el citoplasma que se tiñe de azul, la cromatina que se tiñe de rojo o violeta, y los gránulos de pigmento malárico que se tiñen de marrón, negro o amarillo.

Prueba de detección antigénica de *Plasmodium falciparum* (ParaSight-F®)

Fundamento:

ParaSight-F® es una prueba rápida para la detección cualitativa de la proteína antigénica II rica en histidina (HRP II) de *Plasmodium falciparum*, directamente a partir de sangre periférica entera. Sobre una tira reactiva se hallan fijados anticuerpos específicos frente a la HRP II. El antígeno de *P. falciparum* presente en la sangre, previamente lisada, se une al anticuerpo a medida que la muestra es absorbida en la tira reactiva. La adición de una suspensión de partículas coloreadas, y recubiertas de anticuerpos específicos contra *P. falciparum*, permite la detección del antígeno ligado. En otro segmento de la tira reactiva se halla fijado antígeno HRP II, que se visualiza al añadir la suspensión reveladora, sirviendo como control del procedimiento.

Procedimiento

a) Preparación de la muestra:

1. Dispensar 3 gotas de reactivo 1 (agente lisante) a uno de los tubos de muestra.
2. Llenar un tubo capilar (desde el extremo más alejado de la marca de llenado) con sangre del paciente, hasta que la sangre llegue por capilaridad a la marca.
3. Vaciar la sangre del tubo capilar en el tubo de muestra, ayudándose con una de las perillas de goma suministradas.
4. Tapar el tubo de muestra con uno de los filtros suministrados y mezclar sin invertir el tubo.

b) Desarrollo de la prueba:

5. Sacar una tira reactiva e identificarla sobre la zona impresa no absorbente.
6. Dispensar una gota de sangre lisada en uno de los pocillos desechables, colocados en la gradilla de reacción.
7. Colocar verticalmente la tira reactiva sobre la gota de sangre lisada, con el extremo absorbente hacia abajo y en contacto con la muestra.
8. Esperar hasta que toda la sangre haya sido absorbida en la tira reactiva.
9. Añadir una gota de reactivo 2 (agente de detección) al mismo pocillo y esperar hasta que haya sido completamente absorbido en la tira reactiva.
10. Añadir dos gotas de reactivo 3 (agente de lavado) al mismo pocillo y esperar hasta que haya sido completamente absorbido en la tira reactiva. El fondo de la tira se torna blanco y los resultados se hacen claramente visibles.

Interpretación:

- **Prueba positiva** (presencia de antígeno específico de *P. falciparum* en la muestra de sangre): se aprecia una línea continua de color rosa en la parte inferior de la tira reactiva y otra línea discontinua del mismo color por encima (control).
- **Prueba negativa** (ausencia de antígeno específico de *P. falciparum* en la muestra de sangre): solo se aprecia una línea rosa discontinua de control en la parte superior.
- **Prueba no interpretable**: no aparece la banda de control. La prueba deberá ser repetida.

Una prueba positiva no es necesariamente indicativa de la presencia de parásitos viables, solo indica la existencia del antígeno, expresado en la superficie de los hematies. El resultado no tiene por qué corresponder necesariamente con los del frotis o la gota gruesa realizados sobre el mismo espécimen, pudiendo aparecer el antígeno antes de que se detecte microscópicamente el parásito, y desaparecer más tarde.

Un resultado negativo no descarta el diagnóstico de malaria. La presencia de antígenos procedentes de especies de *Plasmodium* diferentes a *P. falciparum* no puede ser detectada por este procedimiento.

Prueba de detección de LDH específica de *Plasmodium* spp. (OptiMAL®)

Fundamento:

OptiMAL® es una prueba rápida para la detección inmunológica cualitativa de la LDH parasitaria (pLDH) específica de *Plasmodium* spp, permitiendo distinguir la pLDH de *P. falciparum* y la de otras especies (*P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*). La pLDH está desarrollada en las formas sexuales y asexuales de los parásitos palúdicos. Su aparición en sangre puede ser detectada con parasitemias periféricas de 100-200 parásitos / µl de sangre (0.002 %).

La prueba consiste en un ensayo inmunocromatográfico de dos pasos. Incluye dos juegos de anticuerpos monoclonales y policlonales dirigidos frente a la pLDH, y también dispone de un control de procedimiento que asegura su validez.

Procedimiento:

1. Dispensar 30 µl (2 gotas) de "buffer A" en uno de los pocillos de prueba.
2. Añadir 10 a 20 µl (1 gota) de sangre entera del paciente y mezclar bien.
3. Colocar una tira reactiva en el pocillo con la parte delgada hacia abajo y en contacto con la muestra.
4. Esperar a que la muestra empape completamente la tira reactiva (8 a 15 minutos).
5. Dispensar 80 µl de "buffer B" a un segundo pocillo y trasladar la tira reactiva al mismo.
6. Esperar a que la tira reactiva absorba el "buffer B" (unos 10 minutos).
7. Leer la tira reactiva, una vez que se haya aclarado la sangre.

Interpretación:

- Resultado positivo (presencia de pLDH en la muestra): deberán aparecer 2 o 3 bandas de color, de las cuales la banda superior corresponde al control. Un total de 3 bandas es indicativo de *P. falciparum*, y un total de 2 bandas superiores indican *P. vivax*, *P. ovale* o *P. malariae*.
- Resultado negativo (ausencia de pLDH en la muestra): Solo hay una banda en la parte superior, correspondiente al control.
- Resultado inválido: No hay banda superior de control. La prueba deberá ser descartada, repitiendo de nuevo todo el procedimiento.

DIAGNÓSTICO DE MICROFILAREMIA

Para la detección de filiarisis deberá obtenerse sangre capilar, o preferiblemente venosa en un tubo con EDTA. Es importante tener en cuenta la hora del día para efectuar la extracción de sangre. Algunas especies presentan una cierta periodicidad, existiendo microfilaremia sólo a determinadas horas: *Wuchereria bancrofti* y *Brugia malayi* poseen periodicidad nocturna, *W. bancrofti* var. *pacifica* y *Loa loa* poseen periodicidad diurna, y *Mansonella* spp. carece de periodicidad. Por tanto es preciso enviar al laboratorio dos muestras de sangre: una diurna (de las 10 a las 14 horas) y otra nocturna (de las 22 a las 2 horas).

Método de concentración de Knott para detección de microfilaremia

Fundamento:

El método de concentración de Knott favorece la detección de las microfilarias mediante centrifugación, permitiendo un adecuado examen y manteniendo la morfología de los parásitos con formalina, al tiempo que se logra la lisis de los hematies.

Procedimiento:

1. Dispensar 1 ml de sangre con EDTA en un tubo de centrífuga.
2. Añadir 9 ml de formalina al 2% en agua destilada.
3. Mezclar y esperar 30 minutos para que se produzca la hemólisis de los eritrocitos y la desinfección de la muestra.
4. Centrifugar a 2000 rpm. durante 10 minutos.
5. Decantar el sobrenadante.
6. Mezclar el sedimento y colocar una gota entre porta y cubre.
7. Examinar al microscopio con el objetivo 10x en busca de microfilarias.

Interpretación:

Las microfilarias son filiformes y tienen una longitud de más de 100 μm . Cuando se observa una imagen sospechosa, la identificación se basará en la morfología y el tamaño. Una vez detectada la presencia de microfilarias deberá hacerse un recuento, realizando 5 extensiones de 20 μl de sangre total, teñidas con Giemsa o Field, y hacer el recuento expresado como n° de mff/100 μl .

Tinción para identificación de microfilarias en sangre periférica

Fundamento:

Una vez detectada la presencia de microfilarias se recurre a la tinción para identificar la especie o especies presentes en la muestra. Los colorantes de Romanowsky son los más utilizadas; sin embargo, no todos los procedimientos de tinción son adecuados para visualizar todas las características diagnósticas.

Procedimiento:

1. Dispensar 2 ml de sangre con EDTA en un tubo de centrífuga.
2. Añadir 8 ml de agua destilada y 15 a 20 gotas de ácido acético glacial.
3. Mezclar y esperar unos minutos para lisar completamente los hematies.
4. Centrifugar durante 10 minutos a 2000 rpm y a continuación decantar el sobrenadante.
5. A partir del sedimento, preparar extensiones gruesas sobre portaobjetos y dejar toda la noche hasta que las preparaciones se hayan secado completamente.
6. Teñir al día siguiente con Field o Giemsa del mismo modo que un frotis sanguíneo convencional.
7. Examinar al microscopio con objetivo 10x recorriendo sistemáticamente toda la preparación para localizar las microfilarias, y utilizando el objetivo de 40x o el de inmersión para la identificación.

Interpretación:

La identificación de microfilarias se basa en el tamaño, la presencia o ausencia de cubierta, la morfología de la cola, y la presencia o ausencia de núcleos en el extremo caudal.

Tabla 4: CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES MICROFILARIAS HALLADAS EN SANGRE

ESPECIE	TAMAÑO (µm)	VAINA	COLA	NÚCLEOS
<i>Wuchereria bancrofti</i>	275-300	Presente	Afilada	Escasos, ausentes en la cola.
<i>Brugia malayi</i>	200-325	Presente	Redondeada	Abundantes, dos núcleos en la cola.
<i>Brugia timori</i>	290-325	Presente	Redondeada	Abundantes, dos núcleos en la cola.
<i>Loa loa</i>	290-300	Presente*	Afilada	Abundantes, presentes en la cola.
<i>Mansonella perstans</i>	190-240	Ausente	Redondeada	Presentes en la cola (uno grande).
<i>Mansonella ozzardi</i>	150-200	Ausente	Afilada	Ausentes en la cola.

* No se tiñe con el colorante de Giemsa, per sí con hematoxilina.

PARÁSITOS CUTÁNEOS

DIAGNÓSTICO DE ONCOCERCOSIS

La oncocercosis es una filariasis que afecta fundamentalmente a la piel, tejidos subcutáneos y ojos. La enfermedad es endémica en algunas regiones de África, América Central, Sudamérica y Mediterráneo Oriental. Son varias las especies de filarias que pueden encontrarse en la piel del ser humano: *Onchocerca volvulus* (la más prevalente), *Mansonella streptocerca* (en África Occidental y del Sur), y *Mansonella ozzardi* (en América Central y del Sur).

Fundamento:

Las microfilarias pueden ser detectadas mediante el examen microscópico de biopsias cutáneas obtenidas de los pacientes afectados. Las regiones cutáneas más apropiadas son las correspondientes a glúteos, gemelos y escápulas. Normalmente se obtienen cuatro muestras por paciente: en las dos escápulas y en los dos glúteos.

Toma de muestras:

1. Preparar dos tubos con 0.5 ml de suero salino en cada uno.
2. Desinfectar con povidona yodada la zona de piel que va a ser sometida a biopsia.
3. Introducir en la piel la punta de una aguja estéril hasta una profundidad de 1 o 2 mm y levantar la aguja.
4. Utilizando un escalpelo o la punta de un bisturí, cortar con un movimiento rápido el trozo de piel levantado por la aguja, tan cerca como sea posible de la punta. Basta con una muestra de 1 o 2 mm. También pueden usarse pinzas Walser de 2mm de sacabocados. Es importante evitar el sangrado para que no se contaminen las muestras de piel con microfilarias procedentes de la sangre.
5. Repetir la operación anterior hasta obtener cuatro muestras de piel: dos en ambas regiones escapulares y otras dos en ambas regiones glúteas.
6. Introducir las dos muestras escapulares en uno de los tubos con suero salino y las dos glúteas en el otro. Identificar los tubos y enviar al laboratorio para su procesamiento.

Preparación y examen de las muestras:

1. Extraer cuidadosamente las muestras de piel y colocarlas en sendos portaobjetos (uno para cada par de muestras, escapulares y glúteas respectivamente).
2. Cubrir las muestras con sendos cubreobjetos y rellenar todo el espacio entre porta y cubre con el suero salino contenido en el tubo correspondiente.
3. Colocar las preparaciones en placas de Petri adecuadamente identificadas (nº de registro y fecha y hora de montaje).
4. Colocar en el interior de la placa un trozo de papel secante empapado con agua, y sellar la placa con cinta adhesiva para evitar la evaporación.
5. Incubar las placas a 37°C durante 24 h.
6. Al día siguiente, examinar la preparación al microscopio con el objetivo de 10x buscando la presencia de microfilarias (es importante recorrer toda la superficie del cubre haciendo especial hincapié en los bordes de las muestras de piel).

Interpretación:

Puede realizarse una primera observación a los 30 minutos de incubación, pero en cualquier caso deberá realizarse un examen definitivo a las 24 horas, lo que permite aumentar hasta 5 veces la capacidad de detección de microfilarias.

Si hay microfilarias, suelen observarse en movimiento. Una vez localizadas, se procederá a su recuento informándolo como N° de microfilarias / pellizco. En las muestras contaminadas con sangre deberá tenerse en cuenta la posible presencia de microfilaremia, y evitar falsos positivos por confusión con *Onchocerca volvulus*. Para la identificación se recurrirá al objetivo 40x, o si es necesario, a la tinción. El tamaño y el aspecto de la cabeza y la cola son los caracteres morfológicos más distintivos.

Tabla 5: CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES MICROFILARIAS HALLADAS EN LA PIEL

ESPECIE	TAMAÑO (µm)	VAINA	COLA	NÚCLEOS
<i>Onchocerca volvulus</i>	240-360	Ausente	Afilada	Presentes en la cola.
<i>Mansonella streptocerca</i>	180-240	Ausente	En gancho	Presentes en la cola.
<i>Mansonella ozzardi</i>	150-200	Ausente	Afilada	Ausentes en la cola.

DIAGNOSTICO DE ESCABIOSIS

La sarna está causada por la hembra del ácaro *Sarcoptes scabiei*, que orada la piel humana formando túneles en los que habita, y ocasionando en el huésped un intenso prurito. Las madrigueras (surcos acarinos) se localizan allí donde la piel es más fina y está plegada (dedos, pliegues interdigitales, dorso de pies y manos, etc.).

Fundamento:

La expresión por rascado de los surcos acarinos, donde la hembra habita y pone los huevos, permite la obtención de material para su examen microscópico.

Procedimiento:

1. Inspeccionar la piel en busca de lesiones sospechosas y colocar una gota de suero salino sobre las mismas.
2. Exprimir el surco acarino o las lesiones sospechosas, raspando la piel con ayuda de una hoja de bisturí o el mango de una lanceta.
3. Colocar el material obtenido sobre un portaobjetos.
4. Añadir una o dos gotas de suero salino o hidróxido potásico y cubrir la preparación con un cubreobjetos.
5. Examinar al microscopio con el objetivo 10x recorriendo toda la preparación en busca de ácaros o sus huevos.

Interpretación:

Su tamaño (330-450 µm), la ausencia de cabeza aparente, y el típico aspecto del cuerpo y las extremidades, hacen a este ectoparásito inconfundible. Por supuesto, un resultado negativo no excluye el diagnóstico.

