

TRABAJOS ORIGINALES

Protozoosis intestinales en universitarios costarricenses

DOCTORES: ARMANDO RUIZ*

EDUARDO VINOCOUR*

Los protozoarios intestinales del hombre son en realidad simples comensales del tracto intestinal que necesitan de determinadas condiciones, como es el tipo de dieta, para poderse implantar en el mencionado medio, como acontece especialmente con los flagelados, pero que en circunstancias especiales dependientes de una serie de factores se pueden transformar en verdaderos agentes patógenos, como es el caso de *Entamoeba histolytica*, *Lamblia intestinalis* y *Balantidium coli*.

En nuestro medio, la alta prevalencia de este grupo de parásitos (sensu lato) es un índice de higiene deficiente, dado el mecanismo de trasmisión de estos microorganismos, en que la contaminación fecal de las manos y alimentos juega un importante papel.

La presente nota tiene por objeto dar a conocer los resultados obtenidos al examinar 714 muestras de heces de la población universitaria, utilizando para ello métodos de diagnóstico más exactos, que el simple examen directo y concentración que se emplea de rutina en los diversos laboratorios del país, con los cuales resultados se muestra la alta prevalencia de estas protozoosis en un grupo de personas que se podría considerar "normal", ya que trajeron su muestra de heces con el único fin de llenar un requisito para la ficha médica.

MATERIAL Y METODOS

Se examinó 714 muestras de heces de estudiantes universitarios, las cuales se procesaron de la siguiente manera:

- a) De cada muestra se efectuó por lo menos dos preparaciones sobre cubre-objetos, fijándolas inmediatamente en solución alcohólica de bicloruro de mercurio y tñéndolas luego según el proceso de Heidenhaim para la tinción con hematoxilina férrica, haciendo la diferenciación por zonas de acuerdo con Gönner y Westphal (1936b).

* Departamento de Parasitología. Universidad de Costa Rica.

- b) De cada muestra de heces se efectuó la siembra de un par de tubos con aproximadamente 0.1 g. de la misma en un medio consistente de suero de buey coagulado más un sobrenadante preparado según Westphal (1941) para su medio de cultivo para *Entamoeba gingivalis*. Se incubó a 37°C haciendo la lectura a las 48 horas. De cada cultivo se hicieron dos trasplantes, procediendo siempre de la misma forma y considerando una muestra negativa después de la tercer lectura.

A los cultivos, en que fue difícil la identificación de las amebas al examen directo, se les hizo tinción por la hematoxilina férrica según ya se mencionó, previa fijación en tubo con solución alcohólica de bicloruro de mercurio y adhesión al cubreobjetos por el método de Chen (1944).

Las preparaciones teñidas se examinaron cuidadosamente con el objetivo de inmersión.

RESULTADOS

El estudio minucioso de las muestras de heces siguiendo los procedimientos señalados reveló 488 personas parasitadas con uno o más protozoarios intestinales de las 714, que se examinaron, o sea un 68.34 por ciento.

La lista de protozoarios intestinales encontrados y su prevalencia se detallan en el cuadro 1.

COMENTARIOS

Los resultados anteriores nos indican que la prevalencia de los protozoarios intestinales en nuestra población es alta, dado el grupo en que se hizo el estudio. No escapa la importancia enorme que tienen estas personas parasitadas en relación con la comunidad, en el sentido de que siendo personas asintomáticas diseminan constantemente los elementos evolutivos de resistencia, facilitando así la propagación de estos parásitos. Esto cobra mayor interés cuando se trata de protozoarios potencialmente patógenos como la *Entamoeba histolytica* y *Lambliia intestinalis*.

Por otra parte, conociendo el mecanismo de trasmisión de este tipo de parásitos y observando que el 68.34 por ciento de las personas del grupo estudiado presentan uno o más protozoarios intestinales, resulta evidente que tanto la higiene personal como las condiciones higiénicas ambientales son bastante deficientes entre nosotros.

Dada la bondad de los métodos empleados y el hecho de una observación cuidadosa se pudo determinar en una muestra de heces formas evolutivas que en un examen de rutina pasan inadvertidas. Así, si se compara nuestros resultados con los obtenidos por Jiménez (1958) en un grupo semejante de estudiantes universitarios, se observan diferencias notables con determinados protozoarios, precisamente aquellos con los cuales para un buen diagnóstico, se precisa de tinciones como la hematoxilina férrica. En efecto, es indiscutible y así lo han señalado diversos autores (Gönnert y Westphal, 1936a; Amaral, 1951; Ruiz y Lizano, 1954; Brooke *et al.*, 1954; Barreto, 1960; Spencer y Monroe, 1961 y Brooke *et al.*, 1963) que el uso de preparaciones teñidas con hematoxilina férrica facilita el reconocimiento y diferenciación de la *Entamoeba histolytica*, sobre todo

en la fase vegetativa, la cual, por la circunstancia de que en nuestro medio las muestras son llevadas al laboratorio algunas horas después de emitidas, se puede encontrar en evidente estado de alteración, lo que ciertamente no permite mostrar la mayoría de las veces sus características normales en las preparaciones a fresco. También hemos encontrado que resulta muy útil en la identificación de los quistes, los que no siempre pueden ser reconocidos a fresco.

Por otra parte el empleo de medios de cultivo nos permitió descubrir la *E. histolytica* en muestras que al examen microscópico resultaron negativas. El uso de cultivos ha sido preconizado por diversos autores (Gönnert y Westphal, 1936a; Craig, 1948, Hoare, 1949; Simitch *et al.*, 1954; Norman y Brook, 1955; Robledo *et al.*, 1959; Spencer y Monroe, 1961) como un método útil para evidenciar casos de esta parasitosis, ya que es una de las amebas que mejor cultiva.

Es importante recalcar aquí la mayor prevalencia de *E. histolytica* (15.5 por ciento) encontrada por nosotros en la población estudiantil universitaria en comparación con un 4.6 por ciento referido por Jiménez (1958) quien trabajó con el mismo material humano, lo cual resulta explicable por las razones antes apuntadas.

Hemos considerado a la *Entamoeba hartmanni* como una buena especie, siguiendo el criterio de diversos autores (Reichenow, 1953; Burrows, 1957; Burrows, 1959; Ferriolli, 1962; Goldman y Gleason, 1962; Brooke *et al.*, 1963; Burrows, 1964). La identificación y diferenciación de *E. histolytica* se hizo exclusivamente en preparaciones teñidas con hematoxilina férrica y vale recordar aquí que no se debe confundir esta ameba con la llamada forma "minuta" o fase comensal de la *E. histolytica*. Es importante diferenciarla de esta última especie, ya que *E. hartmanni* nunca es patógena. En Costa Rica no se hace de rutina esta diferenciación, por lo que no se conoce con certeza su frecuencia.

La prevalencia encontrada por nosotros de 7.8 por ciento entre los estudiantes universitarios resulta ser más baja que en otros grupos de población, en donde hemos encontrado una mayor frecuencia.

Brooke *et al.* (1963) encontraron 34 por ciento de las personas examinadas en Volcán de Buenos Aires parasitadas por *E. hartmanni* y Hunter *et al.* (1965) un 12.7 por ciento en un estudio parasitológico en tres comunidades costarricenses, si asumimos que la totalidad de los casos encontrados por estos autores de la llamada raza pequeña de *E. histolytica* corresponden a *E. hartmanni*.

La *Endolimax nana* es la ameba que apareció con más frecuencia en nuestro estudio (29.3 por ciento). Prevalencias altas refieren también Brooke *et al.* (1963) con un 49 por ciento y Hunter *et al.* (1965) con un 56.1 por ciento. Es conveniente indicar aquí que los informes y las publicaciones de nuestras Instituciones públicas en que se señalan bajos porcentajes de prevalencia para esta ameba, sugieren una deficiencia en la realización de los exámenes de heces.

La *Dientamoeba fragilis* merece especial atención. En primer término porque algunos autores (Burrows *et al.*, 1954; Swerdlow y Burrows, 1955) le confieren cierto grado de patogenicidad y en segundo lugar porque esta ameba, aunque es frecuente entre nosotros, no se diagnostica en los exámenes de rutina. La razón de ello es obvia en nuestro medio y no merece comentario. De todas maneras, para un diagnóstico de certeza de este rizópodo son condición necesaria las preparaciones teñidas con hematoxilina férrica, aunque un buen parasitólogo

puede reconocerla en un examen de heces a fresco o por lo menos sospechar su presencia, sobre todo si las heces son recién emitidas. En nuestro medio la *D. fragilis*, además de pasar inadvertida es confundida con relativa frecuencia con trofozoitos de *Endolimax nana*, *Entamoeba hartmanni* o *Entamoeba histolytica*. Debemos mencionar aquí que la *D. fragilis* cultiva fácilmente, por lo que, el uso de medios de cultivo apropiados permite evidenciarla con facilidad.

Ruiz y Alfaro (1958) comunicaron por primera vez la presencia de *D. fragilis* en Costa Rica. Brooke *et al.*, (1963) refieren el primer dato sobre su prevalencia en Volcán de Buenos Aires, donde encontraron un 16 por ciento. Nosotros encontramos entre los estudiantes universitarios examinados un 12.6 por ciento y creemos que esta cifra corresponda o esté cercana a la prevalencia general de este parásito, según se desprende de otras observaciones que hemos hecho en otros grupos de población.

Entre los flagelados el más frecuente fue la *Lambliia intestinalis* con un 9.8 por ciento de prevalencia, siendo además el más importante por ser potencialmente patógeno. En este caso, las personas parasitadas se pueden considerar como buenos reservorios de la infección y por lo tanto diseminadores de la misma. Como la *L. intestinalis* no cultiva en los medios usuales y exige para ello medios especiales y laboriosos obtenidos recientemente (Karapetyan, 1960) que no son prácticos para el examen diagnóstico, éste último se hace exclusivamente con el hallazgo de sus formas evolutivas en las heces. En este caso, las tinciones con hematoxilina férrica ayudan considerablemente a su identificación.

La *Retortamonas intestinalis* presentó una prevalencia del 0.8 por ciento. Este parásito referido entre nosotros por primera vez por Ruiz y Alfaro (1959), se halló tanto en las preparaciones teñidas con hematoxilina férrica como en los cultivos. Este flagelado cultiva bien, tanto a temperatura ambiente como a 37°C. Hay que mencionar aquí que es el primer informe sobre su prevalencia que se da en nuestro país. En preparaciones a fresco la *R. intestinalis* tiene cierta semejanza con un *Chilomastix* pequeño, por lo que puede confundirse con éste.

La *Iodamoeba bütschlii* y el *Balantidium coli* son dos protozoarios que parasitan el cerdo. Así, hemos encontrado en un grupo de 50 cerdos examinados un 40 por ciento de animales positivos por *I. bütschlii* y el 62 por ciento positivos por *B. coli*. Los resultados obtenidos en el grupo de estudiantes examinados con respecto a estos dos parásitos son bajos principalmente en el caso del *B. coli* en que sólo fue 0.3 por ciento. Siendo el cerdo la principal fuente de infección para el hombre, es de suponer que estos dos parásitos sean más frecuentes en las zonas rurales. En efecto si observamos los resultados obtenidos por Broke *et al.* (1963) y Hunter *et al.* (1965) notamos una mayor prevalencia de *I. bütschlii* y de *B. coli*. La incidencia de *Balantidium coli* en el hombre es siempre muy pequeña, ya que el *Balantidium* requiere de condiciones especiales para poderse implantar en el humano, puesto que éste no es un huésped normal para tal parásito.

Sin entrar a mayores comentarios podemos decir, al comparar nuestros resultados con los obtenidos en las diversas encuestas realizadas en el país y con los datos estadísticos de las diversas Instituciones de Salud, que es del todo evidente la importancia que tiene para el correcto diagnóstico el uso de métodos adecuados y el empleo de personal idóneo.

RESUMEN

Se examinaron 714 muestras de heces provenientes de estudiantes universitarios, utilizando para ello preparaciones teñidas con hematoxilina férrica y cultivos, con el objeto de identificar protozoarios intestinales. Se informa que el 68.34 por ciento de las muestras presentaron uno o más protozoarios y se indica el porcentaje de prevalencia de cada uno de ellos. Se hacen, además, los comentarios pertinentes.

SUMMARY

714 samples of feces from university students were examined, using ferric hematoxylin stain and cultures for intestinal protozoa. 68.34 per cent had one or more protozoa. The prevalence of each one is indicated and pertinent comments are made.

CUADRO 1

Frecuencia de Protozoarios intestinales en 714 muestras de heces examinadas

PROTOZOARIO	NUMERO DE MUESTRAS POSITIVAS	%
<u>Rizópodos</u>		
<i>Entamoeba histolytica</i>	111	15.5
<i>E. hartmanni</i>	56	7.8
<i>E. coli</i>	169	23.7
<i>Endolimax nana</i>	209	29.3
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	37	5.2
<i>Dientamoeba fragilis</i>	90	12.6
<u>Mastigóforos</u>		
<i>Trichomonas hominis</i>	45	6.3
<i>Chilomastix mesnili</i>	37	5.2
<i>Enteromonas hominis</i>	41	5.7
<i>Retortamonas intestinalis</i>	6	0.8
<i>Lambliia intestinalis</i>	70	9.8
<u>Ciliados</u>		
<i>Balantidium coli</i>	2	0.3

BIBLIOGRAFIA

- AMARAL, A. D.
1951. Procesos Laboratoriais diretos e indiretos para o diagnóstico amebíase. *Folia Clínica et Biológica*, 17: 157-164.
- BARRETO, M. P.
1960. Diagnóstico da amebíase crônica. Estudo comparativo de eficiência dos métodos de Faust & col. e de Tellemann-Rivas, usados sós ou combinados com o exame de esfregaços corados pela hematoxilina ferrica. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 2: 305-312.
- BROOKE, M.M., A. W. DONALDSON & E. BROWN
1954. An amebiasis survey in a veterans administration Hospital, Chamblee, Georgia, with comparison of technics. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 3: 615-620.
- BROOKE, M. M., N. GLEASON & F. MONTERO-GEI
1963. Intestinal parasites in a rural community of Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 11: 47-56.
- BURROWS, R. B., M. A. SWERDLOW, J. K. FROST & C. K. LEEPER.
1954. Pathology of *Dientamoeba fragilis* infections of the appendix. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 3: 1033-1039.
- BURROWS, R. B.
1957. *Entamoeba hartmanni*. *Am. J. Hyg.*, 65: 172-188.
- BURROWS, R. B.
1959. Morphological differentiation of *Entamoeba hartmanni* and *E. polecki* from *E. histolytica*. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 8(5): 583-589.
- BURROWS, R. B.
1964. Identification of *Entamoeba hartmanni* trophozoites from nuclear structure. *Am. J. Hyg.*, 79(1): 29-36.
- CHEN T. T.
1944. Staining nuclei and chromosomes in protozoa. *Stain Technology.*, 19: 83-90.
- CRAIG, C. F.
1948. Laboratory Diagnosis of Protozoan Diseases 2°, Ed. 384 pp. Lea & Febiger, Philadelphia.
- DOFLEIN, F. & E. REICHENOW.
1953. *Lehrbuch der Protozoenkunde*, 6° Afl. VIII+1213 pp. Gustav Fischer, Jena.
- FERRIOLLI, F.
1962. Prevalencia da *Entamoeba histolytica* e da *Entamoeba hartmanni* no Município de Ribeirão Preto, São Paulo (Brasil). *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, 4: 305-310.
- GOLDMAN, M. & N. N. GLEASON.
1962. Antigenic analysis of *Entamoeba histolytica* by means of fluorescent antibody. IV. Relationships of two strains of *E. histolytica* and one of *E. hartmanni* demonstrated by cross-absorption techniques. *J. Parasit.*, 48: 778-783.
- GONNERT, R. & A. WESTPHAL.
1936a. De la propagación de la *Entamoeba histolytica* en América del Sur. *Rev. Med. Germ. Ibero-Am.*, 9: 213-219.
- GONNERT, R. & A. WESTPHAL.
1936b. Zur Technik der Stuhluntersuchung auf Protozoen. *Arch. f. Schiffs. u. Tropenhyg.*, 40: 5-16.

- HOARE, C. A.
1949. *Handbook of Medical Protozoology*. XVI+334 pp. Bailliere, Tindall & Cox, London.
- HUNTER G. W.; Swartzwelder, J. C.; D. L. REDMOND; L. A. SHEARER; R. J. TONN;
R. VARGAS; M. ALFARO; J. A. ZÚÑIGA & C. RODRÍGUEZ.
1965. A survey of three Costa Rican communities for intestinal parasites. *Rev. Biol. Trop.* 13(1): 123-133.
- JIMÉNEZ-QUIRÓS, O.
1958. Parasitosis intestinal en el universitario costarricense. II. Protozosis. *Rev. Biol. Trop.* 6: 191-199.
- KARAPETYAN, A. E.
1960. Metodika Kultivipovaniya lamblii. *Tsitologiya*, 2: 379-384.
- NORMAN, L. & BROOKE, M. M.
1955. The use of penicillin and streptomycin in the routine cultivation of amebae from fecal specimens. *Am. J. Trop. Med.*, 4: 472-478.
- ROBLEDO, E., F. NAVARRETE & J. PORTILLA.
1959. Diagnóstico de Laboratorio de la Amibiasis y otras protozosis intestinales, "Medicina" Mex., 39: 209-214.
- RUIZ, A. & M. ALFARO.
1958. *Dientamoeba fragilis* en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 6: 201-203.
- RUIZ, A. & M. ALFARO.
1959. *Retortamonas intestinalis* (Wenyon et O'Connor) en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 7: 231.
- RUIZ, A. & C. LIZANO.
1954. Parásitos intestinales en niños. Estudio comparativo de los métodos diagnósticos usados. *Rev. Biol. Trop.*, 2: 29-36.
- SIMITCH, TSCH., Z. PETROVITCH & D. CHIBALITCH.
1954. Importance de la coproculture pour la recherche d'*Entamoeba dysenteriae* dans l'amibiase latente et chez les porteurs sains. *Arch. Inst. Pasteur, Algerie.*, 32: 96-102.
- SPENCER, F. M. & L. S. MONROE.
1961. *The color Atlas of Intestinal parasites*. XVIII+142 pp. Charles C. Thomas, Springfield.
- SWERDLOW, M. A. & R. B. BURROWS.
1955. *Dientamoeba fragilis*, an intestinal pathogen. *J. Am. Med. Ass.*, 158: 176-178.
- WESTPHAL, A.
1941. Ein Kulturverfahren für *Entamoeba gingivalis* und dessen Anwendung für die Differentialdiagnose von *E. gingivalis* und *E. histolytica*. *Dtsch. Tropenmed. Ztschr.*, 45: 685-690.