



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

El laboratorio de microbiología ante las enfermedades parasitarias importadas

Pablo Martín-Rabadán^{a,*}, Rocío Martínez-Ruiz^b, Juan Cuadros^c y Carmen Cañavate^d

^a Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, Consulta del Viajero, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Madrid, España

^c Servicio de Microbiología Clínica y Parasitología, Hospital Príncipe de Asturias, Campus Universitario, Alcalá de Henares, Madrid, España

^d Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 15 de febrero de 2010

Aceptado el 9 de marzo de 2010

On-line el 6 de octubre de 2010

Palabras clave:

Parásitos

Protozoos

Helminths

Enfermedades tropicales

Diagnóstico

RESUMEN

El aumento de los viajes internacionales y la inmigración han convertido a las enfermedades parasitarias importadas en un reto diagnóstico cada vez más frecuente con el que los laboratorios de microbiología deben familiarizarse. En esta revisión se repasan las técnicas actualmente recomendadas para el diagnóstico de estas enfermedades. Para el diagnóstico de los parásitos hemáticos es siempre recomendable el examen microscópico de la muestra, adicionalmente, si se sospecha malaria se debe realizar un test rápido de detección antigénica que incluya al menos el antígeno HRP2. La detección de anticuerpos, el cultivo y en ocasiones el antígeno urinario y al menos 2 pruebas serológicas para confirmar el diagnóstico de tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas. Las técnicas de PCR de protozoos hemáticos suelen aportar mayor sensibilidad diagnóstica aunque en el caso de la enfermedad de Chagas en fase crónica no sirve para descartar infección. El diagnóstico de certeza de amebiasis habitualmente requiere de pruebas de detección antigénica o de PCR. En el diagnóstico de las helmintiasis los métodos microscópicos tradicionales deben complementarse con otros para mejorar la sensibilidad diagnóstica: El cultivo en placa de agar para estrongiloidiasis, la detección de antígeno Og4C3 en filariasis por *Wuchereria* y pruebas serológicas en filariasis y esquistosomiasis.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Clinical microbiology laboratory and imported parasitic diseases

ABSTRACT

Imported parasitosis represents an increasingly frequent diagnostic challenge for microbiology laboratories. A surge in immigration and international travel has led to a rise in the number of imported cases of parasitosis, and this trend is expected to continue in the future. The present article addresses this challenge by reviewing recommended diagnostic approaches and tests. Currently, microscopy is always recommended when analysing blood samples for parasites. If malaria is suspected, rapid antigen testing (including at least HRP2 antigen) should also be performed. The work-up for suspected leishmaniasis should include serology, culture, and in selected cases detection of antigen in urine. In suspected Chagas disease, two different serological tests should be performed. PCR for blood protozoa is highly sensitive, although it cannot be used to rule out Chagas disease, since this condition may be present without parasitemia. Accurate diagnosis of intestinal amebiasis usually requires PCR or antigen detection tests. In helminthiasis, traditional microscopy may need to be complemented with other tests, such as agar plate culture for strongyloidiasis, Og4C3 antigen detection for bancroftian filariasis, and antibody detection test for filariasis and schistosomiasis.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Parasites

Protozoa

Helminths

Tropical diseases

Diagnostic tests

Introducción

Se presenta una revisión del diagnóstico de laboratorio de parasitosis importadas que no son endémicas de la Península Ibérica. Por su importancia en zonas tropicales se han incluido

parasitosis potencialmente autóctonas como la leishmaniasis, la estrongiloidiasis y la amebiasis.

Este documento revisa los métodos diagnósticos actualmente recomendados solo se mencionan brevemente las técnicas propias de los laboratorios de referencia.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: pmartinra.hugm@salud.madrid.org (P. Martín-Rabadán).

Consideraciones clínicas

La colaboración estrecha entre los facultativos que atienden a viajeros e inmigrantes y los facultativos responsables del laboratorio facilita el alcanzar los objetivos diagnósticos optimizando los recursos. El primero debe facilitar los datos clínicos y epidemiológicos de utilidad diagnóstica y el segundo debe dar a conocer el valor diagnóstico y las limitaciones de las técnicas empleadas.

Las parasitosis intestinales frecuentemente cursan de manera asintomática o con síntomas abdominales inespecíficos. El estudio parasitológico en heces está especialmente indicado en los cuadros con diarrea prolongada o en eosinofilia.

El aumento del número de eosinófilos en sangre, a veces acompañado de lesiones cutáneas, de partes blandas o de órganos internos puede deberse a la presencia de helmintos intestinales o extraintestinales incluidas las formas quísticas de platelmintos. El diagnóstico sindrómico de larva migrans visceral es complejo y su confirmación serológica está dificultada por las frecuentes reacciones cruzadas entre helmintos.

Las enfermedades pulmonares de etiología parasitaria incluyen la paragonimiasis, el síndrome de Löeffler y la eosinofilia pulmonar tropical.

Las lesiones cutáneas agudas pueden deberse a esquistosomiasis, tripanosomiasis, miasis, tunguiasis. De evolución crónica suelen ser las causadas por filarias, *Leishmania* o cisticerco¹.

Respecto a los protozoos hemáticos, la malaria se debe descartar en todo paciente febril procedente de zona endémica. La forma aguda de tripanosomiasis africana es una causa poco frecuente de síndrome febril en viajeros. La babesiosis debe considerarse en pacientes febriles procedentes de Norteamérica y en esplenectomizados. La leishmaniasis visceral (LV) se caracteriza por fiebre, hepatoesplenomegalia, y pancitopenia, y debe incluirse en el diagnóstico diferencial de la esplenomegalia tropical. La enfermedad de Chagas en nuestro medio es habitualmente asintomática y ocasionalmente cursa con cardiopatía o dilatación de colon o esófago y, en inmunodeprimidos, lesiones cerebrales parenquimatosas. En todas estas protozoosis hemáticas hay casos de parasitemia asintomática y en cualquiera de ellas es posible la transmisión por transfusión de hemoderivados. La transmisión vertical debe ser descartada sistemáticamente en madres parasitadas por *Trypanosoma cruzi* o *Plasmodium* spp.².

Recogida y transporte de las muestras

Las directrices principales se incluyen en los procedimientos en microbiología clínica números 1, 7 y 30 y manuales más extensos³. En el presente documento haremos consideraciones específicas de las parasitosis importadas en España.

Muestras de heces: Se recogerán 3 muestras en días no consecutivos. En la strongiloidiasis crónica la rentabilidad del examen de heces es baja⁴. Si el examen se va a demorar es necesario utilizar productos fijadores (por ejemplo SAF o formalina al 10%) que, por el contrario, no deben usarse para detección de antígenos de *Entamoeba histolytica* o para técnicas de PCR (en tales casos se mantendrán a 2–8 °C o a –20 °C, respectivamente). Para cultivo/migración de *Strongyloides* es esencial mantener la muestra a 22–35 °C.

Los gusanos y otros **parásitos macroscópicos** se envían en un recipiente con agua o suero salino y se conservan refrigerados a 2–8 °C.

Contenido **duodenal:** Es una muestra pocas veces recomendada que se obtiene por endoscopia, sondaje o cápsula entérica y se remite rápidamente al laboratorio en un recipiente con suero salino.

Sangre con sospecha de malaria: Debe extraerse inmediatamente, haya o no fiebre en ese momento. Para descartar la infección mediante microscopía se deben extraer muestras cada 6–12 h durante 48 h. La sangre puede ser obtenida por digitopunción o por venopunción en tubo con EDTA y en este caso las extensiones deben realizarse idealmente en menos de 30 min.

Sangre con sospecha de tripanosomiasis: Para el método de Strout se necesitan 3 ml de sangre sin anticoagulante. Para el microhematocrito se usan 0,5 ml de sangre anticoagulada. Para examinar la movilidad de los tripomastigotes la muestra deberá enviarse urgentemente al laboratorio para su inmediato procesamiento.

Sangre con sospecha de filariasis: Se deben remitir 10 ml de sangre anticoagulada. Para detectar *Loa loa* la extracción se hará a medio día y para filarias linfáticas a medianoche (durante el periodo habitual de sueño del paciente).

Suero (sangre sin anticoagulante): Además del método convencional, algunos ensayos serológicos y de PCR se pueden realizar con muestras de sangre secas en papel absorbente lo cual facilita el transporte desde zonas remotas.

Líquido cefalorraquídeo: Si se sospecha una enfermedad del sueño, Chagas cerebral o una meningoencefalitis amebiana se debe contactar urgentemente con el responsable del laboratorio.

Muestras de tejido: Para las sospechas de leishmaniasis cutáneas y de chancros de inoculación de tripanosomiasis son adecuadas las biopsias, los exudados o los aspirados tomados del borde de la lesión. Para el diagnóstico de LV, las muestras de elección son el aspirado o biopsia de médula ósea y la sangre anticoagulada. Las muestras de piel para buscar *Onchocerca* deben enviarse a temperatura ambiente añadiendo 2–4 gotas de suero fisiológico.

Orina: Para detectar *Schistosoma haematobium* en orina debe enviarse al laboratorio un volumen mínimo de 100 ml de orina, o mejor, toda la orina de 24 h. Si se envía un volumen bajo la rentabilidad aumenta si la muestra se recoge entre las 10–15 h del día y si se realiza ejercicio antes de recogerla. Se envía al laboratorio en un recipiente limpio y se refrigera o se añade un 1% de formol.

Todo tipo de muestras para pruebas de PCR: En general pueden conservarse a 4 °C durante 2–3 días y a –20 °C para periodos más largos.

Diagnóstico de las parasitosis intestinales importadas

Las parasitosis intestinales tienen una gran morbilidad por su gran prevalencia en países tropicales y subtropicales. Actualmente debido a la inmigración, los viajes internacionales, los cambios en la alimentación (ej. ingesta de carne o pescado crudo) y a la importación de alimentos, estamos asistiendo a un aumento de la incidencia de las parasitosis intestinales importadas, siendo frecuentes las infecciones mixtas.

Es importante desde el punto de vista diagnóstico y epidemiológico conocer el país de origen del paciente, su ruta migratoria, los mecanismos de transmisión de los parásitos, el potencial de aparición de casos secundarios y los periodos prepatentes (periodo de tiempo desde la parasitación hasta la forma diagnóstica en las heces).

El diagnóstico se basa en las características morfológicas de los parásitos observados, y debe realizarse un examen macroscópico, un examen microscópico en fresco de las heces sin conservantes y tras la concentración y, en ocasiones, tinciones específicas de ciertos parásitos. Se puede acceder a las tablas de diagnóstico morfológico del CDC en: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/MorphologyTables.htm>.

El resultado debe incluir el nombre taxonómico completo y las formas del organismo observadas: quistes, trofozoitos, ooquistes,

huevos, larvas, etc. Los protozoos saprofitos deben informarse advirtiendo de esta ausencia de patogenicidad⁵.

Recientemente se ha publicado una revisión sobre «Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales» en la que se incluye el diagnóstico de los parásitos intestinales⁶, por lo que tan solo haremos unas consideraciones adicionales.

Entamoeba histolytica

Es morfológicamente idéntica a *Entamoeba dispar* y *Entamoeba moshkovskii*. Para su diferenciación se pueden utilizar técnicas de detección de antígeno, PCR o cultivo con estudio de isoenzimas en muestras de heces sin conservante. Se debe descartar amebiasis en los pacientes diagnosticados de enfermedad inflamatoria intestinal. Existen distintos ensayos de inmunidad que tienen mayor sensibilidad que el examen microscópico aunque menor que la PCR, pero tienen la ventaja de estar comercializados. En el absceso amebiano el examen microscópico tiene una baja sensibilidad, por lo que se recomienda realizar PCR del material obtenido. Con respecto a la serología, se detectan anticuerpos a partir de la primera semana en más del 90% de pacientes con enfermedad invasiva; pueden permanecer elevados durante meses o incluso hasta 10 años después de la curación, lo que complica el diagnóstico al no poder distinguir entre infección actual o pasada⁷.

Cyclospora cayetanensis

Se debe descartar, especialmente, en pacientes procedentes de Nepal, América Central y del Sur. Su diagnóstico se basa en la observación de ooquistes inmaduros en fresco o mediante tinción de Kinyoun o de Ziehl-Neelsen modificado, auramina o autofluorescencia.

Strongyloides stercoralis

El diagnóstico se basa en la detección de sus larvas en heces, pero generalmente se eliminan en escasa cantidad y esporádicamente, por lo que la sensibilidad de los métodos habituales de concentración es baja⁸. Se requieren métodos específicos de migración/cultivo de larvas que también permiten detectar larvas de uncinarias y *Trichostrongylus* que deben realizarse especialmente en pacientes procedentes de áreas endémicas con eosinofilia o que vayan a recibir tratamiento inmunosupresor. Existen diversos métodos: cultivo en placa de agar, Harada-Mori, concentración de Baermann y cultivo con carbón, siendo el cultivo en placa de agar el método más sensible y recomendado⁹. Es imprescindible que las heces sean recientes y sin refrigerar. En todos los casos hay que manejar las muestras y cultivos con precaución, siempre con guantes, debido a la posible presencia de larvas filariformes, infectivas a través de la piel.

La demostración de anticuerpos frente a *Strongyloides* se utiliza como prueba de cribado o como complemento al diagnóstico. Existen varios ensayos de inmunidad comercializados; su sensibilidad es buena, aunque disminuye en pacientes con neoplasias hematológicas, presentando un alto valor predictivo negativo; pero pueden ocurrir reacciones cruzadas en pacientes con infección por filarias y otros nematodos.

Diagnóstico de otras helmintiasis

Para la detección de huevos y larvas de helmintos se debe observar la preparación con el objetivo de 10× dado su gran tamaño, usándose mayor aumento para examinar con más detalle

los huevos de menor tamaño (*Clonorchis*, *Opistorchis*, *Heterophyes* y *Metagonimus*).

Ascaris y *Trichuris* frecuentemente coexisten en el mismo paciente ya que los requerimientos para el desarrollo de los huevos infectivos en el suelo son los mismos.

Los huevos de *Fasciola* y de *Fasciolopsis* son muy semejantes en forma y tamaño, por lo que la diferenciación debe basarse en los datos clínicos y epidemiológicos. Los huevos de *Fasciola* y de *Dicrocoelium* pueden ser observados en las heces de pacientes que en días previos a la recogida de la muestra hayan comido hígado de animales parasitados.

Las únicas larvas que se encuentran en heces son las de *Strongyloides stercoralis*, pero si las heces sin conservantes permanecen a una temperatura cálida durante más de 24 h, los huevos de uncinarias y de *Trichostrongylus* pueden eclosionar y será necesario diferenciar morfológicamente sus larvas de las de *Strongyloides*.

Diagnóstico de laboratorio de la malaria

La malaria es la infección parasitaria importada por viajeros e inmigrantes más relevante porque puede ser rápidamente mortal y requiere un diagnóstico certero y rápido para instaurar el tratamiento de forma precoz y prevenir las complicaciones.

El diagnóstico actual de la malaria se basa en el uso combinado y secuencial de las pruebas rápidas de detección de antígenos proteicos del parásito (resultado en < 20 min) y la visualización posterior del parásito teñido con solución de Giemsa en una gota gruesa (resultado en 2 h) por un microscopista experto en muestras de sangre total capilar o venosa.

Se informará como mínimo si el paciente tiene o no malaria por *P. falciparum* y, cuando esté disponible el resultado de la microscopía, se añadirá al informe la identificación de especie y el grado de parasitemia. Debe informarse el porcentaje de hematíes parasitados (parasitemia baja: < 1%, moderada: 1-5%, alta: > 5%) y se recomienda añadir también el recuento absoluto (trofozoítos/ μ l).

Pruebas rápidas para el diagnóstico de la malaria (PRD)

Las PRD detectan antígenos específicos (proteínas) que producen los plasmodios y están presentes en la sangre de los individuos infectados, o de individuos previamente infectados que recibieron tratamiento en las 4 semanas previas. La sensibilidad de las PRD en el diagnóstico de las especies de *Plasmodium* no *falciparum* es baja y un test negativo no descarta una malaria por una especie distinta de *P. falciparum*. Por este motivo, y también para cuantificar la parasitemia, debe realizarse siempre la técnica de referencia que es la microscopía^{10,11}.

Las PRD se dividen básicamente en 2 grupos según el antígeno principal detectado:

- A) La proteína rica en histidina II (HRP-2) producida por *P. falciparum*. Algunas tarjetas añaden una segunda banda para detectar aldolasa, una enzima producida por todos los plasmodios.
- B) La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) producida por *P. falciparum* (PfLDH). Estas tarjetas suelen incorporar también la LDH producida por todas las especies de *Plasmodium* (PLDH).

Las PRD distinguen *P. falciparum* del resto de las especies, pero no pueden diferenciar entre *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium malariae*. En general, las PRD son rápidas (< 20 min), de fácil uso, con una cantidad mínima de pasos y reactivos,

reproducibles y, en la infección por *P. falciparum*, deben detectar densidades de al menos 100 parásitos/ μ l o tener una sensibilidad mínima del 95% en comparación con la microscopía realizada por un experto¹². La OMS ha publicado una lista con las PRD de fabricantes y distribuidores que cumplen la norma ISO13485:2003 y una evaluación inicial comparativa de los productos comercializados (www.wpro.who.int/sites/rdt).

En general, puede afirmarse que los métodos que detectan HRP-2 son algo más sensibles que los basados en PfLDH para el diagnóstico de la infección por *P. falciparum*. En la detección de *P. vivax*, la determinación de aldolasa y PLDH muestran una sensibilidad similar. No existen datos suficientes para evaluar los resultados con *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*¹³.

Usos especiales de las PRD

Diagnóstico en gestantes

Debido al secuestro placentario de los parásitos, en el diagnóstico de malaria en gestantes, las PRD que detectan HRP-2 son más sensibles que la microscopía.

Diagnóstico retrospectivo o remoto

La persistencia del antígeno HRP-2 puede ser útil para confirmar un diagnóstico previo de malaria en pacientes tratados de forma empírica en muestras de sangre extraídas hasta 14-21 días después de finalizar el tratamiento o de la resolución de los síntomas.

Usos no recomendados de las PRD

Autodiagnóstico en viajeros, por la dificultad en realizar e interpretar el test.

Control de tratamiento (los antígenos pueden persistir varias semanas tras la desaparición de los síntomas clínicos).

Diagnóstico microscópico de la malaria

Gota gruesa: El examen microscópico de la gota gruesa es la técnica de referencia para determinar la parasitemia y permite detectar densidades de hasta 5-20 parásitos/microlitro (0,0001%). No obstante, para obtener resultados fiables con la gota gruesa se necesitan microscopistas expertos y un estricto control de calidad.

Extensión fina: Esta técnica permite visualizar bien los hematíes parasitados y los plasmodios en sus diferentes fases de crecimiento y facilita la identificación de la especie. Sin embargo, es 30 veces menos sensible que la gota gruesa y debe emplearse siempre como complemento de esta en el diagnóstico de la malaria.

Procedimientos alternativos adicionales

- La PCR múltiple es útil para detectar parasitemias muy bajas e infecciones mixtas.

El interés clínico de las técnicas serológicas de detección de anticuerpos (IFI y ELISA) se limita al diagnóstico retrospectivo de procesos febriles en viajeros no inmunes y al estudio de pacientes procedentes de zonas palúdicas que presenten esplenomegalia. Para realizar el diagnóstico de esplenomegalia malárica hiperreactiva se requieren niveles de IgM elevados, títulos específicos antipalúdicos

elevados, residencia prolongada en una zona endémica y respuesta clínica e inmunológica a la medicación antipalúdica.

Diagnóstico de laboratorio de la leishmaniasis

Las leishmaniasis están causadas por protozoos flagelados pertenecientes al género *Leishmania* que dan lugar a una gran variedad de formas clínicas.

Examen microscópico

El diagnóstico de certeza de una leishmaniasis se realiza por observación directa de los parásitos teñidos con Giemsa, hematoxilina-eosina o Leishman. En las leishmaniasis cutáneas (LC) la observación microscópica es la técnica más empleada con una sensibilidad que varía entre el 50-80%. En la LV, el aspirado de médula ósea presenta una sensibilidad del 64-94% tanto en pacientes inmunocompetentes como en coinfectados con VIH. En estos últimos, la observación de amastigotes en extensiones de sangre periférica puede llegar ser positiva en alrededor del 50% de los casos.

Cultivo de *Leishmania* spp.

Parte del material de la biopsia, del aspirado o la capa leucocitaria de la sangre se pueden cultivar en medio de NNN (Novy-Nicolle-McNeal). Los cultivos se incuban a 27 °C, se examinan semanalmente en busca de promastigotes y se descartan como negativos después de cuatro semanas. En las LC la sensibilidad varía entre el 50-60% y disminuye en los casos crónicos y en las mucocutáneas. En la LV la sensibilidad del cultivo de médula ósea en pacientes inmunocompetentes es del 53-70% y en coinfectados por VIH varía del 50-100%. En estos enfermos el cultivo de células mononucleares de sangre periférica tiene una sensibilidad del 64-67%.

Diagnóstico molecular

Existen numerosos protocolos de PCR para la detección de ADN de *Leishmania* en una amplia variedad de muestras clínicas. Las dianas más utilizadas son el ARN de la subunidad pequeña ribosomal y el minicírculo del ADN del kinetoplasto (kDNA). En el diagnóstico de la LC y LMC, alcanza un 100% de sensibilidad. En la LV, oscila entre un 82-100% en el aspirado de médula ósea y en torno al 70-100% en sangre periférica. Además, mediante PCR es posible caracterizar de manera rápida el parásito presente en una muestra biológica, lo que puede ser muy útil para el manejo clínico de los pacientes¹⁴.

Se han desarrollado diversos protocolos de PCR cuantitativa en tiempo real (RTQ-PCR) para leishmaniasis que utilizan como dianas: la región conservada de los minicírculos de kDNA, el rRNA 18S y el rRNA de la subunidad pequeña del ribosoma.

Diagnóstico serológico

Existen numerosas técnicas serológicas para la detección de anticuerpos anti-*Leishmania* en pacientes de LV y LMC como la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ensayo de inmunoenzima, aglutinación directa e *immunoblot*. No obstante, la mayoría de ellos presenta una serie de limitaciones a tener en cuenta: i) los títulos de anticuerpos, aunque decaen tras el tratamiento, permanecen detectables durante varios años; ii) una proporción significativa

de individuos sanos de áreas endémicas tienen anticuerpos debidos a infecciones asintomáticas, y iii) pueden presentar reacciones cruzadas con enfermedad de Chagas, enfermedad del sueño, lepra, malaria, esquistosomiasis, lupus eritematoso, sífilis y con algunos procesos autoinmunes¹⁵. En nuestro entorno, la IFI es la técnica serológica de referencia considerándose positivos aquellos sueros con un título de anticuerpos $\geq 1/80$. Presenta una sensibilidad y especificidad que oscila entre el 80–100%. En pacientes coinfectados por *Leishmania* y VIH la serología es positiva solo en el 40–50% de los casos.

Se han comercializado varias pruebas inmunocromatográficas que utilizan el antígeno recombinante rK39 y se encuentran disponibles en el mercado. Un metaanálisis reciente que incluyó 13 estudios validados del dipstick rK39 en LV mostró unas estimaciones de sensibilidad y especificidad del 94% y 95%, respectivamente.

Métodos de detección de antígeno

La prueba de aglutinación con látex (KAtex[®]), detecta un antígeno carbohidrato de bajo peso molecular, estable al calor, en la orina de los pacientes con LV. Parece ser un buen indicador de leishmaniasis activa ya que se ha comprobado que la antigenuria se vuelve negativa después de un tratamiento con éxito y, además, es ajeno a la situación inmunológica del paciente. El KAtex[®] ha demostrado ser altamente sensible en pacientes coinfectados durante los episodios clínicos, cuando la carga parasitaria es alta. En 2 estudios realizados en España, encuentran una sensibilidad del 85,7% y 100% respectivamente¹⁶.

Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana)

Las pruebas diagnósticas más adecuadas varían dependiendo de la etapa de la infección en la que se encuentra el paciente. En el caso de una infección aguda o reciente se utilizarán técnicas de detección del parásito, mientras que si el individuo se encuentra en la etapa crónica en la que la parasitemia es baja, intermitente o nula, el diagnóstico se basará, fundamentalmente, en la determinación de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi*.

Microscopía

Durante la fase aguda, los tripomastigotes son abundantes en sangre periférica y su detección se realiza mediante pruebas parasitológicas directas como la observación microscópica en fresco, tinción Giemsa de gota gruesa o frotis sanguíneos o mediante técnicas de concentración como la prueba de Strout y el microhematocrito. Esta última mejora el redimiendo de la microscopía convencional y resulta muy útil para el diagnóstico de las infecciones congénitas¹⁷.

Métodos diagnósticos indirectos: xenodiagnóstico y cultivo

En la fase crónica, la detección de *T. cruzi* es difícil debido al bajo número de parásitos circulantes. La utilización de métodos parasitológicos indirectos como el xenodiagnóstico y el cultivo de sangre permiten demostrar su presencia pero resultan lentos y laboriosos y solo se realizan en laboratorios de referencia o en zonas endémicas.

Diagnóstico molecular

Las dianas más utilizadas son el kDNA y la secuencia repetida de ADN satélite. En ambos protocolos de PCR, es posible conseguir la detección de un solo parásito por mililitro de muestra, e incluso cantidades inferiores¹⁸. En la fase aguda es una herramienta diagnóstica más sensible que los métodos parasitológicos tradicionales mientras que en la fase crónica, la PCR es una prueba complementaria y es útil como criterio parasitológico de seguimiento del tratamiento tripanocida. Se han desarrollado protocolos de RTQ-PCR que utilizan las mismas dianas que la PCR tradicional de diagnóstico.

Diagnóstico serológico

Al comienzo de la enfermedad de Chagas se detectan anticuerpos del tipo IgM que desaparecerán precozmente, seguidos de IgG que permanecen toda la vida en ausencia de tratamiento. La detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* se puede llevar a cabo mediante técnicas que utilizan parásitos completos o fracciones antigénicas complejas o semipurificadas de epimastigotes y entre las que se encuentran la IFI, la hemaglutinación indirecta y el ELISA. Estos métodos son altamente sensibles, pero presentan reacciones cruzadas en leishmaniasis malaria, sífilis, toxoplasmosis, hepatitis, esquistosomiasis, artritis reumatoide, paracoccidiodomicosis, mononucleosis y enfermedades autoinmunes. Las nuevas técnicas serológicas que emplean antígenos recombinantes son más específicas que las que emplean extractos crudos del parásito. Dentro de este último grupo, destacan las tiras inmunocromatográficas que permiten obtener un resultado en 10–15 min.

Ningún ensayo serológico alcanza el 100% de sensibilidad y especificidad, de manera que el diagnóstico serológico de certeza continúa basándose en la concordancia de, por lo menos, 2 técnicas de principio y antígenos diferentes¹⁹. Cuando los resultados son discordantes, es necesario realizar otra prueba de confirmación y diagnóstico diferencial con otras enfermedades que pueden dar lugar a reacciones falsamente positivas.

Diagnóstico de la enfermedad del sueño (Tripanosomiasis africana)

La tripanosomiasis africana (TA) es una enfermedad propia del África subsahariana donde existen múltiples pequeños focos endémicos. Esta enfermedad tiene 2 variedades con importantes diferencias clínicas y epidemiológicas: la causada por *Trypanosoma brucei rhodesiense*, y la causada por *Trypanosoma brucei gambiense*.

El proceso es similar al descrito para *T. cruzi*: Si la parasitemia es muy alta puede bastar con un examen en fresco de plasma, o con una extensión y gota gruesa teñidas con Giemsa. Los métodos de Strout, la microcentrifugación y la centrifugación en mini columnas de intercambio aniónico mejoran la sensibilidad. También se deben examinar muestras de aspirado ganglionar, de las lesiones cutáneas y el líquido cefalorraquídeo. Para diagnóstico serológico se emplean técnicas de aglutinación en tarjetas y existen otras pruebas serológicas y de PCR disponibles en centros de referencia.

Diagnóstico de laboratorio de las filariasis

Diagnóstico de las filariasis linfáticas

Para su diagnóstico se debe examinar una muestra de sangre nocturna concentrada por filtrado o por lisocentrifugación,

identificándose *Wuchereria bancrofti* y *Brugia* spp. por su morfología tras teñirlas con Giemsa²⁰. La detección de anticuerpos puede resultar útil en casos sin microfilaremia detectable. Es habitual la reactividad cruzada con *Strongyloides*. La presencia de IgG4 específica se considera un marcador sensible de infección activa.

La detección de antígenos circulantes de filarias es probablemente el método diagnóstico más fiable para detección de *Wuchereria* y no necesita toma de muestra nocturna. Las cantidades de antígeno Og4C3 se correlacionan con la intensidad de la parasitación y resulta indetectable al año de realizar un tratamiento curativo²¹.

Diagnóstico de la oncocerquiasis

Esta parasitación puede confirmarse mediante la visualización de las microfilarias en biopsias de epidermis, o en cámara ocular anterior, en el examen de los oncocercomas, en la respuesta sistémica o local a la dietilcarbamazina (test de Mazzoti y parche de DEC, respectivamente), en la detección de anticuerpos o de antígenos en suero y en técnicas de PCR en muestras cutáneas.

Diagnóstico de la loiasis

El diagnóstico de laboratorio se basa en la detección de filarias circulantes en sangre diurna empleando los métodos descritos para las filarias linfáticas. La detección de anticuerpos específicos del tipo IgG4 puede reforzar la sospecha diagnóstica en pacientes sin microfilaremia detectable.

Diagnóstico de la parasitación por *Mansonella* spp.

Tres especies de *Mansonella* parasitan al humano: *Mansonella ozzardi*, *Mansonella perstans* y *Mansonella streptocerca*. Estas filarias son consideradas poco patógenas. Son causa de reacciones serológicas cruzadas y se deben tener en cuenta en el diagnóstico diferencial microscópico de filarias detectadas en muestras clínicas.

Diagnóstico de la esquistosomiasis

Hay 5 especies de *Schistosoma* que parasitan al humano. La esquistosomiasis intestinal la producen *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma japonicum* y *Schistosoma mekongi*. La esquistosomiasis urinaria la produce *Schistosoma haematobium*. En ocasiones *S. mansoni* y *S. haematobium* producen lesiones medulares y *S. japonicum* en el sistema nervioso central. La reacción cutánea a la penetración de las cercarias la pueden producir las especies antes mencionadas y también organismos similares (*Trichobilharzia* spp.) que parasitan aves acuáticas. El diagnóstico serológico mediante ELISA es el método más sensible para detectar infección por *Schistosoma* spp. pero los títulos pueden persistir positivos después de tratamiento eficaz.

Diagnóstico de laboratorio de la esquistosomiasis urinaria

Se debe examinar el sedimento de la totalidad de orina recogida en busca de huevos de *S. haematobium*. Como procedimiento alternativo puede pasarse la orina por un filtro de 12–20 micras de poro que después se extrae y se examina al microscopio.

Diagnóstico de laboratorio de la esquistosomiasis intestinal

El estudio de las heces puede realizarse por el método de rutina de concentración bifásica. El método de Kato-Katz es un sistema de evaluación microscópica que suele emplearse para trabajos de campo o para cuantificar la carga de huevos. En ocasiones en las que no se encuentren huevos en heces, el examen de biopsias de mucosa rectal puede resultar diagnóstico.

Pruebas de viabilidad de los huevos de *Schistosoma* spp.

Después de un tratamiento efectivo se pueden eliminar huevos no viables durante semanas o meses. La presencia de miracidios vivos dentro de los huevos indica una infección activa que debe ser tratada. La viabilidad se puede determinar observando el movimiento del miracidio dentro del huevo o tras eclosionar al contacto con el agua. Es imprescindible que la orina o las heces sean frescas, sin conservantes y sin refrigerar.

Artrópodos tropicales que parasitan humanos

Independientemente de la importancia de los artrópodos como vectores de enfermedades, se revisan los principales artrópodos de distribución tropical capaces de parasitar temporalmente al humano.

Miasis foruncular

Se denomina miasis a la parasitación por larvas de moscas²². En las miasis forunculares la larva de mosca se introduce en el tejido subcutáneo produciendo una lesión de aspecto foruncular por cuyo orificio central asoman los estigmas respiratorios de la larva. El diagnóstico se realiza en función de las características clínicas y epidemiológicas del cuadro y las anatómicas de la larva. El agente causal en América es la *Dermatobia hominis* y en África, *Cordylobia* spp.

Otras miasis

Cochliomyia hominivorax en Iberoamérica y *Chrysomya bezziana* en zonas tropicales del viejo mundo depositan los huevos en heridas a partir de las cuales las larvas se desplazan excavando túneles subcutáneos.

Otras moscas de distribución universal, como *Lucilia* spp., *Calliphora* spp., o *Sarcophaga* spp. pueden depositar sus huevos en lesiones ulceradas y desarrollarse localmente. Se identifican genéricamente por la forma de los estigmas respiratorios.

Tunguiasis

Tunga penetrans es una pulga endémica de algunas zonas del África Subsahariana e Iberoamérica. La hembra atraviesa la piel y se suele alojar en las zonas subungueales o laterales de los pies. Tras penetrar la dermis, el abdomen de la pulga se dilata cargado de huevos produciendo un nódulo doloroso. Su tratamiento consiste en la expresión de la lesión o su apertura quirúrgica produciéndose la salida de numerosos huevos blanquecinos característicos de esta parasitación.

Pentastomiasis

Son organismos similares a artrópodos y a moluscos. Los 2 más importantes son *Linguatula serrata* que se adquiere al comer

hígado crudo y provoca tos y rinorrea sanguinolenta y *Armillifer armillatus* que se adquiere al consumir crudos carne de serpiente o alimentos contaminados con heces de ofidio y produce lesiones pseudoquisticas en vísceras o serosas. Se identifican por su morfología macroscópica.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- O'Brien BM. A practical approach to common skin problems in returning travellers. *Travel Med Infect Dis.* 2009;7:125–46.
- López-Vélez R, Martín Echavarría E, Pérez Molina JA. Guía de enfermedades infecciosas importadas. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, Centro de Publicaciones; 2008. Disponible en: <http://www.060.es>.
- Métodos básicos de laboratorio en parasitología médica 1991 Organización Mundial de la Salud. Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/publications/9243544101_\(part1\).pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/9243544101_(part1).pdf) [http://whqlibdoc.who.int/publications/9243544101_\(part2\).pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/9243544101_(part2).pdf).
- Loufty MR, Wilson M, Keystone JS, Kain KC. Serology and eosinophil count in the diagnosis and management of stroglyoidiasis in a non-endemic area. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;66:749–52.
- García LS. *Diagnostic Medical Parasitology*, 5ª ed. ASM Press; 2007.
- Vila J, Álvarez-Martínez MJ, Buesa J, Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009;27:406–11.
- Fotodar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:511–32.
- Pardo J, Pérez-Arellano JL, Galindo I, Belhassen M, Cordero M, Muro A. Diagnóstico de helmintiasis importadas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25:329–35.
- Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of Strongyloides stercoralis infection. *Clin Infect Dis.* 2001;33:1040–7.
- Warrell DA, Gilles HM. Diagnostic methods in malaria. En: Gilles HM, editor. *Essential Malarology*, 4ª ed. Oxford University Press; 1993. p. 78–95.
- Wongsrichanalai CM, Barcus MJ, Muth S, Sutamihardja A, Wernsdorfer WH. A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77(Supl 6):119–27.
- Cuadros J, Martín-Rabadán P, Merino FJ, Delgado-Iribarren A, García-Bujalance S, Rubio JM. Malaria diagnosis by NOW ICT and expert microscopy in comparison with multiplex polymerase chain reaction in febrile returned travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26:671–3.
- Murray CK, Gasser Jr RA, Magill AJ, Miller RS. Update on rapid diagnostic testing for malaria. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:97–110.
- Reithinger R, Dujardin JC. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. *J Clin Microbiol.* 2007;45:21–5.
- Chappuis F, Sundar S, Hailu A, Ghalib H, Rijal S, Peeling RW, et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? *Nat Rev Microbiol.* 2007;5:873–82.
- Riera C, Fisa R, Lopez R, Ribera E, Carrió J, Falcó V, et al. Evaluation of a latex agglutination test (KAtex) for detection of *Leishmania* antigen in urine of patients with HIV–*Leishmania* coinfection: value in diagnosis and post-treatment follow-up. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004;23:899–904.
- Flores-Chávez M, de Fuentes I, Gárate T, Cañavate C. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas importada. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25(Supl 3):29–37.
- Portela-Lindoso AA, Shikanai-Yasuda MA. Chronic Chagas' disease: from xenodiagnosis and hemoculture to polymerase chain reaction. *Rev Saude Publica.* 2003;37:107–15.
- Control of Chagas' disease. Ginebra: World Health Organization Press; 2002.
- Nanduri J, Kazura JW. Clinical and laboratory aspects of filariasis. *Clin Microbiol Rev.* 1989;2:39–50.
- Braga C, Dourado MI, Ximenes RA, Alves L, Brayner F, Rocha A, et al. Field evaluation of the whole blood immunochromatographic test for rapid bancroftian filariasis diagnosis in the northeast of Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2003;45:125–9.
- McGraw TA, Turiansky GW. Cutaneous myiasis. *J Am Acad Dermatol.* 2008;58:907–26.