

**FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
DR. JOSÉ ASSEF YARA
CIEGO DE AVILA**

**Utilización de la técnica de Ritchie modificada en el diagnóstico de protozoos
Use of the modified Ritchie technique in the diagnosis of protozoa**

María Lina Jiménez Pardo(1); Yudith Hernández Valdés(2); Miriam López González(2); Adelina Wong Jiménez(2); Adolfo Oliver Santisteban(3); Fernando Gispert Muñoz(4).

RESUMEN

Se evaluó la técnica de Ritchie para el diagnóstico de protozoos y se sustituyó el éter por la nafta. Se estudiaron 400 muestras de heces fecales y se compararon los resultados obtenidos por el examen directo para protozoos, y técnica de Ritchie con éter y nafta. Los resultados mostraron la utilidad de la técnica de Ritchie con nafta al sustituir el éter por nafta en el diagnóstico de protozoos y de estos fundamentalmente la *Giardialamblia* con un 18,0 % de pacientes diagnosticados positivos por un 11,5 % a través del examen directo. La técnica es simple conocida por los técnicos y lleva pocos recursos, por lo que puede ayudar a un mejor diagnóstico.

Palabras clave: PARÁSITOS, DIAGNÓSTICO, HECES, PARASITOLOGÍA

- 1- Investigadora Auxiliar. Profesora Asistente de Microbiología. Facultad de Ciencias Médicas Ciego de Ávila.
- 2- Técnica de Laboratorio Clínico. Facultad de Ciencias Médicas Ciego de Ávila.
- 3- Doctor en Ciencias Veterinarias. Profesor Instructor de Microbiología. Facultad de Ciencias Médicas Ciego de Ávila.
- 4- Profesor Instructor de Microbiología. Facultad de Ciencias Médicas Ciego de Ávila.

INTRODUCCIÓN

La prevalencia del parasitismo intestinal es alta en muchos países del mundo y la presencia de parásitos puede estar asociada a diferentes causas entre ellas factores higiénicos sanitarios que son los de mayor incidencia según lo reportan varios autores (1,2).

El diagnóstico de los parásitos intestinales presentes en la población es cada día más necesario y más aún en los países subdesarrollados donde son causa de la mayor parte de las diarreas presentes en niños (3), es importante actuar sobre los factores ambientales y tener datos concluyentes y confiables sobre las personas afectadas de parásitos intestinales, pero no siempre están al alcance de la comunidad, técnicas altamente confiables como las que poseen los países desarrollados, por lo cual se hace vital analizar dentro de nuestras limitaciones como podemos llegar a emitir diagnósticos con bajo índice de falsos negativos y que ayuden al mejoramiento del estado de salud de la población.

El examen directo es en nuestras condiciones el menos costoso, pero en muchas ocasiones para poder obtener un diagnóstico certero es necesario el examen seriado de al menos tres muestras, de ahí la importancia de poder utilizar otros métodos. En muchos laboratorios del país se ha empleado la técnica de Ritchie como complemento del examen directo, pero no se ha podido seguir con ésta por la carencia de éter reactivo adquirido en divisa y no al alcance de nuestras instituciones de salud, es por ello que nos hemos trazado como objetivo sustituir el éter por la nafta en la técnica de Ritchie y comprobar como son los resultados en el diagnóstico de protozoos, así como comparar con el método directo que es el tradicionalmente utilizado.

MÉTODO

Para llevar a efecto el trabajo se analizaron 400 muestras de heces fecales que se recibieron en el laboratorio de parasitología de la Facultad de Ciencias Médicas se efectuaron tres técnicas diagnósticas: directo (protozoos), técnica de Ritchie (1948) con éter (4) y técnica de Ritchie modificada con nafta destilada y se compararon las técnicas.

Para el análisis de las muestras se seleccionaron tres técnicos de laboratorio con más de 5 años de experiencia en el diagnóstico parasitológico, cada uno de ellos fue responsable del diagnóstico a través de una de las técnicas empleadas, para lo cual emitieron su diagnóstico independientemente del resultado que pudiera tener otro técnico.

La nafta utilizada fue adquirida en la empresa del petróleo de Ciego de Ávila y se destiló en los laboratorios de dicha empresa por personal técnico calificado y especialistas en la actividad. El análisis de los resultados se realizó a través de tablas calculando por ciento.

Técnica de Ritchie modificada con nafta

Ésta técnica es conocida como formol éter. Se usa para huevos, quistes y larvas, no importa la densidad que tengan. Se utiliza para protozoos y helmintos. Nosotros realizamos la modificación al introducir la nafta destilada.

PROCEDIMIENTO

1. Tomar una muestra de aproximadamente 3 g de material fecal y agregarle 30 ml de agua mezclándola de forma homogénea.
2. Filtrar la suspensión a través de un colador o gasa y ayudándose con un embudo llenar el tubo de ensayo a 2 o 3 mm antes del borde.
3. Balancear con otro tubo de ensayo lleno de agua y centrifugar durante un minuto a 2500 r.p.m.
4. Decantar el sobrenadante y agitar el sedimento; agregar agua hasta llenar el tubo (efectuar los pasos 3 y 4 las veces que sean necesarias hasta que el sobrenadante sea claro).
5. Agregar 4ml de formol al 10% durante 10 minutos.
6. Agregar 2 ml de nafta, tapar el tubo y agitar vigorosamente durante 30 seg. destapando lentamente para que el contenido no salga al exterior.
7. Centrifugar un minuto a 1500 r.p.m. Se observan cuatro capas: 1-nafta, 2-restos fecales, 3-formol, 4-sedimento.
8. Decantar el sobrenadante.
9. Agregar una gota de colorante al sedimento.
10. Colocar una gota del sedimento sobre un portaobjeto. Se observa la preparación en el microscopio con objetivo 10x y 40x.

PRECAUCIONES

Evitar que haya mecheros encendidos cuando se esté manipulando la nafta.

VENTAJAS.

Concentra bien quistes y todo tipo de huevos.

COLORANTES.

Puede prepararse con 20 ml de solución salina, 10ml de eosina, 5ml lugol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar los resultados del estudio observamos, tabla 1, que al utilizar la técnica de Ritchie con nafta y éter el número de muestras positivas a protozoos aumentó notablemente, 136 muestras fueron diagnosticadas positivas cuando se utilizó la nafta y 139 con el éter lo que difiere notablemente con respecto al directo que fue de 89, siendo esta diferencia más marcada en el diagnóstico de Giardia lamblia.

La implementación de técnicas confiables constituye una necesidad para el diagnóstico certero de las infecciones parasitarias la técnica de Ritchie (1948) es una técnica utilizada en nuestros laboratorios como método de diagnóstico de helmintos y protozoos ya que su empleo permite que pueda observarse

tanto un quiste de protozoo como un huevo de helminto y a la vez resulta más confiable, además es reportado su uso en investigaciones tanto para protozoos como helmintos (5,6), con resultados positivos. Al realizar la modificación con nafta tabla 1 observamos similitud en los resultados lo cual, según nuestro estudio, demuestra la posibilidad de sustituir el éter por la nafta destilada.

Al destilar la nafta esta disminuye notablemente su contenido en grasas y evita la confusión de los técnicos en el momento del diagnóstico, consideramos es mucho mejor que la gasolina la cual ha sido recomendada como sustituto del éter (7), pero posee un alto contenido de grasas además de un olor mucho más fuerte que dificulta su manipulación. Las características antes mencionadas hacen que la gasolina no se utilice y sea rechazada por el personal de laboratorio el cual manifiesta no poder emitir diagnósticos confirmativos, porque, aunque sea destilada, debido a la gran cantidad de grasas que posee y otras impurezas la calidad es mala la muestra se ve sucia y puede confundirse la grasa con falsos quistes de protozoos, mientras con la nafta estas dificultades disminuyen a tal grado que es plenamente aceptada por los técnicos.

El diagnóstico de los protozoos generalmente se realiza por el examen directo de las heces fecales, pero puede dar falsos negativos (8), debido a que la excreción de quistes es intermitente y la infección no siempre se manifiesta (9) por lo que el examen de las heces fecales necesita, cuando no se tienen técnicas altamente específicas, al menos dos técnicas diferentes de diagnóstico. lo que, por supuesto se vería reflejado en el mejoramiento del estado de salud de la población, sin necesidad de recurrir a técnicas mucho más costosas como puede ser la de Elisa (10,11,12,13), la cual es muy confiable pero imposible de implementar sino se cuenta con un apoyo financiero alto, además de no reemplazar el examen microscópico de las heces fecales, ya que por éste se pueden observar quistes de protozoos y huevos de helmintos. Es por ello necesario evaluar la posibilidad de emplear otras técnicas y según los resultados obtenidos en el estudio, la de Ritchie con nafta puede ser una modificación a utilizar en la mayoría de los laboratorios y a tener en cuenta en muchos hospitales donde se practica la intubación duodenal para el examen del líquido duodenal en busca de *Giardialambli*a, teniendo como antecedentes resultados de exámenes anteriores negativos en los cuales generalmente el único método de diagnóstico utilizado ha sido el método directo, somos del criterio que muchas de estas intubaciones podrían evitarse.

CONCLUSIONES

Al utilizar la técnica de Ritchie modificada con nafta los resultados fueron similares a los obtenidos cuando se utilizó el éter.

Al comparar el método directo con la técnica de Ritchie se obtuvo un número mayor de muestras positivas tanto con nafta como con éter.

El diagnóstico de la *Giardialambli*a fue notablemente superior con la técnica de Ritchie con nafta y éter con respecto al directo.

SUMMARY

The Ritchie technique for the diagnosis of protozoa was evaluated, and ether was substituted for naphtha. As many as 400 sample collections were analyzed and Compared with the results obtained from the direct protozoa test as well as those of the Ritchie technique with ether and naphtha. Such results showed the usefulness of the Ritchie technique in which ether is substituted for naphtha in the diagnosis of protozoa. As much as 18.0% were tested positive by means of the Ritchie technique and 11.5% by means of the direct test. This technique is simple and well-known, and few resources are needed, so it can help improve diagnosis.

Key Words: PARASITES, DIAGNOSIS, FECES, PARASITOLOGY

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Madani AA, Mahfouz AA. Prevalence of intestinal parasitic infections among Asian female housekeepers in Abha District, Saudi Arabia. *Southeast Asian J Trop MedPublicHealth* 1995;26:135-7.

2. Gregory Juckett MD. Intestinal Protozoa. American Family Physician 1996; 6:2507-2511.
3. Navarro P, López A, Henández A, Jiménez L, Reyes H. Diarreas parasitarias: epidemiología y clínica de casos representativos. RevFund José María Vargas 1990; 14:13-6
4. Ritchie L. An ether sedimentation technique for routines tool examination. Bull US ArmyMedDept 1948;8:326-7.
5. Nuñez Fernández FA, Sanjurjo G, FinlayVillalvilla CM, Gálvez O. Estudio de dosis única de mebendazol para el tratamiento de Trichuristrichiura y Necatoramericanus en campañas de control. RevCubMedTrop 1989;41:371-8.
6. Chacin BL, Dikdan Y, Guanipa N, Villalobos R. Prevalencia de Entamoebahistolytica y otros parásitos intestinales en un barrio de municipio Mara, estado de Zulia Venezuela. InvestClin 1990;31:3-15.
7. Métodos básicos de laboratorio en parasitología médica. Editorial Ginebra. OMS, 1992; 5-8
8. Gregory Juckett MD. Intestinal protozoa. American FamilyPhysician 1996;6:2507- 2511.
9. Cook GC. Entamoebahistolytica and Giardialambliainfections: Currentdiagnosticstrategies. Parasite 1998;2:107-12.
10. Thompson RCA, Reinoldson JA, Mendis AHW. Giardia and giardiasis. AdvParasitol 1993;32:71160.
11. Jelinek T, Peyer G, Losher TH, Nothdurft H.Z Gastroenterol 1996;34:237-240.
12. Elkadi IA, Smith DH, Hommel M. Early diagnosis of giardiasisbyfaecalantigensdetectionusing capture Eisa in a cohort of children in theUnitedArabEmirates. Trans Roy SocTropMedHyg 1992;86:520.
13. Torre D, Fernández M, Brito T, Finlay C. Ensayo inmunoenzimatico de fase sólida para la detección de antígenos de Giardialamblia. Rev cubana MedTrop 1997;49:28-31.

Tabla 1. Muestras fecales estudiadas y protozoos diagnosticados por el método directo y por la técnica de Ritchie con nafta y éter.

Parásitos diagnosticados	N=400		N=400		N=400	
	M. Directo		T de Ritchie con nafta		T de Ritchie con éter	
	No	%	No	%	No	%
Giardialamblia	46	11,5	72	18,0	74	18,5
Entamoebahistolytica	41	10,2	62	15,5	63	15,7
Giardialamblia y E.histolytica	2	0,5	2	0,5	2	0,5
Total	89	22,2	136	34,0	139	34,7