

# FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMIA PATOLÓGICA

COMPARACIÓN DE UN MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN Y
FLOTACIÓN PARA LA CONCENTRACIÓN DE PARÁSITOS
INTESTINALES EN MUESTRAS FECALES EMPLEADAS
PARA LOS PROGRAMAS DE EVALUACIÓN EXTERNA DE
LA CALIDAD, LABORATORIO INMULAB DEL DISTRITO DE
ICA, MARZO 2017

TESISTA: VÍCTOR ALEJANDRO TOVAR MOLINA

Tesis preparada en la Universidad Alas Peruanas como requisito para la obtención del título de licenciado en Tecnología Médica

Tutora: Mg. Julia Cecilia Morón Valenzuela

Ica, Perú

2017

Tovar, V. 2017. Comparación de un método de sedimentación y flotación para la concentración de parásitos intestinales en muestras fecales empleadas para los programas de evaluación externa de la calidad, Laboratorio Inmulab del Distrito de Ica, marzo 2017 / Víctor Alejandro Tovar Molina. 91 páginas.
Nombre del tutor: Mg. Julia Cecilia Morón Valenzuela
"Disertación académica en licenciatura en Tecnología Médica – Universidad Alas

Peruanas 2017"



# FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGIA MÉDICA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMIA PATOLÓGICA

## HOJA DE APROBACIÓN

#### **TEMA**

"COMPARACIÓN DE UN MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN Y
FLOTACIÓN PARA LA CONCENTRACIÓN DE PARÁSITOS
INTESTINALES EN MUESTRAS FECALES EMPLEADAS PARA LOS
PROGRAMAS DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD,
LABORATORIO INMULAB DEL DISTRITO DE ICA, MARZO 2017"

AUTOR: VÍCTOR ALEJANDRO TOVAR MOLINA

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de licenciado en Tecnología Médica por la Universidad Alas Peruanas.

PRESIDENTE: Dr. Guillermo Albitres Juan José

SECRETARIO: Blgo. Pérez Yauri Juan Carlos

MIEMBRO: Lic. TM. León Febres Juvel Teófilo

ICA- PERU 2017

Dedico este trabajo principalmente a Jehová, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mis padres: Víctor Tovar y Mercedes Molina de Tovar por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

Se agradece por su contribución para el desarrollo de esta tesis a: Edgar Loza y a Sonia Canales por su apoyo incondicional en el trascurso de mi carrera universitaria. A mi profesor Jaime rosales, por su valiosa guía y asesoramiento a la realización de la misma. A mi novia Kelly Loza que durante este tiempo ha sabido apoyarme para continuar y nunca renunciar, gracias por su amor incondicional. Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto.

#### RESUMEN

Objetivos. Comparar los resultados obtenidos por un método de sedimentación en comparación con el método de flotación en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad. Materiales y métodos. Se diseñó un estudio experimental de laboratorio, dirigido la evaluación de tres técnicas parasitológicas: Coproparasitológico directo, sedimentación simple y Sheather; para el cual se prepararon diluciones seriadas (sin dilución, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160,1:320, 1:640 y 1:1280) usando un material de referencia fecal utilizado para el programa de evaluación externa de la calidad en laboratorios de parasitología a nivel nacional.

Resultados. Los resultados encontrados evidencian una tasa de recuperación superior a las otras dos técnicas utilizadas, con diferencias significativas (p<0.05) en todos los casos de los parásitos evaluados, siendo estos representantes de los dos grandes sub reinos: protozoos (Giardia lamblia) y metazoos (helmintos como Enterobius vermicularis, Áscaris lumbricoides, Strongyloides sp e Hymenolepis nana). La técnica de Sheather según nuestros resultados presentó sensibilidad del 100% para los parásitos *G. lamblia*, *E. vermicularis* y *A. lumbricoides*, considerando que generó resultados positivos para los tres casos, e incluso detecto estructuras parasitarias en la máxima dilución realizada. La sedimentación simple también tuvo una sensibilidad del 100%, pero únicamente para G. lamblia. En el caso de la evaluación de los huevos de H. nana, la técnica de sedimentación simple tuvo sensibilidad inferior a la del Coproparasitológico simple, aunque estas dos en general, presentaron valores de sensibilidad muy baja, en comparación con la técnica de Sheather, donde la sensibilidad fue cercana al 100%. Conclusiones. La técnica de Sheather generó mejores tasas de recuperación de parásitos intestinales en comparación a las otras 2 técnicas utilizadas, con diferencias significativas.

**Palabras clave:** Método de sedimentación, método de flotación, parásitos intestinales.

#### ABSTRACT

**Objectives.** To compare the results obtained by a sedimentation method in comparison with the flotation method in faecal samples used for the external quality evaluation program.

*Materials and methods*. An experimental laboratory study was designed, aimed at the evaluation of three parasitological techniques: direct coproparasitological, simple sedimentation and Sheather; For which serial dilutions (without dilution, 1: 5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1: 160,1: 320, 1: 640 and 1: 1280) were prepared using a material Of reference fecal used for the program of external evaluation of the quality in laboratories of parasitology at national level.

Results. he results showed a recovery rate higher than the other two techniques, with significant differences (p <0.05) in all cases of parasites evaluated, being these representatives of the two great sub kingdoms: protozoa (Giardia lamblia) and metazoans (Helminths such as Enterobius vermicularis, Áscaris lumbricoides, Strongyloides sp and Hymenolepis nana). The Sheather technique according to our results showed a sensitivity of 100% for the parasites G. lamblia, E. vermicularis and A. lumbricoides, considering that it generated positive results for the three cases, and even detected parasitic structures at maximum dilution. Simple sedimentation also had a sensitivity of 100%, but only for G. lamblia. In the case of evaluation of *H. nana* eggs, the simple sedimentation sensitivity technique had а lower than that of the Coproparasitológico, although these two in general had very low sensitivity values, compared to the Sheather technique, where The sensitivity was close to 100%.

**Conclusions**. The Sheather technique generated better rates of intestinal parasite recovery compared to the other 2 techniques used, with significant differences.

**Kew words:** Sedimentation method, flotation method, intestinal parasites

### **TABLA DE CONTENIDOS**

Portada	i
Epígrafe	ii
Hoja de aprobación	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	V
Resumen	vi
Abstract	vii
Tabla de contenidos	vii
Listado de tablas	х
Listado de imágenes	xii
Abreviaturas	xii
INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.1. Descripción de la situación problemática	16
1.2. Formulación del problema de investigación	17
1.3. Objetivos de la investigación	18
1.4. Justificación e importancia	19
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	20
2.1. Antecedentes de la investigación	20
2.2. Bases teóricas	24
2.3. Bases legales	32
2.4. Definición de términos básicos	34
CAPITULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	36
3.1. Hipótesis general	36
3.2. Hipótesis específicas	36
3.3. Variables	37
CAPITULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	38
4.1. Tipo y diseño de la investigación	38
4.2. Nivel de la investigación	39
4.3. Método	39
4.4. Población y muestra de la investigación	40
4.5. Técnicas para el procesamiento y análisis de los datos	41

4.6. Consideraciones éticas	43
CAPÍTULO V: ANÁLISIS Y RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN	44
5.1. Resultados	44
5.2. Discusión de resultados	65
CONCLUSIONES	69
RECOMENDACIONES	70
REFERENCIAS DE INFORMACIÓN	71
ANEXOS	
Anexo N° 01: Operacionalización de variables	70
Anexo N° 02: Matriz de consistencia	79
Anexo N° 03: Coproparasitológico directo simple	80
Anexo N° 04: Preparación de las diluciones seriadas	82
Anexo N° 05: Técnica de sedimentación simple	83
Anexo N° 06: Técnica de Sheather	84
Anexo N° 07: Ficha de recolección de datos	85
Anexo N° 08: Socitud de permiso	86
GALERÍA DE IMÁGENES	87

### LISTADO DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Contraste de hipótesis para la concentración de <u>Giardia lamblia</u> entre las 3 técnicas de concentración	45
Tabla 2. Contraste de hipótesis para la concentración de <u>Enterobius</u> vermicularis entre las 3 técnicas de concentración	46
Tabla 3. Contraste de hipótesis para la concentración de <u>Ascaris</u> <u>lumbricoides</u> entre las 3 técnicas de concentración	47
Tabla 4. Contraste de hipótesis para la concentración de <u>Strongyloides sp.</u> entre las 3 técnicas de concentración	48
Tabla 5. Contraste de hipótesis para la concentración de <u>Hymenolepis nana.</u> entre las 3 técnicas de concentración	50
Tabla 6. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para <u>Giardia</u> <u>lamblia</u>	51
Tabla 7. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para <u>Enterobius</u> <u>vermicularis</u>	52
Tabla 8. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para <u>Ascaris</u> <u>lumbricoides</u>	53
Tabla 9. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para <u>Strongyloides sp</u> .	54
Tabla 10. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para <u>Hymenolepis nana</u>	55
Tabla 11. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de quistes de <i>Giardia lamblia</i>	56
Tabla 12. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de quistes de <u>Giardia lamblia</u>	57
Tabla 13. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de quistes de <i>Giardia lamblia</i>	57
Tabla 14. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de huevos de <u>Enterobius vermicularis</u>	58
Tabla 15. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de huevos de <i>Enterobius vermicularis</i>	58

Tabla 16. Concordancia entre el Sedimentación simple y Sheather para la concentración de huevos de <i>Enterobius vermicularis</i>	59
Tabla 17. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de huevos de <u>Ascaris</u> <u>lumbricoides</u>	60
Tabla 18. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de huevos de <u>Ascaris lumbricoides</u>	60
Tabla 19. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de huevos de <u>Ascaris lumbricoides</u>	61
Tabla 20. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de larvas de <u>Strongyloides sp</u>	61
Tabla 21. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de larvas de <u>Strongyloides sp</u>	62
Tabla 22. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de larvas de <u>Strongyloides sp</u>	63
Tabla 23. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de huevos de <i>Hymenolepis</i> nana	63
Tabla 24. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de huevos de <u>Hymenolepis nana</u>	64
Tabla 25. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de huevos de <i>Hymenolepis nana</i>	64

## LISTADO DE IMÁGENES

	Pág.
Imagen 1. Materiales utilizados para la preparación del azúcar de Sheather	87
Imagen 2. Preparación de las diluciones seriadas a partir del pool de parásitos	88
Imagen 3. Quiste de <i>Giardia lamblia</i> obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)	89
Imagen 4. Huevo de <u>Enterobius vermicularis</u> obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)	89
Imagen 5. Larva de <u>Strongyloides sp.</u> obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)	90
Imagen 6. Huevo de <u>Ascaris lumbricoides</u> obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)	90
Imagen 7. Huevo de <u>Hymenolepis nana</u> obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)	91

#### LISTADO DE ABREVIATURAS

❖ NaCI: Cloruro de sodio

\* ZnSO4: Sulfato de zinc

\* FEC: Método de concentración formol éter

\* PEEC: Programa de evaluación externa de la calidad

\* INS: Instituto Nacional de Salud

#### INTRODUCCIÓN

Los protozoos y helmintos gastrointestinales se desarrollan en entornos caracterizados por temperaturas cálidas, humedad, saneamiento básico deficiente, agua sucia, viviendas deficientes y hacinamiento poblacional (1).

Los parásitos intestinales de importancia para el hombre son *Enterobius* vermicularis, Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Necator americanus, Ancylostoma duodenale y Strongyloides stercoralis; así como los protozoos Entamoeba histolytica y Giardia duodenalis. Otros protozoos como Cryptosporidium sp. e Isopora sp. se están volviendo importantes por causar diarrea prolongada en pacientes inmunocomprometidos. Se estima que casi 1.000 millones, 500 millones y 900 millones de personas en todo el mundo están infectadas por las principales especies de nemátodos. lumbricoides, T. trichiura y anguilostomas respectivamente. La mayoría de las infecciones son endémicas y están ampliamente distribuidas en comunidades pobres y económicamente desfavorecidas, sobre todo en lugares con climas tropicales y subtropicales. Se sabe que los comportamientos ambientales. socioeconómicos, demográficos У relacionados con la salud influyen en la transmisión y distribución de estas infecciones. La mayoría de las infecciones ocurren en niños y ambos sexos están igualmente afectados (2).

El diagnóstico de la gran mayoría de parasitosis intestinales está supeditado a la evaluación de muestras fecales para identificar al organismo parasitario, situación que presenta sesgo debido a factores inherentes al infectado, como factores que alteren la calidad de la muestra obtenida. Por tales motivos, se han venido empleando los métodos de concentración para examinar las heces, los cuales aumentan la probabilidad de encontrar huevos, quistes y larvas, particularmente en aquellos especímenes donde están presentes en número insuficiente para ser vistos por microscopía directa (3). "Los métodos de concentración se han empleado en laboratorios clínicos desde 1948 cuando Ritchie (4) demostró su eficacia" (citado por Manser, 2016). "El método fue mejorado por Ridley y Hawgood en 1956 (5)

y simplificado por Ridley y Allen en 1970 (6) utilizando formol al 10% en agua como fijador, éter como disolvente para extraer grasa y escombros, seguido de filtración a través de un tamiz con un tamaño de poro de 425 micrómetros y centrifugación a 3000 rpm durante 1 minuto para dejar los huevos, quistes y larvas en el sedimento en la parte inferior del tubo de centrifugación" (citado por Manser, 2016). Sin embargo, los métodos de concentración por sedimentación presentan limitaciones en cuanto a la calidad del producto obtenido donde aparentemente se encuentran las estructuras parasitarias, sumado a los problemas por exposición ocupacional que generan compuestos químicos como el formol y éter. Po otra parte, los métodos de flotación han tenido bastante aceptación en los laboratorios, sobre todo el método de Faust el cual emplea sulfato de zinc, aunque con limitaciones para su uso debido a la disponibilidad limitada en los mercados nacionales. Un método más económico, de disponibilidad ilimitada y que no genera problemas a la salud de los operarios es el propuesto por Sheather a través de una solución de sucrosa con una densidad de 1.20 el cual permite crear gradientes para la separación de estructuras parasitarias.

En tal sentido, la presente tesis de investigación, evaluó la capacidad para concentrar parásitos intestinales a través de la técnica de Sheather y comparó sus resultados frente a un método de sedimentación.

# CAPITULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1. Descripción de la realidad problemática

Los parásitos intestinales se consideran uno de los principales problemas de salud pública en todo el mundo, especialmente en los países tropicales y subtropicales. Se calcula que unos 3.500 millones de personas están afectadas y que 450 millones están enfermos debido a estas infecciones (es decir, unos 3.000 millones son portadores asintomáticos) y anualmente, unas 200.000 muertes se deben a infecciones parasitarias intestinales (7).Varias técnicas de concentración se utilizan rutinariamente en laboratorios clínicos de diagnóstico para aumentar la posibilidad de recuperación para las etapas de diagnóstico de parásitos intestinales en muestras de heces. La técnica de sedimentación de Ritchie es una de las técnicas de concentración más utilizadas en los laboratorios de parasitología, utilizando solución salina formol al 10% y éter dietílico (compuesto carcinogénico (8) y altamente corrosivo e irritante (9), respectivamente). Todas las etapas de diagnóstico que son aplicables con la técnica de Ritchie se concentrarán en la parte inferior del tubo. El remanente de algunos tipos de alimentos consumidos podría precipitar dando como resultado un aumento de la cantidad de sedimento, lo que dificulta el examen microscópico. Por lo tanto, los problemas derivados del uso de la técnica de sedimentación de Ritchie es la gran cantidad de interferentes (detritus fecales productos de la dieta de la persona), y el hecho de utilizar compuestos nocivos para la salud de los analistas, y crear problemas de desabastecimiento en el laboratorio debido a que utiliza insumos fiscalizados por la División de Operaciones Especiales Antidrogas de la Policía Nacional del Perú, situación que complica su adquisición de forma regular.

#### 1.2. Formulación de problema de investigación

#### 1.2.1. Problema principal

¿Existirán diferencias significativas entre los resultados obtenidos por un método de sedimentación en comparación con el método de flotación en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?

#### 1.2.2. Problemas secundarios

- ¿El método de Sheather permitirá obtener una mayor concentración de parásitos intestinales que el método por sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?
- ¿Existirá diferencias significativas entre los resultados obtenidos de la aplicación del método de Sheather, sedimentación simple y coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?
- ¿Cuál será el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?

¿Cuál será el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el examen coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?

#### 1.3. Objetivo de la investigación

#### 1.3.1. Objetivo general

 Comparar los resultados obtenidos por un método de sedimentación en comparación con el método de flotación en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

#### 1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar si el método de Sheather permite obtener una mayor concentración de parásitos intestinales que el método por sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad
- Comparar los resultados obtenidos de la aplicación del método de Sheather, sedimentación simple y coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad
- Determinar el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad
- Determinar el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el examen Coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

#### 1.4. Justificación e importancia de la investigación

Resulta importante contar con una adecuada técnica de concentración de parásitos intestinales a partir de un modelo que evidencie su eficacia en comparación a métodos tradicionales de concentración, los cuales condicionan el uso de productos tóxicos y nocivos para la salud de los trabajadores, así como limitan su implementación debido a que los insumos son fiscalizados. Por ende, la técnica de flotación de Sheather es ideal para obtener productos limpios y libre de contaminantes que pueda interferir con el proceso de lectura, revisión y reconocimiento microscópico de estructuras parasitarias, además de proveer una técnica utilizando insumos de fácil acceso en el mercado, y a bajo costo en comparación a las diferentes técnicas descritas en la bibliografía. Y, por último, la técnica de Sheather ofrece una sensibilidad superior al resto de técnicas en relación a su capacidad para concentrar ooquistes de organismos apicomplexos tales como cryptosporidium parvum, cicloscpora cayetanensis e isospora belli, parásitos oportunistas que tienden a causar cuadros diarreicos intensos en personas inmuno comprometidas.

# CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la investigación

Alves et al (Brasil, 2015) evaluaron la exactitud de las técnicas parasitológicas de Willis, Hoffman-Pons-Janer o Lutz (HPLJ), Sheather y Faust en muestras fecales de gatos callejeros capturados por el Centro de Control de Zoonosis en Goiânia, Goiás, Brasil. Estas cuatro técnicas se aplicaron por separado para analizar 154 muestras fecales y se analizó su exactitud basándose en una evaluación de su sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, y el índice Kappa, resultando en la selección de la técnica de Willis como patrón oro nominal. De las 154 muestras, 115 (74,68%) dieron positivo para los parásitos intestinales. El análisis de la frecuencia de positividad indicó que la técnica HPLJ detectó 86,1% de las muestras positivas y fue la más cercana al patrón oro. El análisis de la exactitud de las técnicas se evaluó utilizando los parásitos más prevalentes. La técnica de Sheather mostró la mayor precisión en la detección de Ancylostomatidae, mientras que las técnicas de Sheather y HPLJ mostraron precisiones similares en la detección de Cystoisospora spp. Cuando se compara con el patrón oro. Por último, la técnica de Faust mostró la mayor precisión en la detección de Toxoplasma gondii en comparación con el patrón oro. Este estudio subraya la importancia de combinar técnicas parasitológicas en el diagnóstico de parásitos intestinales en gatos (10).

Terashima et al (Lima, 2009) midieron la eficacia diagnóstica de la técnica de sedimentación espontánea en tubo descrita por Tello (TSET), en comparación con el examen directo y otras técnicas de concentración, cuando se usa para determinar la prevalencia de enteroparasitosis en trabajos de campo y laboratorio en zonas rurales de la sierra y selvas peruanas. Realizaron un estudio prospectivo (2000 - 2004) donde se incluyeron 1 802 muestras de heces de diversas zonas del Perú: Iquitos (N=74), Puno (N=399), Junín (N=1241), Lima (N=88). Los resultados mostraron que la TSET presentó mayor sensibilidad para la detección de helmintos y protozoarios en comparación con las otras técnicas convencionales empleadas simultáneamente (P<0.000). Aunque no se debe prescindir de otras técnicas coprológicas, como Baermann para diagnóstico de Strongyloides stercoralis y la Técnica de Sedimentación Rápida de Lumbreras (TSR) para Fasciola hepatica, la TSET contribuye a un diagnóstico eficaz y oportuno de las enteroparasitosis. Se concluye que debido a su bajo costo, fácil ejecución y adaptabilidad en la realización, tanto en el trabajo dentro de laboratorios como en los trabajos de campo, se constituye en un hecho de necesidad urgente su implementación en los laboratorios de áreas rurales, así como la capacitación del personal de salud encargado del diagnóstico, como un primer paso en la lucha contra la parasitosis intestinal en el Perú (11).

Jara et al (Trujillo, 2007) realizaron un estudio comparativo para evaluar la concordancia de la técnica de Willis respecto de la de Sheather en la detección de protozoarios y helmintos intestinales en 98 muestras fecales correspondientes a igual número de niños aguarunas de la zona de Mesones Muro (Bagua, Amazonas, Perú). Se detectaron cinco especies de protozoarios intestinales y cinco de helmintos, de las cuales *Blastocystis hominis* (91.8%) fue la más frecuentemente hallada

entre las primeras y *A. lumbricoides* (71.4%) entre las segundas, por ambas técnicas. Se encontró una elevada sensibilidad de la técnica de Willis respecto de la de Sheather para la investigación de quistes de *B. hominis* (97.8%) y de huevos de *A. lumbricoides* (91.4%), así como un elevado valor predictivo positivo para estos organismos y para quistes de *Giardia lamblia* (93.8, 88.9 y 100.0) y un elevado índice de concordancia para *Entamoeba coli* (kappa= 0.63) y para *A. lumbricoides* (kappa= 0.64). En conclusión: es posible la utilización de la técnica de Willis para la detección de quistes de *B. hominis* y de *E. coli*, así como de huevos de *A. lumbricoides* con la misma eficacia que la técnica de Sheather. 12).

Cöplü et al (Turquía, 2007) investigaron siete métodos concentración en 134 muestras fecales en cuanto a su conformidad de los resultados de la prueba, dificultades en la realización de la prueba o interpretación, el tiempo requerido y el costo. Los métodos comparados fueron métodos de flotación utilizando ZnSO4, ZnSO4 modificado, NaCl saturado y métodos de flotación de azúcar de Sheather y sedimentación de Ritchie utilizando formol-éter, Telemann modificado y sedimentación simple. El análisis estadístico se realizó con pruebas kappa y McNemar. El procedimiento de los métodos fue más problemático cuando se realizaron técnicas de sedimentación, la interpretación fue fácil para huevos de helmintos, pero difícil para quistes de protozoos con todos los métodos, el tiempo requerido varió entre 7-50 minutos y ninguno de ellos era caro. Cada laboratorio puede hacer sus propias elecciones dependiendo de sus condiciones, pero de acuerdo con los resultados de este estudio, es evidente que las técnicas de sedimentación simple junto con el método de flotación de ZnSO4 modificado aumentarían el éxito del laboratorio en el diagnóstico (13).

Christie et al (Sudáfrica, 2011) determinaron qué técnica de examen fecal, incluyendo una nueva técnica de flotación centrífuga modificada, era más sensible al diagnóstico de espirocercosis. Diez exámenes

coproscópicos se realizaron en heces recogidas de 33 perros confirmados endoscópicamente tener espirocercosis. Las pruebas incluyeron un examen fecal directo. una prueba sedimentación/flotación fecal, cuatro deposiciones fecales directas y cuatro flotaciones fecales centrífugas modificadas. Estas últimas 2 pruebas de flotación utilizaron 4 diferentes soluciones de flotación fecal: NaNO3 (d: 1.22), MgSO4 (d: 1.29), ZnSO4 (d:1.30) y azúcar (d: 1.27). La sensibilidad de las pruebas osciló entre el 42% y el 67%, con la solución de NaNO3 mostrando la mayor sensibilidad tanto en las flotaciones centrífugas como en las modificadas. El método centrífugo NaNO3 modificado se ubicó en el primer lugar con el conteo de huevos más alto (45,24 +/- 83), y fue superior (es decir, mayor número de huevos) y significativamente diferente (p<0,05) comparado con los métodos de flotación de azúcar saturada, ZnSO4 y MgSO4. El método de flotación de NaNO3 de rutina también fue superior y significativamente diferente (p<0.05) en comparación con los métodos de flotación de ZnSO4 y MgSO4 de rutina. 15% (n=5) de los perros tenían nódulos esofágicos neoplásicos y otro 18% (n=6) tenían nódulos neoplásicos y no neoplásicos. Los huevos de S. lupi se demostraron en el 40% de los perros con nódulos neoplásicos solamente y en el 72,9% de los perros con nódulos no neoplásicos. El número medio de huevos en el grupo no neoplásico (61) fue estadísticamente mayor (p=0,02) que el del grupo neoplásico (1). Los resultados muestran que el examen fecal utilizando una solución de NaNO3 es el más sensible en el diagnóstico de espirocercosis. El método fecal de flotación centrífuga modificado que utiliza esta solución tiene el recuento de huevos más alto. El estudio también encontró que los perros con nódulos neoplásicos arrojaron significativamente menos huevos que los perros con nódulos no neoplásicos (14).

Bora et al (India, 2016) estudiaron la prevalencia de infestaciones parasitarias intestinales entre pacientes inmunosuprimidos y determinaron la asociación de parásito intestinal y presentación clínica

entre estos pacientes. Incluyeron en el estudio 149 pacientes inmunosuprimidos. La prevalencia de infecciones parasitarias intestinales fue diagnosticada mediante examen microscópico de muestras de heces. La tinción fueron la de Kinyoun. También se examinaron muestras de heces después de usar las técnicas de flotación de azúcar de Sheather y de concentración de formol-éter. De los 149 pacientes incluidos en el estudio, la infestación parasitaria estuvo presente en el 53.02%. La mayor prevalencia de infestación parasitaria se encontró en pacientes con cáncer 80% (12 de 15). En total, 106 (71,1%) pacientes mostraron síntomas gastrointestinales, de los cuales 63 (59,4%) fueron positivos para parásitos intestinales. El parásito más frecuente fue Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar. Se encontró que la prevalencia de parásitos con el método de rutina era del 37% y con el método de flotación de la sacarosa de Sheather y de sedimentación formal-éter fue de 43% y 52,3%, respectivamente (15).

#### 2.2. Bases teóricas

#### 2.2.1. Epidemiología de las parasitosis intestinales

Los parásitos que se encuentran en el tracto gastrointestinal humano pueden clasificarse en gran medida en dos grupos: protozoos y helmintos. Los helmintos transmitidos por el suelo (Ascaris lumbricoides, anquilostoma y Trichuris trichiura) son los más frecuentes, infectando aproximadamente un sexto de la población mundial. Las tasas de infección son más altas en los niños que viven en el África subsahariana, seguidos por Asia y luego por América Latina y el Caribe. El impulso actual hacia la liberación global de fármacos para su control está en un nivel histórico alto a través de los esfuerzos de numerosas iniciativas que actúan cada vez más en coordinación con los donantes, los gobiernos y las comunidades locales. Juntos, han entregado enormes cantidades de medicamentos, especialmente antihelmínticos a los niños a través de la administración nacional de medicamentos a nivel nacional o bianual en gran parte coordinada a través de las escuelas. Sin embargo, una población

infantil mucho más grande y en rápido crecimiento en estas regiones sigue sin ser tratada y sufre de más de un parásito. La administración masiva de fármacos tiene un profundo potencial de control, pero no está exenta de desafíos y preocupaciones considerables. Una barrera principal es la financiación. La estimulación de un gasoducto de investigación y desarrollo, el apoyo a los ensayos clínicos necesarios para refinar el tratamiento, además de la adquisición y el despliegue de fármacos (y el mantenimiento de estas cadenas de suministro) requiere una financiación sustancial y recursos que no existen actualmente. Las opciones limitadas para la quimioterapia plantean preocupaciones sobre la resistencia a los medicamentos que se desarrolla a través del uso excesivo, sin embargo, farmacoepidemiología satisfactoria y el monitoreo de la resistencia a los medicamentos requieren infraestructuras sanitarias desarrolladas que las generalmente disponibles. Además. la farmacopea limitada no incluye ninguna opción efectiva de segunda línea si surge resistencia, y la tubería de investigación y desarrollo está severamente deprimida. Aquí, discutimos los principales protozoos gastrointestinales y helmintos revisando su impacto en la salud infantil, cambiando la epidemiología y cómo esto se relaciona con su control (16).

Los protozoarios y helmintos gastrointestinales (GI) florean en entornos caracterizados por temperaturas cálidas, humedad, saneamiento deficiente, agua sucia y viviendas deficientes y llenas de gente. Las tasas de infección son más altas en los niños que viven en el África subsahariana (SSA), seguido por Asia y luego América Latina y el Caribe (ALC) (17, 18). En SSA, se estima que aproximadamente una cuarta parte de la población total está infectada con uno o más helmintos, típicamente los nematodos, que son los más frecuentes de todos los parásitos GI (17, 18). Las estimaciones de 2006 proponen que, de los 181 millones de niños en edad escolar que viven en África subsahariana, casi la mitad (89 millones) fueron afectados por uno o más de estos parásitos (18, 19). Mientras que las poblaciones enteras

estarán geográficamente en riesgo, se observa que los niños cargan de forma desproporcionada la mayor carga de infección (18, 20-22). Esta desproporción tiene bases conductuales. biológicas ambientales. Los niños tienden a ser más activos en el ambiente infectado y rara vez emplean buenos comportamientos sanitarios. Con frecuencia, estos portadores potenciales se aglomeran durante largos períodos de tiempo (por ejemplo, escuelas, orfanatos o barrios bajos), aumentando la probabilidad de transmisión o contaminación ambiental con el parásito. Además, los helmintos son "inmunoreguladores magistrales" (23), capaces de provocar una respuesta Th1/Th2 compleja y mixta que ambos protegen y subvierten una respuesta inmune del huésped humano durante meses o incluso años.

Los parásitos GI son enfermedades infecciosas de la pobreza. Por lo tanto, mientras que todavía se encuentran en América del Norte y Europa, su prevalencia es más alta en las zonas de pobreza intensa en los países de ingresos bajos y medios en las regiones tropicales y subtropicales de la SSA, Asia y LAC (18, 19, 24-28). En general, y en comparación con los gusanos de nematodos. los datos epidemiológicos de los protozoos, cestodes y trematodos GI (excluyendo la esquistosomiasis) son limitados, ninguno de los cuales ha sido estudiado sistemáticamente o incluido en ninguno de los estudios de la Carga Global de Enfermedad (29, 30). Las cifras exactas de la prevalencia de estas infecciones son casi imposibles de obtener, ya pesar de su relativa baja frecuencia en comparación con los nematodos, que pueden causar una morbilidad significativa y la mortalidad en un gran número de individuos (31).

Parece haber un cambio en la epidemiología de algunos de estos parásitos relacionados con el crecimiento de la población y las condiciones de vida atestada en los entornos urbanos y barrios marginales (32-34). Este cambio requiere mayor comprensión para permitir que los esfuerzos de control para avanzar en los entornos urbanos (18). Muchas enfermedades, especialmente helmintos, han

ocurrido históricamente principalmente en poblaciones rurales. Sin embargo, en varios países de bajos y medianos ingresos (35-38), la migración urbana ha llevado a la creación de asentamientos de asentamientos urbanos con altos índices de poliparasitismo con protozoos y helmintos. Los estudios sobre la ecología urbana ponen de relieve los factores de riesgo generales del poliparasitismo en estos contextos (39, 40). Estas incluyen casas sin pisos cementados, falta de educación de salud e higiene (por ejemplo, uso de jabón), falta de agua corriente limpia, letrinas mal mantenidas y niños caminando descalzos. Si bien la urbanización puede promover el acceso a los servicios de salud y las obras públicas, el hacinamiento y el saneamiento deficiente conducirán a tasas de infección más elevadas a través de una mayor proximidad de las poblaciones infectadas a las más vulnerables. Algunos parásitos de transmisión se desarrollan en estas condiciones urbanas, especialmente los protozoos (Giardia y Cryptosporidia) y helmintos como A. lumbricoides y T. trichiura (18), mientras que otros como los anquilostomas se verán menos afectados.

#### 2.2.2. Diagnóstico de las parasitosis intestinales

A pesar de los recientes avances en la tecnología de diagnóstico, el examen microscópico de las muestras de heces sigue siendo central para el diagnóstico de la mayoría de los protozoos intestinales patógenos. Sin embargo, la microscopía requiere mano de obra intensiva y requiere de un tecnólogo experto. Se han desarrollado nuevos métodos diagnósticos altamente sensibles para protozoarios endémicos de los países desarrollados, entre ellos Giardia lamblia (G. intestinalis / G. duodenalis) y Cryptosporidium spp., Utilizando tecnologías que, si se expandieran, podrían complementar o incluso sustituir los enfoques microscópicos. Hasta la fecha, el alcance de estas nuevas tecnologías es limitado y puede no incluir protozoos comunes tales como Dientamoeba fragilis, Entamoeba histolytica, o Cyclospora cayetanensis. Es importante la descripción con enfoques canónicos para la detección de protozoos intestinales patógenos, a la vez que destaca desarrollos recientes y herramientas aprobadas por la FDA para el diagnóstico clínico de protozoos intestinales comunes (41).

Las infecciones por protozoarios contribuyen significativamente a la carga de enfermedades gastrointestinales en todo el mundo. Si bien la prevalencia de estas infecciones es baja en países desarrollados, es importante subrayar la carga continua de enfermedades que estos organismos ocasionan. Giardia, Cryptosporidium spp., Dientamoeba fragilis, Entamoeba spp. (Incluyendo especies no patógenas), Blastocystis spp., y Cyclospora cayetanensis son los protozoos patógenos más comunes reportados en ambientes desarrollados (42). Sin embargo, la determinación exacta de la incidencia de estas infecciones se ve obstaculizada por las pruebas poco frecuentes de las heces para protozoos cuando los pacientes presentan gastroenteritis (42), por el orden inapropiado de los médicos (42-44) y por la falta de técnicas sensibles por Para identificar protozoos patógenos en muestras de heces. En ese sentido, es importante que los laboratorios cuenten con técnicas validadas según la prevalencia de parasitosis intestinales que halla en su región bajo un contexto epidemiológico determinado.

#### 2.2.3. Métodos de concentración para parásitos intestinales

El objetivo principal del uso de un método de concentración de parásitos intestinales es la de maximizar el rendimiento del diagnóstico de laboratorio de infecciones parasitarias en el paso fisiológico y/o recogida de especímenes para aquellos parásitos que producen enfermedad patológica en el tracto gastrointestinal e hígado. Las ventajas y desventajas de los muchos métodos disponibles para el médico y el laboratorio en el examen de estos especímenes se presentan en un modo de flujo de trabajo. Es importante considerar la relativa controversia de la práctica actual y tradicional sobre el uso injustificado de muchas muestras y las razones limitadas de su rechazo a un examen e interpretación (45).

La fijación directa en húmedo, la concentración de éter de formol (FEC) y las técnicas de Kato Katz se han utilizado como medio de diagnóstico durante varios años (46). A pesar de ello, se ha evaluado recientemente el rendimiento de los inmunoensayos tales como el ensayo de hemaglutinación indirecta, el ensayo de inmunoabsorción enzimática y el inmunoensayo de colorante de tiras reactivas. Como resultado, los inmunoensayos tienen alta sensibilidad (> 90%) y facilidad de uso en comparación con los métodos coprológicos, pero cuestiones de especificidad y la incapacidad de los métodos de detección de anticuerpos para distinguir entre infecciones actuales y pasadas siguen siendo motivo de preocupación (47, 48).

Aunque otros métodos diagnósticos como Kato-Katz y FEC técnicas están disponibles, directo mojado montaje se utiliza comúnmente como un método de diagnóstico para el diagnóstico tanto de infecciones por protozoos y helmintos en general en África (49, 50). Sin embargo, la baja sensibilidad de la técnica de montaje directo en húmedo se ha informado por la baja intensidad en infección activa (51).

La sensibilidad de la FEC fue superior a la del método de Kato-Katz para el diagnóstico de helmintos transmitidos por el suelo y las especies Taenia excepto *Schistosoma mansoni* (52). La eficiencia de recuperación de la FEC para helmintos huevos, protozoos y quistes es superior a la baciloscopia directa (53, 54). El Kato Katz prueba también tiene una sensibilidad superior a la directa húmeda montar examen de heces microscópicas (55). Esto demuestra que el uso de soporte húmedo directo como una prueba de confirmación aumentará significativamente con el diagnóstico de resultados de pruebas falsas negativas.

El diagnóstico fiable de las infecciones parasitarias intestinales requiere un método más rápido, fácil y sensible. El método de montaje en húmedo ha sido elegido como un diagnóstico de rutina porque es fácil de realizar, tiene bajo costo y ahorro de tiempo en comparación

con otras dos técnicas. La tasa de detección de parásitos en un único examen de heces utilizando el método de montaje húmedo es muy limitado debido a la escasa sensibilidad (53).

Como resultado, la probabilidad de resultados falsos negativos será alta. En consecuencia, el bajo diagnóstico de parasitosis intestinal entre los pacientes resulta en un sesgo para los médicos. Es importante evaluar el rendimiento del método de montaje en mojado con respecto a los métodos más sensibles (Kato Katz y FEC), para abordar los retos de diagnóstico en el área. Además, la información disponible con respecto a Kato Katz y FEC en el área de estudio es limitada.

Para delimitar las técnicas de concentración de parásitos a las variables de estudio, se presenta a continuación la relación de métodos que son clasificadas como métodos de sedimentación y flotación, siendo las siguientes:

#### Métodos de concentración por sedimentación (63)

Técnica de la sedimentación espontánea en tubo TSET (técnica de concentración por sedimentación, sin centrifugación)

Se basa en la gravidez que presentan todas las formas parasitarias para sedimentar espontáneamente en un medio menos denso y adecuado como la solución fisiológica. En este método es posible la detección de quistes, ooquistes, trofozoítos de protozoarios, huevos y larvas de helmintos.

Método de sedimentación rápida (MSR) (concentración por sedimentación)

Se basa en la gravidez de los huevos que, por su tamaño y peso, sedimentan rápidamente cuando se suspenden en agua

Técnica de Faust: Método de sedimentación y flotación por centrifugación con sulfato de zinc al 33% y densidad 1180.

Se basa en que los quistes y/o huevos de los parásitos flotan en la superficie por ser de menor densidad que el sulfato de zinc al 33,3%, cuya densidad es 1180. Es útil para la búsqueda de quistes y/o huevos de parásitos y, excepcionalmente, se observan larvas. Se recomienda controlar la densidad del sulfato de zinc y usar agua filtrada para el lavado previo de la muestra

#### Métodos de concentración por flotación (63)

Sheather Sugar: método de concentración por flotación con centrifugación en una solución de azúcar

Se basa en la flotación de quistes, ooquistes y huevos de parásitos en una solución de azúcar que posee mayor densidad que ellos. Esta técnica es útil para la concentración de quistes y ooquistes de protozoos y huevos de helmintos y se usa como método preferencial en el diagnóstico de los coccidios: *Cryptosporidium, Cyclospora, Isospora,* etc

Método de Parodi Alcaraz (métodos de concentración por flotación sin centrifugación, en solución sobresaturada de azúcar)

Se basa en la propiedad que tienen los quistes y/o huevos de flotar en la superficie de una solución saturada de azúcar, debido a su menor densidad. El método es útil para la detección de quistes de protozoarios y huevos de helmintos.

Método de Ritchie o de sedimentación por centrifugación y flotación (mixto, con fijador)

Se basa en la concentración de los quistes y huevos por sedimentación mediante la centrifugación, con la ayuda de formol y éter para separar y visualizar los elementos parasitarios

Método de Baermann (método de concentración por migración)

Se basa en los tropismos positivos: geotropismo, termotropismo e hidrotropismo de los trofozoítos de protozoos y larvas de helmintos. Es

útil principalmente para Balantidium coli y larvas de Strongyloides stercoralis.

Método cualitativo: técnica de Kato o método de concentración por tamizado

Método que consiste en la diafanización o aclaración de las heces con el uso de glicerina, que permite preparar una capa transparente y observar las formas parasitarias.

Método cuantitativo de Kato – Katz (análisis cuantitativo = hgh)

Se basa en la técnica de Kato Katz que permite cuantificar la presencia de huevos de helmintos. Se expresa en número de huevos por gramo de heces.

#### 2.3. Bases legales

NTP-ISO 15189:2004. Esta norma fue aprobada con Resolución Nº 0071-2004/CTR-INDECOPI y especifica los requisitos relativos a la calidad y la competencia de los laboratorios clínicos y además para uso de los laboratorios clínicos en el desarrollo de sus sistemas de gestión de la calidad y la evaluación de sus propias competencias, y para uso por los organismos de acreditación en la confirmación o reconocimiento de la competencia de los laboratorios clínicos (56).

BPL. Es un conjunto de reglas, de procedimientos operacionales y prácticas establecidas y promulgadas por determinados organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS) Organization for Economic Cooperation and Development (OCDE), o la Food and Drug Administration (FDA), etc.), que se consideran de obligado cumplimiento para asegurar la calidad e integridad de los datos producidos en determinados tipos de investigaciones o estudio (57)

Ley N° 26842, Ley General de Salud. Norma sobre el cual se rige todo el sistema nacional de salud en Perú. Es de aplicación y alcance para instituciones estatales y privadas (58).

NTS Nº 0021- MINSA/DGSP V.01. Este documento busca contribuir a la mejora de la organización de los servicios de salud estableciendo claramente las categorías de establecimientos necesarios para cada nivel de atención. Esta norma técnica se aprobó con Resolución Ministerial Nº 769-2004/MINSA, Norma Técnica de Categorías de Establecimientos del Sector Salud (59)

Resolución Ministerial Nº 588–2005/MINSA, Listado de Equipos Biomédicos Básicos para establecimientos de Salud. Esta norma enlista los equipos de equipos biomédicos básicos que deben ser utilizados en los establecimientos del primer, segundo y tercer nivel de atención (60).

NTS Nº 050–MINSA/DGSP-V02. Norma Técnica de Salud para la Acreditación de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo. Esta norma fue aprobada con Nº 777-2007/MINSA y busca contribuir a garantizar a los usuarios y al sistema de salud que los establecimientos de salud o servicios médicos de apoyo, según su nivel de complejidad, cuenten con capacidades para brindar prestaciones de calidad sobre la base del cumplimiento de estándares nacionales previamente definidos (61).

NTS N° 072-MINSA/DGSP-V.01. Norma que busca establecer los criterios para la organización y el funcionamiento de la UPS de Patología Clínica, que permita una adecuada gestión en la misma. También permite (i) regular las condiciones de infraestructura, equipamiento y recursos humanos para brindar el servicio de Patología Clínica, (ii) establecer los criterios referidos a gestión, organización y prestación de servicios de la UPS de Patología Clínica con énfasis en la calidad, seguridad y oportunidad y (iii) asegurar el flujo adecuado de los recursos destinados a la atención de los pacientes en la UPS de Patología Clínica, así como promover el uso racional de los mismos (62).

Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de parásitos intestinales del hombre. Es un documento técnico distribuido por el Instituto Nacional de Salud a través del Centro Nacional de Salud Pública en el cual se describen procedimientos técnicos normalizados para su ejecución dentro de los laboratorios de parasitología (63).

# 2.4. Definición de términos básicos (según MeSH PubMed y DeSC Bireme)

- BPL. Siglas en castellano que indican Buenas Prácticas de Laboratorio y es un conjunto de directrices que deben cumplirse en cada actividad desarrollada dentro del laboratorio clínico, incluido los laboratorios de parasitología.
- Examen coproparasitológico. Es una prueba de laboratorio que consiste en la revisión microscópica de las muestras fecales de un posible afectado por un parasito intestinal, y cuyo objetivo de la prueba es evidenciar alguna estructura parasitaria que indique infección.
- ISO. Siglas que proviene de los términos en inglés "International Organization for Standardization", institución dedicada a la creación de estándares internacionales compuestos por diversas organizaciones nacionales de estandarización.
- Parásito intestinal. Es un organismo uni o pluricelular que vive a expensas del ser humano y que tiene por hábitat para ejercer su acción, cualquier tramo que constituya el aparato digestivo, en particular los intestinos.
- Método de concentración. Es un procedimiento que se realiza sobre las muestras fecales para incrementar la probabilidad de encontrar estructuras parasitarias y diagnosticar confirmatoriamente una parasitosis intestinal.

- Microscopía. Es el conjunto de técnicas y métodos destinados a hacer visible los objetos de estudio que por su pequeñez están fuera del rango de resolución del ojo normal
- Variabilidad. Es una cualidad que permite valorar el grado de tendencia de un conjunto de variables.

## CAPITULO III HIPÓTESIS Y VARIABLES

#### 3.1. Hipótesis general

 Existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos por el método de Sheather en comparación con el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

#### 3.2. Hipótesis específicas

- El método de Sheather permite obtener una mayor concentración de parásitos intestinales que el método por sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad
- Existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos de la aplicación del método de Sheather, sedimentación simple y Coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad
- Existe un nivel de concordancia baja entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el método de sedimentación simple en muestras

fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

 Existe un nivel de concordancia baja entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el examen Coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad (PEEC).

# 3.3. Variables (ver anexo 01 para operacionalización)

- Muestra fecal empleada para el PEEC
- Concentración por sedimentación simple
- Concentración por el método de flotación de Sheather

# CAPITULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

# 4.1. Tipo y diseño de la investigación

# 4.1.1. Tipo de investigación

- Según la manipulación de la variable

Estudio descriptivo: Implica que no hubo manipulación de la variable independiente. Se diseñó un estudio donde se realizó comparaciones entre los resultados obtenidos de 3 métodos para el estudio de enteroparásitos, usando diferentes diluciones preparadas a partir de un concentrado de enteroparásitos (material de referencia para evaluación de la calidad externa).

# Según la fuente de toma de datos

Prospectivo: La fuente de recolección de datos se realizó durante el mes de marzo del año 2017. Esto implicó la obtención del concentrado de enteroparásitos, así como sus diluciones, para su análisis respectivo mediante la aplicación de dos métodos de concentración de parásitos intestinales, con generación de resultados de forma progresiva sin la necesidad de recolectar datos históricos.

# Según el número de mediciones

Transversal: Las variables se midieron en una sola ocasión, aun cuando hubo una lectura preliminar a través del Coproparasitológico simple, se realizaron lecturas de cada dilución realizada sobre el pool de parásitos intestinales, y aplicado dos métodos de concentración.

# Según el número de variables a analizar

Analítico: Debido a que las variables fueron sometidas a un análisis univariado (para definir su distribución de resultados mediante el análisis de frecuencias absolutas) y bivariado (mediante el empleo de tablas de doble entrada para el cálculo y contraste de hipótesis) en laboratorio Inmulab del Distrito de Ica, durante el mes de marzo del año 2017.

## 4.1.2. Diseño:

Corresponde a un diseño descriptivo de tipo comparativo que busca estimar diferencias significativas entre los resultados obtenidos (comparación entre proporciones) por dos técnicas de concentración parasitológica.

# 4.2. Nivel de Investigación

Nivel relacional: Considerando que se realizó el contraste de hipótesis mediante el empleo de estadística inferencial en un modelo bivariado, para evaluar asociaciones significativas.

## 4.3. Método

Se utilizó un método comparativo basado en resultados de un material de referencia fecal obtenidas por un diseño muestral. Por lo tanto, se aplicará un modelo de estudio inductivo-deductivo para poder establecer inferencias sobre la población de estudio.

# 4.4. Población y muestra de la investigación

#### 4.4.1. Población

Estuvo constituido por un pool de muestras fecales que han sido elaboradas por el laboratorio de enteroparásitos del Centro Nacional de Salud Pública del Instituto Nacional de Salud para la evaluación de la red de laboratorios a nivel nacional como parte del programa de evaluación externa de la calidad.

## Criterio de Inclusión:

 Pool de muestras con parásitos intestinales provistos por el instituto nacional de salud y que cuenten con su identificación respectiva.

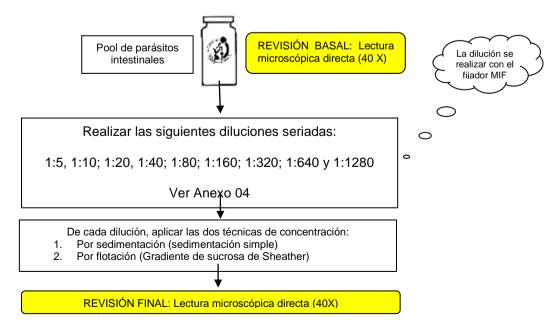
## Criterio de Exclusión:

 Material que no sea manipulado según las recomendaciones de la guía de control de calidad del diagnóstico de parasitosis intestinales (65).

## 4.4.2. Técnica de muestreo

Determinación del tamaño de la muestra

Puesto que se trabajó con un material que tiene una variedad de parásitos intestinales, se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Sin embargo, a continuación, se detalla el protocolo de trabajo para que se ejecutó en el proyecto de tesis:



# 4.5. Técnicas para el procesamiento y análisis de los datos

#### 4.5.1. Técnicas

Observación: Es un proceso intelectual que requiere un acto de atención, es decir una concentración selectiva de la actividad mental, sobre todo al momento de realizar el reconocimiento de los enteroparásitos por revisión microscópica.

## 4.5.2. Instrumentos

Coproparasitológico directo simple: Es el método más empleado para el diagnóstico parasitológico, y además permitió seleccionar que muestras son positivas y negativas para posteriormente aplicar las otras dos técnicas de concentración: sedimentación simple y Sheather. El procesamiento se realizó según las instrucciones establecidas en la guía de control de calidad del diagnóstico de parasitosis intestinales. Ver Anexo 03

Sedimentación simple: Es un método de concentración de enteroparásitos que se comparó con los resultados obtenidos en la técnica de Sheather. El procesamiento se realizó según las instrucciones establecidas en el manual de procedimientos para el diagnóstico de parásitos intestinales del Instituto Nacional de Salud. Ver Anexo 05

Técnica de Sheather: Se basa en la flotación de quistes, ooquistes y huevos de parásitos en una solución de azúcar que posee mayor densidad que ellos. Esta técnica es útil para la concentración de quistes y ooquistes de protozoos y huevos de helmintos y se usa como método preferencial en el diagnóstico de los coccidios: *Cryptosporidium, Cyclospora, Isospora*, etc. Ver Anexo 06

# 4.5.3. Procedimientos para la recolección de los datos

Las técnicas para el procesamiento de datos comprendieron las siguientes etapas:

#### Obtención de datos

Los datos fueron obtenidos de la aplicación de los instrumentos (técnicas de concentración de parásitos intestinales y microscopia de luz visible) para ser registrados en un formulario de trabajo. Cada muestra diluida fue identificada mediante la asignación de un código de trabajo alfa numérico.

# Clasificación de datos

En esta etapa dio inicio al procesamiento de los datos con el propósito de crear la base de datos en un paquete estadístico a fin de facilitar su análisis, el procedimiento tuvo carácter exhaustivo y excluyente para discriminar datos incongruentes e incompletos. Los resultados preliminares fueron clasificados como positivos o negativos en función al examen coproparasitológico directo simple.

## Codificación

Se procedió a asignar valores numéricos a las categorías que se pueden tener, para poder otorgar un puntaje a cada variable y facilitar la descripción correspondiente. Esta codificación estuvo incluida en la ficha de recolección de datos, así como en la base de datos del paquete estadístico.

## Tabulación de datos

La información fue ingresada en el paquete estadístico STATA versión 14, en columna las variables y en filas los casos con el propósito de consolidar y totalizar en cifras a los resultados obtenidos, y generar información a través de los valores representativos y de estas el conocimiento para facilitar su posterior análisis e interpretación.

# 4.5.4. Criterios de validez y confiabilidad de los instrumentos

Para garantizar los datos a obtener de los instrumentos a ejecutar, se seleccionó 2 personas capacitadas en la lectura del examen parasitológico en heces las cuales realizaron los procedimientos a doble ciego; o sea estos analistas no conocieron los resultados

preliminares que definen el nivel de dilución del pool de parásitos, ni que técnica se hubo utilizado en la concentración de los mismos. Y finalmente, se realizó lecturas en réplica por triplicado a fin de garantizar un reporte confiable.

## 4.5.5. Técnicas de análisis e interpretación de datos

Los resultados de la aplicación de las 3 técnicas parasitológicas fueron presentados inicialmente de forma descriptiva en tablas de contingencia e independientes según el parásito hallado y la dilución realizada. Para estimar diferencias entre los resultados generados por las 3 técnicas, se aplicó la prueba no paramétrica de Friedman, considerando un p-valor significativo menor a 0.05. Los resultados también fueron presentados en gráficos de barras, donde se representó la frecuencia de los resultados por cada parásito. Y finalmente, se estimó el grado de relación entre las 3 técnicas parasitológicas, utilizando la prueba de correlación de Spearman, considerando como correlación alta a rho mayor a 0.90. Finalmente, para estimar el nivel de concordancia entre las técnicas utilizadas, se utilizó la proporción de acuerdos global mediante el estadístico Kappa ponderado (considerando que los resultados variables son politómicas).

# 4.6. Ética de la investigación

Puesto que la presente propuesta de investigación no utilizó material biológico procedente de seres humanos, sino un material que distribuye el Instituto Nacional de Salud para el programa de evaluación externa de la calidad en laboratorios de parasitología, no fue necesaria la aplicación de consentimiento y/o asentimiento informado.

# CAPÍTULO V ANÁLISIS Y RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

## 5.1. Resultados

Los resultados de la presente tesis fueron obtenidos de un modelo experimental básico, donde se utilizó un pool de parásitos utilizado como estándar de referencia para el control de calidad externa en laboratorios de parasitología. Este material es una mezcla de parásitos intestinales patógenos de alta prevalencia en nuestro país y es elaborado por el Instituto Nacional de Salud (INS) del Perú, órgano de referencia en investigación y laboratorios de ensayo. Este material estuvo constituido de 5 parásitos intestinales distintos: Giardia lamblia, Enterobius vermicularis, Ascaris lumbricoides, Strongyloides sp e Hymenolepis nana. A partir de este material, se realizaron 10 diluciones seriadas (sin dilución, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160,1:320, 1:640 y 1:1280). Posteriormente, cada dilución fue sometida a una técnica de concentración la cual incluyo: coproparasitológico directo simple, sedimentación simple y Sheather. Se obtuvieron resultados variados de las 3 técnicas, siendo el objetivo prioritario de la investigación evaluar si existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos de las 3 técnicas, y además conocer cuál de ellas permite mejor recuperación de parásitos intestinales a mayores niveles de dilución.

Considerando, que el estudio tuvo un diseño experimental, la muestra fue seleccionada por conveniencia; por lo tanto el contraste de hipótesis fue analizado mediante pruebas no paramétricas (no hay inferencia de resultados de una muestra hacia una población de estudio). Los resultados de las técnicas parasitológicas fueron medidas en escala ordinal (negativo, 1+, 2+ y 3+), según lo estipulado el Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre del INS (64). Por lo tanto, la prueba de elección para el contraste de hipótesis fue el test de Friedman, donde se evaluó el p-valor considerándose como significativo un valor menor a 0.05.

En breve, se presentan los resultados obtenidos, así como las pruebas estadísticas para el contraste de hipótesis, donde se busca conocer si existen diferencias significativas entre los resultados generados por las 3 técnicas de concentración.

Tabla 1. Contraste de hipótesis para la concentración de *Giardia lamblia* entre las 3 técnicas de concentración

iambila entre las 3 techicas de concentración						
Dilución	Coproparasitológico	Sedimentación	Sheather (var4)			
(var1)	directo simple (var2)	simple (var3)				
Sin dilución	1+	1+	2+			
1:5	1/2+	1+	2+			
1:10	1/2+	1+	1+			
1:20	1/2+	1/2+	1+			
1:40	1/2+	1/2+	1+			
1:80	1/2+	1/2+	1+			
1:160	1/2+	1/2+	1/2+			
1:320	Negativo	1/2+	1/2+			
1:640	Negativo	Negativo	1/2+			
1:1280	Negativo	Negativo	1/2+			

Friedman = 19.2364 Kendall = 0.7125 P-value = 0.0233 La tabla 1 muestra los resultados obtenidos de la aplicación de las 3 técnicas de concentración para el parásito intestinal *Giardia lamblia*, y se aprecia que el método de Sheater presenta mejor recuperación de los quistes de este parásito, puesto que aun genera resultados positivos para las diluciones más altas. Además, al contraste de hipótesis y analizando los resultados globales, se aprecia diferencias significativas (p<0.05) entre los resultados obtenidos entre el método de Sheather y las otras dos técnicas parasitológicas. La presentación de resultados también se observa en el gráfico 1.

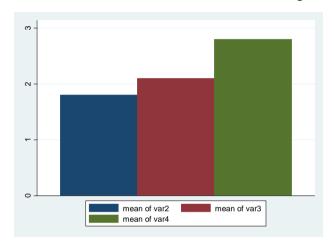


Gráfico 1. Frecuencia de quistes de *G. lamblia* obtenidos por las técnicas de estudio

Tabla 2. Contraste de hipótesis para la concentración de *Enterobius vermicularis* entre las 3 técnicas de concentración

verriicularis eritte las 5 tecrnicas de concentración						
Dilución	Coproparasitológico	Sedimentación	Sheather (var4)			
(var1)	(var1) directo simple (var2)					
Sin dilución	1+	2+	2+			
1:5	1+	1+	1+			
1:10	1+	1+	1+			
1:20	1/2+	1+	1+			
1:40	1/2+	1/2+	1+			
1:80	1/2+	1/2+	1/2+			
1:160	1/2+	1/2+	1/2+			
1:320	1/2+	1/2+	1/2+			
1:640	Negativo	Negativo	1/2+			
1:1280	Negativo	Negativo	1/2+			

Friedman = 20.6909 Kendall = 0.7663 P-value = 0.0141 La tabla 2 muestra los resultados obtenidos de la aplicación de las 3 técnicas de concentración para el parásito intestinal *Enterobius vermicularis*, y se aprecia que el método de Sheater presenta mejor recuperación de los huevos de este parásito, puesto que aun genera resultados positivos para las diluciones más altas. También se aprecia que no existen variación entre los resultados obtenidos entre el Coproparasitológico directo simple y la técnica de sedimentación simple. Además, al contraste de hipótesis y analizando los resultados globales, se aprecia diferencias significativas (p<0.05) entre los resultados obtenidos entre el método de Sheather y las otras dos técnicas parasitológicas. La presentación de resultados también se observa en el gráfico 2.

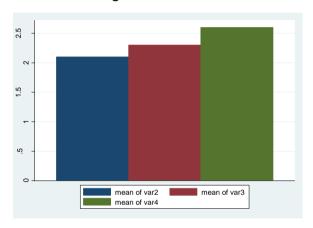


Gráfico 2. Frecuencia de huevos de *E. vermicularis* obtenidos por las técnicas de estudio

Tabla 3. Contraste de hipótesis para la concentración de *Ascaris lumbricoides* entre las 3 técnicas de concentración

	Tarribricorado difino lado di teclificado de Confeditación							
Dilución (var1)	Coproparasitológico	Sedimentación	Sheather (var4)					
	directo simple (var2)	simple (var3)						
Sin dilución	1/2+	2+	2+					
1:5	1/2+	1+	2+					
1:10	1/2+	1+	1+					
1:20	1/2+	1+	1+					
1:40	1/2+	1+	1+					
1:80	Negativo	1+	1+					
1:160	Negativo	1/2+	1+					
1:320	Negativo	1/2+	1/2+					
1:640	Negativo	1/2+	1/2+					
1:1280	Negativo	1/2+	1/2+					

Friedman =	18.6909
Kendall =	0.6923
P-value =	0.0280

La tabla 3 muestra los resultados obtenidos de la aplicación de las 3 técnicas de concentración para el parásito intestinal *Ascaris lumbricoides*, y se aprecia que el método de Sheater presenta similar recuperación de los huevos de este parásito, que la técnica de sedimentación simple, aun en las diluciones más altas. Además, al contraste de hipótesis y analizando los resultados globales, se aprecia diferencias significativas (p<0.05) entre los resultados obtenidos entre el método de Sheather y el coproparasitológico directo simple. La presentación de resultados también se observa en el gráfico 3.

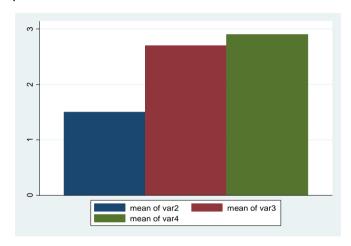


Gráfico 3. Frecuencia de huevos de *A. lumbricoides* obtenidos por las técnicas de estudio

Tabla 4. Contraste de hipótesis para la concentración de *Strongyloides* sp. entre las 3 técnicas de concentración

Dilución (var1)	Coproparasitológico	Sedimentación	Sheather (var4)
	directo simple (var2)	simple (var3)	
Sin dilución	1/2+	1+	1+
1:5	1/2+	1+	1+
1:10	Negativo	1/2+	1/2+
1:20	Negativo	1/2+	1/2+
1:40	Negativo	1/2+	1/2+
1:80	Negativo	1/2+	1/2+
1:160	Negativo	Negativo	1/2+
1:320	Negativo	Negativo	Negativo
1:640	Negativo	Negativo	Negativo
1:1280	Negativo	Negativo	Negativo

Friedman = 17.0909 Kendall = 0.6330 P-value = 0.0473

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos de la aplicación de las 3 técnicas de concentración para el parásito intestinal *Strongyloides sp.*, y se aprecia que el método de Sheater presenta similar recuperación de los larvas de este parásito, que la técnica de sedimentación simple, aunque no llega a generar resultados a partir de las diluciones de 1:320 a más. Por otra parte, la técnica del Coproparasitológico directo simple tiene pobre recuperación, generando únicamente resultados positivos hasta la dilución 1:5. Además, al contraste de hipótesis y analizando los resultados globales, se aprecia diferencias significativas (p<0.05) entre los resultados obtenidos entre el método de Sheather y el coproparasitológico directo simple. La presentación de resultados también se observa en el gráfico 4.

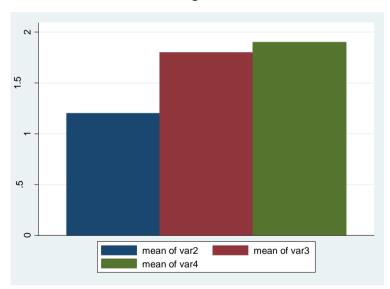


Gráfico 4. Frecuencia de huevos de *Strongyloides sp.* obtenidos por las técnicas de estudio

Tabla 5. Contraste de hipótesis para la concentración de *Hymenolepis* nana. Entre las 3 técnicas de concentración

Dilución (var1)	Coproparasitológico	Sedimentación	Sheather (var4)
	directo simple (var2)	simple (var3)	
Sin dilución	1+	1/2+	2+
1:5	1/2+	1/2+	2+
1:10	1/2+	1/2+	1+
1:20	1/2+	Negativo	1+
1:40	Negativo	Negativo	1+
1:80	Negativo	Negativo	1/2+
1:160	Negativo	Negativo	1/2+
1:320	Negativo	Negativo	1/2+
1:640	Negativo	Negativo	1/2+
1:1280	Negativo	Negativo	Negativo

Friedman = 18.0182 Kendall = 0.6673 P-value = 0.0350

La tabla 5 muestra los resultados obtenidos de la aplicación de las 3 técnicas de concentración para el parásito intestinal *Hymenolepis nana*, y se aprecia que el método de Sheater presenta una recuperación de los huevos de este parásito, muy superior a las otras dos técnicas parasitológicas. Incluso, para este parásito, el Coproparasitológico directo simple, obtuvo mejores resultados de recuperación que la técnica de sedimentación simple. Además, al contraste de hipótesis y analizando los resultados globales, se aprecia diferencias significativas (p<0.05) entre los resultados obtenidos entre el método de Sheather y las otras dos técnicas parasitológicas. La presentación de resultados también se observa en el gráfico 5.

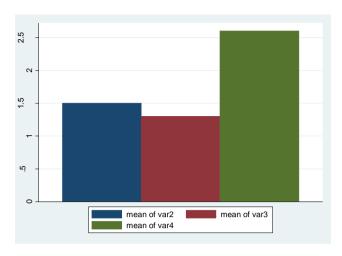


Gráfico 5. Frecuencia de huevos de *H. nana* obtenidos por las técnicas de estudio

Tabla 6. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para *Giardia lamblia* 

```
. spearman var2 var3
Number of obs =
                    10
Spearman's rho =
                    0.7605
Test of Ho: var2 and var3 are independent
   Prob > |t| =
                     0.0107
. spearman var2 var4
Number of obs =
                10
                   0.8092
Spearman's rho =
Test of Ho: var2 and var4 are independent
                      0.0046
   Prob > |t| =
. spearman var3 var4
Number of obs =
                    10
Spearman's rho =
                     0.8029
Test of Ho: var3 and var4 are independent
   Prob > |t| =
                      0.0052
```

En la tabla 6, se evidencia que el nivel de correlación entre el examen Coproparasitológico directo simple y la técnica de sedimentación simple es moderada (rho=0.76) para la recuperación de quistes de *Giardia lamblia*, con diferencia significativa entre sus resultados (p=0.011). La correlación entre los resultados de Coproparasitológico directo simple y la técnica de Sheather también es moderada (rho=0.81), aunque sus resultados presentan diferencias aún más significativas (p=0.046). Mientras que la correlación entre la técnica de sedimentación simple y Sheather también es moderada (rho=0.80), sus resultados presentan diferencias muy significativas (p=0.005).

Tabla 7. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para Enterobius vermicularis

```
. spearman var2 var3
Number of obs =
                   1.0
Spearman's rho =
                    0.9109
Test of Ho: var2 and var3 are independent
   Prob > |t| =
                     0.0002
. spearman var2 var4
Number of obs = 10
Spearman's rho =
                   0.7492
Test of Ho: var2 and var4 are independent
   Prob > |t| =
                     0.0126
. spearman var3 var4
Number of obs =
                   10
Spearman's rho =
                    0.8538
Test of Ho: var3 and var4 are independent
   Prob > |t| =
                     0.0017
```

En la tabla 7, se evidencia que el nivel de correlación entre el examen Coproparasitológico directo simple y la técnica de sedimentación simple es alta (rho=0.911), para la recuperación de huevos de *Enterobius vermicularis*, con diferencia significativa entre sus resultados (p=0.0002). La correlación entre los resultados de Coproparasitológico directo simple y la técnica de Sheather es moderada (rho=0.75), aunque sus resultados presentan diferencias aún más significativas (p=0.015). Mientras que la correlación entre la técnica de sedimentación simple y Sheather también es moderada (rho=0.85), sus resultados presentan diferencias muy significativas (p=0.002).

Tabla 8. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para *Ascaris lumbricoides* 

```
. spearman var2 var3
Number of obs =
                     10
Spearman's rho =
                      0.8083
Test of Ho: var2 and var3 are independent
   Prob > |t| =
                     0.0047
. spearman var2 var4
Number of obs =
                    10
Spearman's rho =
                     0.7181
Test of Ho: var2 and var4 are independent
   Prob > |t| =
                     0.0193
. spearman var3 var4
Number of obs = 10
Spearman's rho =
                     0.8292
Test of Ho: var3 and var4 are independent
   Prob > |t| =
                      0.0030
```

En la tabla 8, se evidencia que el nivel de correlación entre el examen Coproparasitológico directo simple y la técnica de sedimentación simple es moderada (rho=0.81), para la recuperación de huevos de *Ascaris lumbricoides*, con diferencia significativa entre sus resultados (p=0.005). La correlación entre los resultados de Coproparasitológico directo simple y la técnica de Sheather es moderada (rho=0.72), aunque sus resultados presentan diferencias aún más significativas (p=0.019). Mientras que la correlación entre la técnica de sedimentación simple y Sheather también es moderada (rho=0.83), sus resultados presentan diferencias muy significativas (p=0.003).

Tabla 9. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para Strongyloides sp.

```
. spearman var2 var3
Number of obs =
                  1.0
Spearman's rho =
                   0.7454
Test of Ho: var2 and var3 are independent
   Prob > |t| =
                    0.0133
. spearman var2 var4
                  10
Number of obs =
Spearman's rho =
                   0.7559
Test of Ho: var2 and var4 are independent
   Prob > |t| =
                   0.0114
. spearman var3 var4
Number of obs =
                   10
Spearman's rho =
                    0.9015
Test of Ho: var3 and var4 are independent
   Prob > |t| =
                    0.0004
```

En la tabla 9, se evidencia que el nivel de correlación entre el examen Coproparasitológico directo simple y la técnica de sedimentación simple es moderada (rho=0.75), para la recuperación de larvas de *Strongyloides sp*, con diferencia significativa entre sus resultados (p=0.013). La correlación entre los resultados de Coproparasitológico directo simple y la técnica de Sheather es moderada (rho=0.76), aunque sus resultados presentan diferencias aún más significativas (p=0.011). Mientras que la correlación entre la técnica de sedimentación simple y Sheather también es alta (rho=0.90), sus resultados presentan diferencias muy significativas (p=0.004).

Tabla 10. Correlación entre las 3 técnicas de concentración para Hymenolepis nana

```
. spearman var2 var3
Number of obs =
                   1.0
Spearman's rho =
                   0.8259
Test of Ho: var2 and var3 are independent
   Prob > |t| =
                    0.0032
. spearman var2 var4
Number of obs = 10
Spearman's rho =
                    0.8365
Test of Ho: var2 and var4 are independent
   Prob > |t| = 0.0026
. spearman var3 var4
Number of obs = 10
                    0.7570
Spearman's rho =
Test of Ho: var3 and var4 are independent
   Prob > |t| = 0.0112
```

En la tabla 10, se evidencia que el nivel de correlación entre el examen Coproparasitológico directo simple y la técnica de sedimentación simple es moderada (rho=0.83), para la recuperación de larvas de *Hymenolepis nana*, con diferencia significativa entre sus resultados (p=0.003). La correlación entre los resultados de Coproparasitológico directo simple y la técnica de Sheather es moderada (rho=0.84), aunque sus resultados presentan diferencias aún más significativas (p=0.005). Mientras que la correlación entre la técnica de sedimentación simple y Sheather también es moderada (rho=0.76), sus resultados presentan diferencias significativas (p=0.011).

Tabla 11. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de quistes de *Giardia lamblia* 

Coproparas.	Sedime	Sedimentación simple			
directo simple	Negativo				
Negativo	2	1	0	3	
1/2+	0	4	2	6	
1+	0	0	1	1	
Total	2	5	3	10	

Ratings weighted by:

1.00000.75000.00000.75001.00000.7500

0.0000 0.7500 1.0000

	Expected					
Agreement	Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z	
92.50%	76.50%	0.6809	0.2826	2.41	0.0080	

La Tabla 11 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 68.1% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 12. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de quistes de *Giardia lamblia* 

Total

Total

Sheather

Coproparas.

Sedimentación

directo sim	ple	Negativo	1/2+	1+	2+		
Negativo		0	3	0	0	3	
1/2+		0	1	4	1	6	
1+		0	0	0	1	1	
2+		0	0	0	0	0	
Total		0	4	4	2	10	
Ratings weighted by:							
1.0000	0.8889	0.5556	0.0000				
0.8889	1.0000	0.8889	0.5556				
0.5556	0.8889	1.0000	0.8889				
0.0000	0.5556	0.8889	1.0000				
Expected							
Agreement	Agreeme	ent Kap	ppa Std.	Err.	Z	Prob>Z	
86.67%	78.67	7% 0.37	750 0.1	479	2.54	0.0056	

La Tabla 12 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 37.5% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 13. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de quistes de *Giardia lamblia* 

Sheather

		_				
simple	Ne	gativo	1/2+	1+	2+	
Negativo		0	2	0	0	2
1/2+		0	2	3	0	5
1+		0	0	1	2	3
2+		0	0	0	0	0
Total		0	4	4	2	10
Ratings we:	ighted by:					
1.0000	0.8889	0.5556	0.0000	)		
0.8889	1.0000	0.8889	0.5556	5		
0.5556	0.8889	1.0000	0.8889	)		
0.0000	0.5556	0.8889	1.0000	)		
	Expecte	d				
Agreement	Agreemen	t Ka <sub>l</sub>	ppa St	d. Err.	Z	Prob>Z
92.22%	82.89%	0.5	455	0.2151	2.54	0.0056

La Tabla 13 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 54.6% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 14. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de huevos de *Enterobius vermicularis* 

Coproparas.	Sedime	Sedimentación simple				
directo simple	Negativo	Negativo ½+ 1+ 2+				
Negativo	2	0	0	0	2	
1/2+	0	4	1	0	5	
1+	0	0	2	1	3	
2+	0	0	0	0	0	
Total	0	4	3	2	10	

Agreement	Agreemer	nt Ka <sub>l</sub>	ppa	Std. Err.	Z	Prob>Z
	Expecte	ed				
0.0000	0.5556	0.8889	1.0	0000		
0.5556	0.8889	1.0000	0.8	8889		
0.8889	1.0000	0.8889	0.5	5556		
1.0000	0.8889	0.5556	0.0	0000		
Ratings we:	ighted by:	:				

La Tabla 14 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 85.1% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 15. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de huevos de *Enterobius vermicularis* 

Coproparas.	(	Sheather			Total
directo simple	Negativo	1/2+	1+	2+	
Negativo	0	2	0	0	2
1/2+	0	3	2	0	5
1+	0	0	2	1	3
2+	0	0	0	0	0
Total	0	5	4	1	10

94.44%	86.89%	0.5		0.2489	2.32	0.0103
Agreement	Agreemen	t Kap	pa	Std. Err.	Z	Prob>Z
	Expecte	d				
0.0000	0.5556	0.8889	1.0	000		
0.5556	0.8889	1.0000	0.8	889		
0.8889	1.0000	0.8889	0.5	556		
1.0000	0.8889	0.5556	0.0	000		
Ratings we	ighted by:					

La Tabla 15 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 57.6% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 16. Concordancia entre el Sedimentación simple y Sheather para la concentración de huevos de *Enterobius vermicularis* 

Coproparas.	Sedime	entación si	mple		Total
directo simple	Negativo	1/2+	1+	2+	
Negativo	0	2	0	0	2
1/2+	0	3	1	0	4
1+	0	0	3	0	3
2+	0	0	0	1	1
Total	0	5	4	1	10

Ratings we:	ighted by:					
1.0000	0.8889	0.5556	0.00	00		
0.8889	1.0000	0.8889	0.55	56		
0.5556	0.8889	1.0000	0.88	89		
0.0000	0.5556	0.8889	1.00	00		
	Expecte	ed				
Agreement	Agreemer	nt Kap	opa	Std. Err.	Z	Prob>Z
96.67%	85.11%	5 0.77	761	0.2818	2.75	0.0029

La Tabla 16 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 77.6% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 17. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de huevos de *Ascaris lumbricoides* 

Total

directo sim	ple	Negativo	1/2+	1+	2+	
Negativo		0	4	1	0	5
1/2+		0	0	4	1	5
1+		0	0	0	0	0
2+		0	0	0	0	0
Total		0	4	5	1	10
Ratings we	ighted by	/:				
1.0000	0.8889	0.5556	0.0000			
0.8889	1.0000	0.8889	0.5556			
0.5556	0.8889	1.0000	0.8889			
0.0000	0.5556	0.8889	1.0000			
	Expect	ted				
Agreement	Agreeme	ent Kap	opa Std.	Err.	Z	Prob>Z
82.22%	76.67	7% 0.23	381 0.0	964	2.47	0.0068

Sedimentación simple

Coproparas.

La Tabla 17 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 23.8% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 18. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de huevos de *Ascaris lumbricoides* 

Coproparas.	Ç	Sheather			Total
directo simple	Negativo	1/2+	1+	2+	
Negativo	0	3	2	0	5
1/2+	0	0	3	2	5
1+	0	0	0	0	0
2+	0	0	0	0	0
Total	0	3	5	2	10

1.0000 0.8889 0.5556 0.0000
0.8889 1.0000 0.8889 0.5556
0.5556 0.8889 1.0000 0.8889
0.0000 0.5556 0.8889 1.0000

Expected

Agreement Agreement Kappa Std. Err. Z Prob>Z

75.56% 70.00% 0.1852 0.0820 2.26 0.0119

Ratings weighted by:

La Tabla 18 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 18.5% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 19. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de huevos de Ascaris lumbricoides

Sedimentac	ión		Sheather		Total
simple		1/2+	1+	2+	
1/2+		3	1	0	4
1+		0	4	1	5
2+		0	0	1	1
Total		3	5	2	10
Ratings we:	ighted by	:			
1.0000	0.7500	0.00	00		
0.7500	1.0000	0.75	00		
0 0000	0 7500	1 00	0.0		

0.0000 0.7500 1.0000

	Expected				
Agreement	Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
95.00%	76.50%	0.7872	0.3016	2.61	0.0045

La Tabla 19 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 78.7% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 20. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de larvas de Strongyloides sp

Coproparas.	Sedime	entación si	mple	Total
directo simple	Negativo	1/2+	1+	
Negativo	4	4	0	8
1/2+	0	0	2	2
1+	0	0	0	0
Total	4	4	2	10

•					
Ratings wei	ghted by:				
1.0000	0.7500	0.0000			
0.7500	1.0000	0.7500			
0.0000	0.7500	1.0000			
	Expecte	d			
Agreement	Agreemen	t Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
85.00%	73.00%	0.4444	0.1753	2.54	0.0056

La Tabla 20 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 44.4% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 21. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de larvas de *Strongyloides sp* 

Coproparas.	Ç	Sheather		Total
directo simple	Negativo	1/2+	1+	
Negativo	3	5	0	8
1/2+	0	0	2	2
1+	0	0	0	0
Total	3	5	2	10

Ratings weighted by:

1.0000 0.7500 0.0000

0.7500 1.0000 0.7500

0.0000 0.7500 1.0000

Expected

Agreement Agreement Kappa Std. Err. Z Prob>Z

82.50% 71.50% 0.3860 0.1553 2.48 0.0065

La Tabla 21 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 38.6% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 22. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de larvas de Strongyloides sp

Total

0.0019

simple	Negativo	1/2+	1+	
Negativo	3	1	0	4
1/2+	0	4	0	4
1+	0	0	2	2
Total	3	5	2	10

Sheather

Sedimentación

0.7500 1.0000 0.7500 0.0000 0.7500 1.0000

Expected Agreement Agreement Kappa Std. Err. Prob>Z

97.50% 73.50% 0.9057 0.3125 2.90

La Tabla 22 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 90.6% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 23. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sedimentación simple para la concentración de huevos de Hymenolepis nana

Coproparas.	Sedime	Total		
directo simple	Negativo	1/2+	1+	
Negativo	6	0	0	6
1/2+	1	2	0	3
1+	0	1	0	1
Total	7	3	0	10

Ratings weighted by:

1.0000 0.7500 0.0000

0.7500 1.0000 0.7500

0.0000 0.7500 1.0000

	Expected					
Agreement	Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z	
95.00%	82.50%	0.7143	0.2777	2.57	0.0051	

La Tabla 23 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 71.4% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

Tabla 24. Concordancia entre el Coproparasitológico directo simple y Sheather para la concentración de huevos de *Hymenolepis nana* 

1+

Total

0.0051

2+

2.57

Sheather

1/2+

Negativo

Coproparas.

83.33%

72.22%

directo simple

Negativo		1	4	1	0	6
1/2+		0	0	2	1	3
1+		0	0	0	1	1
2+		0	0	0	0	0
Total		1	4	3	2	10
Ratings we:	ighted by	:				
1.0000	0.8889	0.5556	0.0000			
0.8889	1.0000	0.8889	0.5556			
0.5556	0.8889	1.0000	0.8889			
0.0000	0.5556	0.8889	1.0000			
	Expecte	ed				
Agreement	Agreemen	nt Kap	ppa Std.	Err.	Z	Prob>Z

0.4000

La Tabla 24 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 40.0% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

0.1555

Tabla 25. Concordancia entre la Sedimentación simple y Sheather para la concentración de huevos de *Hymenolepis nana* 

Coproparas.	Sedimentación simple				Total
directo simple	Negativo	1/2+	1+	2+	
Negativo	1	4	2	0	7
1/2+	0	0	1	2	3
1+	0	0	0	0	0
2+	0	0	0	0	0
Total	1	4	3	2	10

Ratings we:	ighted by:	:				
1.0000	0.8889	0.5556	0.00	000		
0.8889	1.0000	0.8889	0.55	556		
0.5556	0.8889	1.0000	0.88	389		
0.0000	0.5556	0.8889	1.00	000		
	Expecte	ed				
Agreement	Agreemer	nt Kap	ppa	Std. Err.	Z	Prob>Z
76.67%	69.569	8 0.23	336	0.0969	2.41	0.0080

La Tabla 25 evidencia un acuerdo ponderado observado sobre el esperado es de 23.4% y corregidas por el azar, entre las dos pruebas presentadas.

## 5.2. Discusión de resultados

Es importante señalar que el uso de tener un material de referencia como lo es un pool de parásitos distribuido por el Instituto Nacional de Salud como ente de referencia para el control de calidad externo de laboratorios de parasitología (64), resulta en una fortaleza puesto que se conoce cuáles son los parásitos intestinales que se evaluarán posteriormente en el modelo experimental planteado en la presente tesis de investigación. Sin embargo, a fin de tener datos más precisos del material utilizado, es necesario mencionar que este pool es una mezcla de diversas muestras de heces que han sido concentradas por el método de Willis (16), el cual es considerado como el método de oro para técnicas de concentración de parásitos intestinales. Tomando como referencia lo mencionado anteriormente, es que ha podido estimar diversos estadísticos no paramétricos para conocer si el método de flotación de Sheather es una técnica que genera resultados con mayor sensibilidad comparada a dos técnicas que se usan de forma rutinaria en los laboratorios de parasitología: el examen coproparasitológico directo simple y la técnica de sedimentación simple. La técnica de Sheather (63) es relativamente sencilla de implementar ya que los insumos son fáciles de conseguir, baratos e inocuos para el analista.

Los resultados encontrados evidencian una tasa de recuperación superior a las otras dos técnicas utilizadas, con diferencias significativas en todos los casos de los parásitos evaluados, siendo estos representantes de los dos grandes sub reinos: protozoos (Giardia lamblia) y metazoos (helmintos como Enterobius vermicularis, Áscaris lumbricoides, Strongyloides sp e Hymenolepis nana). Todos los parásitos descritos, son agentes importantes de parasitosis intestinales en nuestro país con prevalencias altas que según la región puede fluctuar desde 5% hasta el 60%; razón por la cual la técnica de Sheather se convierte en una excelente herramienta diagnóstica y de fácil implementación en lugares donde la endemicidad de estas parasitosis sea elevada.

La técnica de Sheather según nuestros resultados presentó sensibilidad del 100% para los parásitos G. lamblia, E. vermicularis y A. lumbricoides, considerando que generó resultados positivos para los tres casos, e incluso detecto estructuras parasitarias en la máxima dilución realizada. La sedimentación simple también tuvo una sensibilidad del 100%, pero únicamente para G. lamblia. En el caso de la evaluación de los huevos de H. nana, la técnica de sedimentación simple tuvo sensibilidad inferior a la del Coproparasitológico simple, aunque estas dos en general, presentaron valores de sensibilidad muy baja, en comparación con la técnica de Sheather, donde la sensibilidad fue cercana al 100%. Es importante destacar, que el parásito que presentó mayor dificultad para recuperarse con las técnicas de concentración fue Strongyloides sp., donde nuevamente la técnica de Sheather tuvo sensibilidad muy superior al Coproparasitológico directo, y cercana pero aun mayor que la sedimentación simple. Este fenómeno puede explicarse debido a algunas características que tiene la larva de Strongyloides sp., el cual es considerado un parásito que presenta termotropismo positivo, por lo cual su recuperación y concentración es más efectiva con métodos basados en esa característica, tales como la técnica de Baermann modificado por Lumbreras (65).

Hay que destacar que la investigación también busco conocer si los resultados generados por las tres técnicas presentaron correlación, con la finalidad de tener alternativas de cambio en el uso de las técnicas de concentración parasitológica. Nuevamente, se observa que la correlación no paramétrica según Spearman, depende del parásito que se esté concentrando y evaluado. Por ejemplo, se observó el mayor nivel de correlación entre Sheather y sedimentación simple para *Strongyloides sp*, aun cuando la tasa de recuperación o sensibilidad de ambas no es muy buena (no superan el 50%). Sin embargo, algo interesante que se observa es que el coproparasitológico directo y la sedimentación simple presentan el más alto nivel de correlación para concentrar huevos de *E. vermicularis*, aunque la tasa de recuperación es mejor con la técnica de Sheather.

También se estimó el grado de concordancia o acuerdo corregido por el azar, entre los resultados generados por las tres técnicas. El mayor nivel de concordancia global corregida por el azar se observó entre los resultados generados por la técnica de sedimentación simple y Sheather con más del 90% de acuerdo en la concentración de *Strongyloides sp.*, tendencia similar a la encontrada con el coeficiente de correlación de Spearman. Por el contrario, la concordancia global corregida por el azar más baja se evidenció entre los resultados generados por la técnica del Coproparasitológico directo y Sheather para la identificación de *A. lumbricoides*, con apenas un acuerdo del 18.5%.

De los resultados discutidos anteriormente, se puede señalar que la técnica de Sheather presenta una alta sensibilidad en comparación a los dos técnicas usadas, pero es dependiente del parásito que se haya concentrado, siendo los valores de sensibilidad bajos para otros tales como *Strongyloides sp.* Alves et al ya ha reportado valores muy altos de sensibilidad, especificidad y concordancia en comparación a la técnica gold-estándar desarrollada por Willis, donde se aprecia valores de 81.1, 98.4 y 76.8%, respectivamente (10).

Los resultados reportados por Coplu, mostraron que las técnicas de concentración por sedimentación son efectivas en la concentración de helmintos, pero sin embargo su desventaja es sobre la identificación de protozoos, puesto que el concentrado obtenido presenta una elevada concentración de detritus fecal que dificulta la visualización microscópica (13).

Por lo tanto, es recomendable el uso asociado de varias técnicas diagnósticas con diferentes principios de concentración, el cual debe favorecer e incrementar la posibilidad de obtener un mayor número de estructuras parasitarias, incrementando a su vez la eficacia del diagnóstico.

#### CONCLUSIONES

- Existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos por el método de Sheather en comparación con el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad.
- El método de Sheather permite obtener una mayor concentración de parásitos intestinales que el método por sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad.
- Existe un nivel de concordancia alta entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad.
- Existe un nivel de concordancia baja entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el examen Coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad.

#### RECOMENDACIONES

# A la comunidad científica:

Precisar que el uso de la técnica de Sheather es una herramienta de alta sensibilidad para concentrar quistes de protozoos y huevos de helmintos, pero con limitación a la recuperación de larvas de Strongyloides sp., razón por la cual debería restringirse su uso cuando se sospeche de un caso de estrongiloidosis, siendo esta enfermedad de alta prevalencia en regiones amazónicas de Perú, dato importante dentro de la evaluación epidemiológica.

#### Al laboratorio Inmulab:

 En situaciones ideales, la técnica de Sheather debería ser validada como una alternativa diagnóstica, utilizando personas con diagnóstico confirmatorio de parasitosis intestinal y personas sanas.

# A la Dirección Regional de Salud de Ica:

La técnica de Sheather debería implementarse en regiones con alta endemicidad para infecciones parasitarias, considerando el uso de insumos fáciles de acceder tales como azúcar de mesa, formol y agua destilada; además de no tomar mucho tiempo en su ejecución (2-4 minutos), resultando ideal para laboratorios de pequeña a gran capacidad de procesamiento.

# REFERENCIAS BIBLOGRÀFICAS

- Harhay MO, Horton J, Olliaro PL. Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children. Expert review of anti-infective therapy. 2010;8(2):219-234.
   Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2851163/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2851163/</a>
- Norhayati M, Fatmah MS, Yusof S, Edariah AB. Intestinal parasitic infections in man: a review. Med J Malaysia. 2003 Jun;58(2):296-305. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14569755">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14569755</a>
- Manser MM, Saez ACS, Chiodini PL. Faecal Parasitology: Concentration Methodology Needs to be Better Standardised. Bethony JM, ed. PLoS Neglected Tropical Diseases. 2016;10(4):e0004579. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4830587/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4830587/</a>
- 4. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bull. US Army Med.1948; 8:326.
- 5. Ridley, Sand, Hawgood. The Value of Formol-Ether Concentration of Faecal Cysts and Ova. J. Clin.Pathol.1956; 9:74-6.
- 6. AllenAV Hand Ridley DS. Further observations on the formol-ether concentration technique for faecal parasites. J. Clin. Pathol. 1970; 23:545-6
- 7. World Health Organization. http://www.who.int, 2006.
- 8. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. Volume 88;2006. Disponible en: http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-29.pdf
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Division of Toxicology and Human Health Sciences. ToxFAQs™ Éter bis(clorometílico) [Bis(chloromethyl) Ether]. 2016. Disponible en: <a href="https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\_tfacts128.html">https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\_tfacts128.html</a>
- Rezende Hanstter Hallison Alves, Avelar Juliana Boaventura, Storchilo Heloísa Ribeiro, Vinaud Marina Clare, Castro Ana Maria de. Evaluation of the accuracy of parasitological techniques for the diagnosis of intestinal parasites in cats. Rev. Bras. Parasitol. Vet. [Internet]. 2015; 24(4):471-4. Disponible en: <a href="http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015069">http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015069</a>.

- 11.Terashima, Angélica et al. Técnica de sedimentación en tubo de alta sensibilidad para el diagnóstico de parásitos intestinales. Rev. gastroenterol. Perú. 2009;29(4):305-10. Disponible en: <a href="http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292009000400002&script=sci\_arttext">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292009000400002&script=sci\_arttext</a>
- 12. Jara C., Minchón-Medina, C., y Zárate, C. Comparación de las técnicas de Willis y de Sheather para el diagnóstico coproparasitoscópico. Revista de la Universidad Nacional de Trujillo. 2007;2(1):1-6. Disponible en: <a href="http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com\_content&view=article&id=67&Itemid=99">http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com\_content&view=article&id=67&Itemid=99</a>
- 13. Asmat Cöplü N, Gözalan A, Akin L. The comparison of the concentration techniques used in investigation of feces for parasitosis. Turkiye Parazitol Derg. 2007;31(2):123-8. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17594653">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17594653</a>
- 14. Christie J, Schwan EV, Bodenstein LL, Sommerville JE, van der Merwe LL. The sensitivity of direct faecal examination, direct faecal flotation, modified centrifugal faecal flotation and centrifugal sedimentation/flotation in the diagnosis of canine spirocercosis. J S Afr Vet Assoc. 2011 Jun;82(2):71-5. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22135918">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22135918</a>
- 15. Ishani Bora, Vikramjeet Dutta, Wihiwot Valarie Lyngdoh, Annie Bakorlin Khyriem, Elantamilian Durairaj, Anil Chandra Phukan. Study of intestinal parasites among the immunosuppressed patients attending a tertiary-care center in Northeast India. Int J Med Sci Public Health. 2016; 5(5): 924-929. Disponible en: <a href="http://www.scopemed.org/?mno=214738">http://www.scopemed.org/?mno=214738</a>
- 16. Michael O Harhay, John Horton & Piero L Olliaro. Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children. Journal Expert Review of Antiinfective Therapy. 2010;8(2):125-34. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20109051">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20109051</a>
- de Silva NR, Brooker S, Hotez PJ, Montresor A, Engels D, Savioli L. Soiltransmitted helminth infections: updating the global picture. Trends Parasitol.
   2003;19(12):547–551. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14642761">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14642761</a>

- Brooker S, Clements AC, Bundy DA. Global epidemiology, ecology and control of soil-transmitted helminth infections. Adv. Parasitol. 2006;62:221–261. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1976253/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1976253/</a>
- Hotez PJ, Kamath A. Neglected tropical diseases in sub-saharan Africa: review of their prevalence, distribution, and disease burden. PLoS Negl. Trop. Dis. 2009;3(8):e412. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19707588">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19707588</a>
- 20. Bethony J, Brooker S, Albonico M, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. Lancet. 2006;367(9521):1521–1532. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16679166">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16679166</a>
- Udonsi JK, Nwosu AB, Anya AO. Necator americanus: population structure, distribution, and fluctuations in population densities of infective larvae in contaminated farmlands. Z. Parasitenkd. 1980;63(3):251–259. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7434873">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7434873</a>
- 22. Bundy DA. Population ecology of intestinal helminth infections in human communities. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1988;321(1207):405–420.
   Disponible en: <a href="http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/321/1207/405">http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/321/1207/405</a>
- 23. Hewitson JP, Grainger JR, Maizels RM. Helminth immunoregulation: the role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. Mol. Biochem. Parasitol. 2009;167(1):1–11. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706953/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706953/</a>
- 24. Hotez PJ. Neglected diseases and poverty in 'the other america': the greatest health disparity in the United States? PLoS Negl. Trop. Dis. 2007;1(3):e149.

  Disponible

  en:

  <a href="http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000149">http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000149</a>
- 25. Hotez PJ. Neglected infections of poverty in the United States of America. PLoS Negl. Trop. Dis. 2008;2(6):e256. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2430531/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2430531/</a>
- 26. Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Periago MR. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. PLoS Negl. Trop. Dis. 2008;2(9):e300. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2553488/

- 27. Hotez PJ. Holidays in the sun and the Caribbean's forgotten burden of neglected tropical diseases. PLoS Negl. Trop. Dis. 2008;2(5):e239. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2386240/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2386240/</a>
- 28. Hotez PJ. The giant anteater in the room: Brazil's neglected tropical diseases problem. PLoS Negl. Trop. Dis. 2008;2(1):e177. Disponible en: <a href="http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000177">http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000177</a>
- 29. WHO. Global Burden of Disease.

  www.who.int/healthinfo/global\_burden\_disease/en/
- 30. Disease Control Priorities Project. <a href="www.dcp2.org/pubs/GBD">www.dcp2.org/pubs/GBD</a>.
- 31. Horton J. Human gastrointestinal helminth infections: are they now neglected diseases? Trends Parasitol. 2003;19(11):527–531. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14580965">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14580965</a>
- 32. Harpham T. Urban health in developing countries: what do we know and where do we go? Health Place. 2009;15(1):107–116. Disponible en: <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1353829208000385">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1353829208000385</a>
- 33. Korkes F, Kumagai FU, Belfort RN, et al. Relationship between intestinal parasitic infection in children and soil contamination in an urban slum. J. Trop. Pediatr. 2009;55(1):42–45. Disponible en: <a href="http://dx.doi.org/10.1093/tropej/fmn038">http://dx.doi.org/10.1093/tropej/fmn038</a>
- 34. Tatem AJ, Noor AM, von Hagen C, Di Gregorio A, Hay SI. High resolution population maps for low income nations: combining land cover and census in East Africa. PLoS ONE. 2007;2(12):e1298. Disponible en: <a href="http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001298">http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001298</a>
- 35. Mahfouz AA, el-Morshedy H, Farghaly A, Khalil A. Ecological determinants of intestinal parasitic infections among pre-school children in an urban squatter settlement of Egypt. J. Trop. Pediatr. 1997;43(6):341–344. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9476455
- Angeles G, Lance P, Barden-O'Fallon J, Islam N, Mahbub AQ, Nazem NI. The 2005 census and mapping of slums in Bangladesh: design, select results and application. Int. J. Health Geogr. 2009;8:32. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19505333">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19505333</a>
- 37. Ulukanligil M, Seyrek A. Anthropometric status, anaemia and intestinal helminthic infections in shantytown and apartment schoolchildren in the

- Sanliurfa province of Turkey. Eur. J. Clin. Nutr. 2004;58(7):1056–1061. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15220948
- Appleton CC, Mosala TI, Levin J, Olsen A. Geohelminth infection and reinfection after chemotherapy among slum-dwelling children in Durban, South Africa. Ann. Trop. Med. Parasitol. 2009;103(3):249–261. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19341539">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19341539</a>
- 39. Dumba R, Kaddu JB, Wabwire Mangen F. Intestinal helminths in Luweero district, Uganda. Afr. Health Sci. 2008;8(2):90–96. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19357757
- Mumtaz S, Siddiqui H, Ashfaq T. Frequency and risk factors for intestinal parasitic infection in children under five years age at a tertiary care hospital in Karachi. J. Pak. Med. Assoc. 2009;59(4):216–219. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19402281
- 41. McHardy IH, Wu M, Shimizu-Cohen R, Couturier MR, Humphries RM. Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. J Clin Microbiol. 2014 Mar;52(3):712-20. doi: 10.1128/JCM.02877-13. Epub 2013 Nov 6. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24197877">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24197877</a>
- 42. Fletcher SM, Stark D, Harkness J, Ellis J. 2012. Enteric protozoa in the developed world: a public health perspective. Clin. Microbiol. Rev. 25:420–449. Disponible en: <a href="http://cmr.asm.org/content/25/3/420">http://cmr.asm.org/content/25/3/420</a>
- 43. Centers for Disease Control and Prevention. 2013. Notes from the field: use of electronic messaging and the news media to increase case finding during a Cyclospora outbreak—lowa, July 2013. MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 62:613–614. http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml.mm6230a4.htm
- 44. Polage CR, Stoddard GJ, Rolfs RT, Petti CA. 2011. Physician use of parasite tests in the United States from 1997 to 2006 and in a Utah Cryptosporidium. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3043517/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3043517/</a>
- 45. Koontz F, Weinstock JV. The approach to stool examination for parasites.

  Gastroenterol Clin North Am. 1996 Sep;25(3):435-49. Disponible en:

  https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8863034
- 46. Moges F, Belyhun Y, Tiruneh M, Kebede Y, Mulu A, Kassu A, Huruy K. Comparison of formol-acetone concentration method with that of the direct iodine preparation and formol-ether concentration methods for examination of

- stool parasites. Ethiop J Health Dev. 2010;24(2):148–151. Disponible en: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103380686
- 47. Fung MS, Xiao N, Wang S, Carlton EJ. Field evaluation of a PCR test for Schistosoma japonicum egg detection in low prevalence regions of China. Am J Trop Med Hyg. 2012;87(6):1053–1058. doi: 10.4269/ajtmh.2012.12-0177. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3516074/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3516074/</a>
- 48. Doenhoff MJ, Chiodini PL, Hamilton JV. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? Trends Parasitol. 2004;20:35–39. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14700588">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14700588</a>
- 49. Knopp S, Rinaldi L, Khamis IS, Stothard JR, Rollinson D, Maurelli MP. A single FLOTAC is more sensitive than triplicate Kato-Katz for the diagnosis of low-intensity soil-transmitted helminth infections. T Roy Soc Trop Me Hyg. 2009;103(4):347–354. Disponible en: <a href="http://trstmh.oxfordjournals.org/content/103/4/347.short">http://trstmh.oxfordjournals.org/content/103/4/347.short</a>
- 50. Tarafder MR, Carabin H, Joseph L, Balolong E, Olveda R, McGarvey ST. Estimating the sensitivity and specificity of Kato-Katz stool examination technique for detection of hookworms, Ascaris lumbricoides and Trichuris trichiura infections in humans in the absence of a 'gold standard. Int J Parasitol. 2010;40(4):399–404. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19772859">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19772859</a>
- 51. Levecke B, Wilde NDe, Vandenhoute E, Vercruysse J. Field validity and feasibility of four techniques for the detection of Trichuris trichuira in Simians: a model for monitoring drug efficacy in public health. PLoS Neg Trop Dis. 2009;3(1):e366. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19172171">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19172171</a>
- 52. Santos F, Luciano N, Cerqueira EJL, Soares NM. Comparison of the thick smear and Kato-Katz techniques for diagnosis of intestinal helminth infections. Revista da Sociedade Brasileira de Med Trop. 2005;38(2):196–198. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15821801">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15821801</a>
- 53. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination.

  Bulletin of the United States Army Medical Department. 1984;8(4):326.

  Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18911509">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18911509</a>

- 54. Mcmillan A, Mcneillage GJC. Comparison of the sensitivity of microscopy and culture in the laboratory diagnosis of intestinal protozoal infection. Clin Pathol. 1984;37:809–811. Disponible en: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC498815/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC498815/</a>
- 55. Endris M, Tekeste Z, Lemma W, Kassu A. Comparison of the Kato-Katz, Wet Mount, and formol-ether concentration diagnostic techniques for intestinal helminth infections in Ethiopia. ISRN Parasitol. 2013;2013:1–5. Disponible en: https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/180439/
- 56. International Organization for Standardization. ISO 15189:2012. Medical laboratories Requirements for quality and competence. 2012. Disponible en: <a href="http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue\_tc/catalogue\_detail.htm?csnumber=56115">http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue\_tc/catalogue\_detail.htm?csnumber=56115</a>
- 57. World Health Organization. Good Clinical Laboratory Practice (GCLP). 2008. Disponible en: <a href="http://www.who.int/tdr/publications/documents/gclp-web.pdf">http://www.who.int/tdr/publications/documents/gclp-web.pdf</a>
- 58. Ministerio de Salud. Ley N° 26842: Ley General de Salud. 1997. Disponible en: <a href="mailto:ftp://ftp.minsa.gob.pe/intranet/leyes/L-26842\_LGS.pdf">ftp://ftp.minsa.gob.pe/intranet/leyes/L-26842\_LGS.pdf</a>
- 59. Ministerio de Salud. Norma Técnica de Salud N° 021-MINSA/DGSP versión
   1.0. 2011. Disponible en:
   <a href="mailto:ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2012/RM546\_2011\_MINSA.pdf">ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2012/RM546\_2011\_MINSA.pdf</a>
- 60. Ministerio de Salud. RM Nº 588-2005- MINSA. Listados de Equipos Biomédicos Básicos para Establecimientos de Salud. 2005. Disponible en: ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2005/RM588-2005lparte.pdf
- 61. Ministerio de Salud. Norma Técnica Peruana Nº 050–MINSA/DGSP- versión 02. 2007. Disponible en: <a href="http://bvs.minsa.gob.pe/local/dgsp/000\_normaacreditacion.pdf">http://bvs.minsa.gob.pe/local/dgsp/000\_normaacreditacion.pdf</a>
- 62. Ministerio de Salud. Dirección General de Salud de las Personas. Dirección de Servicios de Salud. Norma técnica de salud de la unidad productora de servicios de patología clínica. NTS Nº 072-MINSA/DGSP-versión 01. 2009. Disponible en: <a href="http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/1457.pdf">http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/1457.pdf</a>
- 63. Beltrán Fabián de Estrada, María; Tello Casanova, Raúl; Náquira Velarde, César. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Lima, Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2014. Disponible en:

- http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD\_PUBLICA/NOR\_TEC/2014/serie\_n ormas tecnicas nro 37.pdf
- 64. María Beltrán Fabián de Estrada. Control de calidad del diagnóstico de parasitosis intestinalis. Instituto Nacional de Salud. 2007. Disponible en: <a href="http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/Enteroparasitos/Guia\_%20Control\_Calidad\_Enteroparasitos.pdf">http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/Enteroparasitos/Guia\_%20Control\_Calidad\_Enteroparasitos.pdf</a>
- 65. Lumbreras H. Strongyloidiasis: Evaluación de la Técnica de Baermann modificada en Copa en el estudio de la strongyloidiasis. Revista Médica Peruana, 1963; 32: 119 126.

ANEXOS

ANEXO 01: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES*	VALOR FINAL	ESCALA	TECN. E INSTRUM.
Muestra fecal empleada para el PEEC	Material de referencia para evaluación de parásitos intestinales	Diluciones seriadas de la muestra fecal PEEC	Diluciones: 1:5, 1:10; 1:20, 1:40; 1:80; 1:160; 1:320; 1:640 y 1:1280	Ordinal politómica	Dilución
Sedimentación simple	Técnica de concentración de parásitos intestinales por sedimentación	Presencia o ausencia de	**Positivo: 1-2 x campo: ½ + 2-5 x campo: 1+ 6-10 x campo: 2+ >10 x campo: 3+	Ordinal Politómica	Microscopía en luz visible
Técnica de Sheather	Técnica de concentración de parásitos intestinales por flotación	estructuras parasitarias			

<sup>\*</sup>El reporte de resultados es según lo establecido en el Manual de Procedimientos para al diagnóstico de parasitosis intestinales del Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú (2014)

<sup>\*\*</sup>El reporte es según revisión microscópica a un aumento de 40X

# **ANEXO 02: MATRÍZ DE CONSISTENCIA**

TÍTULO: COMPARACIÓN DE UN MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN Y FLOTACIÓN PARA LA CONCENTRACIÓN DE PARÁSITOS INTESTINALES EN MUESTRAS FECALES EMPLEADAS PARA LOS PROGRAMAS DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD, LABORATORIO INMULAB DEL DISTRITO DE ICA, MARZO 2017

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	INSTRUMENTOS
General: ¿Existirán diferencias significativas entre los resultados obtenidos por un método de sedimentación en comparación con el método de flotación en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?	General: Comparar los resultados obtenidos por un método de sedimentación en comparación con el método de flotación en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad	General: Existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos por el método de Sheather en comparación con el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad	Examen coproparasitológico directo	
Específico: ¿El método de Sheather permitirá obtener una mayor concentración de parásitos intestinales que el método por sedimentación simple en	Específico:  Determinar si el método de Sheather permite obtener una mayor concentración de parásitos intestinales que el método por sedimentación simple en muestras fecales emploados para el programa	en muestras fecales empleadas	Concentración por sedimentación simple	Microscopía en luz visible
muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?  ¿Existirá diferencias significativas entre los resultados obtenidos de la aplicación del método de	empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad  Comparar los resultados obtenidos de la aplicación del método de Sheather, sedimentación simple y	para el programa de evaluación externa de la calidad  Existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos de la aplicación del método de Sheather, sedimentación simple y Coproparasitológico directo en	Concentración por el método de flotación de Sheather	

Sheather, sedimentación simple y coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?

¿Cuál será el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?

¿Cuál será el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el examen coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad?

coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

Determinar el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

Determinar el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el examen Coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

Existe un nivel de concordancia baja entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el método de sedimentación simple en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

Existe un nivel de concordancia baja entre los resultados obtenidos del método de Sheather y el examen Coproparasitológico directo en muestras fecales empleadas para el programa de evaluación externa de la calidad

**ANEXO 03: COPROPARASITOLÓGICO DIRECTO SIMPLE** 

Observación: Ya que se está trabajando con un material para el programa

de evaluación externa de la calidad, este preparado ya viene fijado con MIF

(Merthiolate-Iodo-Formalina), razón por la cual no es necesario el uso de

luol y suero fisiológico para el examen Coproparasitológico directo simple.

Colocar una gota del pool de parásitos sobre una lámina portaobjeto, y

cubrir inmediatamente con una lámina cubre objetos.

Observar al microscopio rápidamente a 10X o 40X. No es aconsejable usar

objetivo de inmersión (100X), pues se puede ensuciar el microscopio.

Recorrer la lámina siguiendo un sentido direccional, ejemplo: de derecha a

izquierda, o de arriba a abajo.

Reporte de resultados: Semicuantitativamente; además de considerar los

estadíos biológicos de cada elemento parasitario.

Negativo (-) si no se observan elementos en toda la revisión

microscópica

½ (+) si se observa 1 a 2 elementos por campo microscópico a 40X;

o (+) si se observan de 2 a 5 elementos por campo microscópico a 40X;

o (++) si se observan de 6 a 10 elementos por campo microscópico a

40X;

(+++) si se observan >10 elementos por campo microscópico a 40X.

Ejemplo:

Huevo de Enterobius vermicularis: ++

Quiste de Giardia lamblia: +++

Quiste de Endolimax nana: +

82

## **ANEXO 04: PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES SERIADAS**

- Se debe contar con el Pool de parásitos en un tubo (T1) en una cantidad de 5 mL como mínimo, para garantizar la ejecución de toda la batería de diluciones seriadas que se detallan a continuación.
- Pipetear según la siguiente tabla:

	T2	Т3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
Dilución (D)	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
Pool de parásitos (mL)	1 de (T1)	1 de (T2)	1 de (T3)	1 de (T4)	1 de (T5)	1 de (T6)	1 de (T7)	1 de (T8)	1 de (T9)
*MIF (mL)	4	1	1	1	1	1	1	1	1

*Preparación del MIF	
Solución A: Glicerol5	5,00 mL
Agua destilada2	00,00 mL
Merthiolate N.º 99 Lilly 1:1002	200,00 MI
Formaldehido2	25,00 mL
Solución B: Yodo5	,00 g
loduro de potasio1	0,00 g
Agua destilada1	00,00 mL
Agregar a cada gramo de heces 9,40 mL d	
solución B	

### ANEXO 05: TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN SIMPLE

- Aspirar 500 uL del pool de parásitos (para cada tubo con su dilución correspondiente) y colocarlo dentro de un tubo cónico de poliproplieno de 15 mL y enrasar hasta los 10 mL con suero fisiológico.
- Agitar enérgicamente el tubo por 15 segundos aproximadamente.
- Dejar en reposo de 30 minutos. En caso que el sobrenadante esté muy turbio, eliminarlo y repetir la misma operación con suero fisiológico.
- Aspirar la parte media del tubo con una pipeta y colocar 1 ó 2 gotas en una lámina portaobjeto.
- Aspirar el fondo del sedimento con una pipeta y depositar 1 ó 2 gotas del aspirado en los extremos de la otra lámina portaobjeto.
- Cubrir ambas preparaciones con láminas cubre objetos.
- Observar microscópicamente a 10 y 40X y reportar según lo indicado en el anexo 03.

# **ANEXO 06: TÉCNICA DE SHEATHER**

#### **Materiales**

- Tubos de ensayo 13 x 100 - Láminas portaobjetos.

- Laminilla cubreobjetos - Aplicador.

- Solución de azúcar (Ver recuadro) - Asa de platino.

Gradilla para tubos de ensayo
 Suero fisiológico.

- Embudo de vidrio - Gasa.

#### **Procedimiento**

- Aspire 500 uL del pool de parásitos y coloque dentro de un tubo 13 x 100mm.

- Agregue la solución de azúcar hasta 1 cm del borde del tubo; agite hasta disolver el sedimento, centrifugue a 2500 rpm por 3 minutos, complete con la solución de azúcar hasta el borde y espere de 2 a 5 minutos la formación de un menisco.
- Con la ayuda del asa de platino, tome una muestra de la superficie del menisco y colóquela en una lámina portaobjeto; cubra con una laminilla y observe al microscopio. En caso de observar coccidios, de la superficie del preparado tomar, con el asa de platino o con una pinza curva, una muestra para preparar un frotis para teñir por el método de Kinyoun.

Preparación del azúcar de Sheather			
Sacarosa o azúcar blanca500,00 g			
Agua destilada	320,00 mL		
Formol (o fenol)10,00	mL (6,00 mL)		



# FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA

"Año al Buen Servicio del Ciudadano" CARTA Nº 039 FMHyCS-EPTM/UAP-FI/17

Ica, 20 de Marzo del 2017

Señor:

ALFREDO MELQUIADES ARONES HERNANDEZ GERENTE GENERAL. LABORATORIO IMMULAB.

PRESENTE .-

Asunto:

Solicito permiso para realizar la Comparación de muestras de laboratorio (Pull de Parasitos).

Tengo a bien dirigirme a usted por medio de la presente para saludarle, en representación de la Universidad "ALAS PERUANAS", y a la vez solicitarle a su digno despacho, licencia para realizar la ejecución de plan de tesis titulado: "COMPARACIÓN DE UN MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN Y FLOTACIÓN PARA LA CONCENTRACIÓN DE PARÁSITOS INTESTINALES EN MUESTRAS FECALES EMPLEADAS PARA LOS PROGRAMAS DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD, LABORATORIO INMULAB DEL DISTRITO DE ICA, MARZO 2017"

Dicha Recolección de datos estarán sujeta por el Bachiller TOVAR MOLINA VICTOR ALEJANDRO, quien está a ejecutando su Plan de Tesis.

Los días de la ejecución serán en el mes de Marzo del presente.

Sin otro particular que deba de informar a Ud. me despido, agradeciendo la atención prestada a la presente

Atentamente

Lic. Alfredo Arones Hernández TECNÓLOGO MEDICO CTMP. Nº 3818

MULAB

# GALERÍA DE IMÁGENES



Imagen 1. Materiales utilizados para la preparación del azúcar de Sheather



Imagen 2. Preparación de las diluciones seriadas a partir del pool de parásitos



Imagen 3. Quiste de *Giardia lamblia* obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)



Imagen 4. Huevo de *Enterobius vermicularis* obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)



Imagen 5. Larva de *Strongyloides sp.* obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)

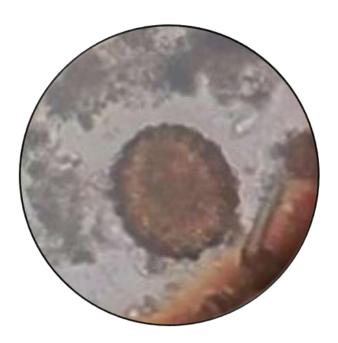


Imagen 6. Huevo de *Ascaris lumbricoides* obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)

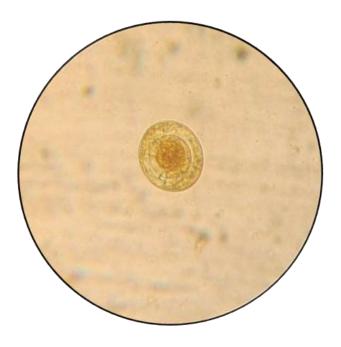


Imagen 7. Huevo de *Hymenolepis nana* obtenido de la técnica de Sheather (Aumento: 40X)