

RECOMENDACIONES PARA LA BÚSQUEDA DE HUEVOS DE *Enterobius vermicularis*

RECOMENDACIONES PARA LA BÚSQUEDA
DE HUEVOS DE *Enterobius vermicularis*

AUTORES:

TM. María Isabel Jercic Lara, PhD.

Jefe Sección Parasitología.

Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

TM. Alan Oyarce Fierro.

Encargado de Calidad. Sección Parasitología.

Subdepartamento de Enfermedades Infecciosas.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

REVISORES INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

Dra. Verónica Ramírez.

Jefe Subdepartamento Coordinación Externa.

Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Instituto de Salud Pública de Chile.

REVISORES EXTERNOS

TM. José Luis Cerva Cortés.

Laboratorio de Parasitología. Hospital Calvo Mackenna.

TM. Hernán Sagua Franco.

Magister en ciencia Biológicas mención Parasitología.

Universidad de Chile.

TM. Patricio Torres Hevia, PhD.

Profesor Titular.

Instituto de Parasitología Facultad de Medicina.

Universidad Austral de Chile.

T.M. Inés Zulantay A, PhD.

Representante Sociedad Chilena de Parasitología.

RECOMENDACIONES PARA LA BÚSQUEDA DE HUEVOS DE *Enterobius vermicularis*

RESUMEN

Los métodos diagnósticos dirigidos a la búsqueda de formas evolutivas de *Enterobius vermicularis* son de uso rutinario en los laboratorios clínicos del país y son de gran utilidad debido al bajo porcentaje de rendimiento que posee el examen parasitológico seriado de deposiciones en el diagnóstico de este parásito y además porque su fundamento guarda estrecha relación con el ciclo biológico de este nematodo.

Este documento, entrega las recomendaciones para la búsqueda de huevos y/o adultos de *Enterobius vermicularis*, desde la correcta obtención de las muestras, procesamiento de las mismas hasta el informe de resultados, incluyendo el control de calidad de la metodología empleada. La aplicabilidad de estas recomendaciones permitirá uniformar la realización de este examen en instituciones educativas y en los laboratorios clínicos del país que realicen exámenes parasitológicos.

ALCANCE

Estas recomendaciones aplican a los laboratorios clínicos del país, que ofrezcan estos exámenes entre sus prestaciones e instituciones de educación superior que impartan carreras que incluyan contenidos y competencias relacionados con la disciplina de Parasitología.

INTRODUCCIÓN

En un trabajo de Wendt y colaboradores, publicado en 2019 se menciona que más de un billón de personas en el mundo se encontrarían infectadas por *Enterobius vermicularis* con prevalencias cercanas al 20 % en prescolares y escolares. Sin embargo, en menores de 2 años, adolescentes y adultos los casos son esporádicos. Los autores consideran que el riesgo principal se presentaría en el grupo entre 4 a 11 años debido al ciclo ano-mano-boca, la onicofagia, problemas de higiene personal y en ambientes con deficientes condiciones sanitarias y hacinamiento.

La búsqueda de huevos de *Enterobius vermicularis* es el segundo procedimiento de diagnóstico de laboratorio de mayor demanda en el área de Parasitología en los laboratorios clínicos del país. Se estima, que al menos 466 laboratorios clínicos lo tienen disponible como una de sus prestaciones, según el total de adscripciones al Subprograma Coproparasitología del Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) ISP 2022.

Para su realización, se describen métodos basados principalmente en la observación microscópica de muestras obtenidas mediante métodos estandarizados de recolección diaria. La sensibilidad de los métodos, depende entre otros factores de:

- Adecuada selección del procedimiento y su correcta aplicación.
- Intensidad de la infección.
- Adecuada obtención, transporte y procesamiento de la muestra.
- Equipamiento disponible en óptimas condiciones.
- Diseño físico del laboratorio, el cual debe cumplir con los requerimientos de cada equipo que interviene en el procesamiento de las muestras, así como ajustarse a normas ergonómicas y de bioseguridad.
- Tiempo dedicado por el profesional a la observación de las muestras.
- Sólida formación y experiencia del profesional que realiza el examen.

En este contexto, es importante la correcta selección del método que el laboratorio realice y la competencia del profesional, respaldado esto último por una adecuada formación en la identificación microscópica de los huevos y adultos de *Enterobius vermicularis*, condiciones que se consideran fundamentales en la implementación que adecuada de este método.

Es importante destacar, que para el correcto diagnóstico de *Enterobius vermicularis* se requiere de un laboratorio con adecuado diseño de su planta física, correcta instalación y mantenimiento de los equipos, que permitan el desarrollo de buenas prácticas de laboratorio.

Para asegurar la calidad de los resultados emitidos, el laboratorio debe implementar un correcto control de calidad interno, tanto de la obtención y preparación de la muestra, como de la observación microscópica, evaluando sistemáticamente la competencia del observador. Lo anterior se complementa con la participación en un Programa de Evaluación Externa de la Calidad en que se incluya la posibilidad de envíos de muestras para la identificación de los huevos y/o adultos de este parásito.

De acuerdo a lo anterior, el objetivo de este documento es entregar las recomendaciones para la correcta selección y realización del método a emplear, asegurando así la calidad de la prestación realizada.

Para el diagnóstico directo de la Enterobiasis se proponen dos técnicas, ambas basadas en la observación microscópica de huevos y/o adultos recogidos en la obtención de la muestra. Es importante destacar que existen publicaciones que emplean los nombres de las técnicas como sinónimos, sin embargo, en esta recomendación se describen en forma independiente, basándose en que la mayor parte de la literatura así lo describe.

- Test de Graham: recomendado para la búsqueda en lactantes y niños menores de 12 años.
- Escobillado Anal: recomendado para adolescentes y adultos, en especial adulto mayor.

DESCRIPCIONES Y DEFINICIONES

Test de Graham: Método descrito en 1941 por Graham que permite adherir huevos y /o adultos de *Enterobius vermicularis* a una cinta adhesiva transparente, los que pueden ser identificados mediante observación microscópica.

Se recomienda su uso para el diagnóstico en lactantes y niños menores de 12 años. Igualmente su rendimiento es adecuado en adolescentes y adultos.

Escobillado Anal: Método sobre el cual no existe registro de autoría en la literatura. Su propósito es arrastrar huevos o adultos de *Enterobius vermicularis* por medio de la limpieza de la zona perianal con un trozo de gasa humedecida: Esta gasa es sumergida posteriormente en una solución fijadora que la cubre para preservar los elementos parasitarios presentes en la muestra.

Se recomienda su uso para el diagnóstico en mayores de 12 años en especial para adulto mayor.

Solución Fijadora: Suspensión homogénea de reactivos de rápida acción, cuyo objetivo es inactivar y preservar por tiempo prolongado la morfología de los estadios presentes en la muestra. Su propósito es disminuir los riesgos de contaminación con el estado infectante (parásitos, bacterias, hongos y virus) que podría contener la muestra para quien la transporte o manipule.

REAS: Reglamento sobre Manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de Salud.

DESARROLLO

En relación con el diagnóstico de laboratorio de *Enterobius vermicularis* por los dos métodos descritos en esta recomendación, se pueden mencionar los siguientes aspectos:

Ventajas:	Desventajas:
No invasivo.	Número de muestras, 5.
Permite diagnosticar fácilmente la presencia de huevos y ocasionalmente adultos de <i>Enterobius vermicularis</i> .	El tiempo que transcurre desde la toma de muestra hasta la entrega de resultado es prolongado.
Bajo costo.	Altamente dependiente del operador.
Ejecución preparativa simple.	Prolongada observación microscópica.
Específica y de sensibilidad adecuada.	La especificidad dependerá de la competencia del observador. La sensibilidad dependerá de la comprensión de las instrucciones, de correcta ejecución de la obtención de las muestras y del número de las muestras recolectadas.
Se pueden encontrar otros elementos parasitarios.	En el caso del test de Graham los huevos mantienen su potencial infectante o contaminante para el operador y el ambiente respectivamente.

OBTENCIÓN Y CALIDAD DE LAS MUESTRAS

En algunos Servicios de Salud del país, se ha decidido centralizar en un laboratorio la realización de la búsqueda de *Enterobius vermicularis*, ya sea para optimizar recursos o por las características geográficas del territorio relacionadas principalmente con las distancias entre los usuarios y los centros de diagnóstico. En estas circunstancias, es importante minimizar los riesgos de infección e integridad de las muestras durante la manipulación y el transporte, con el fin de garantizar la calidad de las mismas.

Solicitud de examen (ambas técnicas)

- La orden o formulario de solicitud de examen debe incluir al menos:
- Nombres y apellidos del paciente.
- Fecha de nacimiento.
- Número de C.I. (cédula de identidad).
- Sexo.
- Procedencia:
- Dirección completa de paciente.
- Establecimiento que deriva la muestra y su dirección.
- Nombre del profesional solicitante.
- Diagnóstico clínico o hipótesis diagnóstica.
- Fecha de la toma de muestra.
- Observaciones

Preparación del paciente (ambas técnicas)

Se debe tener especial atención en las siguientes condiciones para una correcta obtención de la muestra:

- Debe ser recolectada en la mañana, al momento de despertar.
- Obtener la muestra antes de ir al baño y previo al aseo personal en la zona anal.
- No usar pomadas, talco, cremas o aceites en la zona anal o perianal durante el periodo de recolección de las muestras, lo que podría dificultar la realización del examen.
- Las indicaciones de la toma de muestra deben ser SIEMPRE entregadas en forma verbal, escrita y si es posible de un esquema (dibujo) de cómo proceder.

Materiales para la obtención de la muestra

Test de Graham

- 5 portaobjetos de aproximadamente 75 mm x 25 mm limpios, no necesariamente estériles. No utilizados previamente.
- Cinta adhesiva transparente de 12,7 mm de ancho x 9 cm de longitud.
- Contenedor plástico o de cartón prensado para proteger los portaobjetos con las muestras. Él o los contenedores deben tener etiquetas para registrar los datos del paciente.
- Hoja impresa con las instrucciones para la recolección de las muestras.
- La hoja de instrucciones debe basarse en los aspectos generales detallados en los requisitos de la muestra en lenguaje sencillo y comprensible. Se pueden insertar dibujos simples que ayuden a la comprensión. Anexo 2

Nota: No se recomienda escribir sobre los portaobjetos, ya que podría dificultar la observación microscópica. La identificación del paciente puede hacerse con etiquetas colocadas en un extremo del portaobjeto quedando libres para no interferir en la lectura o bien identificar en el contenedor.

Escobillado Anal

- 5 gasas estériles dobladas de 5x5 cm, aproximadamente.
- Agua potable o suero fisiológico NaCl 0.15M.
- 1 frasco de plástico con etiqueta, no necesariamente estéril, de cierre hermético con 15 mL de fijador.
- Las alternativas para el fijador serían: PAF o SAF.

Nota: En el mercado, se encuentran disponibles sistemas desechables, los cuales no han sido evaluados en el país y cuya principal desventaja es su alto costo.

Tipo y técnica de obtención de la muestra

Test de Graham

Se deben recolectar 5 muestras por las mañanas en días sucesivos sin que el paciente lave o limpie el margen anal y perianal, de la siguiente manera, a partir del primer día:

- i. Idealmente utilizar guantes para la toma de muestra.
- ii. Despegar la cinta adhesiva transparente del portaobjeto tomándola desde su pestaña y sin despegar el borde de fijación quedando la superficie engomada hacia afuera.
- iii. Indicar al paciente que debe colocarse en decúbito ventral, se deben separar los glúteos.
- iv. Se debe aplicar repetidamente la superficie engomada en la región anal y perianal.
- v. Pegar la cinta adhesiva transparente sobre el portaobjetos, procurando dejarla lo más estirada posible en toda su extensión sin presionar con los dedos.
- vi. Colocar el portaobjeto ya utilizado en el contenedor para las muestras.
- vii. El paciente y/o la persona que haya colaborado en la toma de muestra debe eliminar los guantes y **lavarse muy bien las manos** después del procedimiento.
- viii. Repetir los pasos anteriores los días restantes hasta completar las 5 muestras.

Escobillado Anal

- i. Las muestras deben ser obtenidas sin aseo de la zona de anal y perianal.
- ii. El primer día de toma de muestra se debe limpiar el ano y la región perianal en forma repetida con la una gasa, previamente humedecida en agua o suero fisiológico.
- iii. Colocar la gasa utilizada en el frasco que contiene el líquido fijador.
- iv. Repetir los pasos anteriores los 4 días restantes hasta completar las 5 muestras.
- v. El paciente y/o la persona que haya colaborado debe eliminar los guantes y **lavarse muy bien las manos** después de realizar la toma de muestra.

Nota: Debe tenerse en cuenta que los huevos de *E. vermicularis* son infectantes a las pocas horas después que son depositados en la región perianal por la hembra, por lo que deben extremarse las precauciones de higiene durante y después de la toma de muestra.

Número de muestras y periodicidad de su recolección (ambas técnicas)

El periodo de recolección total de muestras para cada método comprende 5 días seguidos en que diariamente se colecta una muestra. El esquema propuesto obedece a la variación temporal postura de los huevos por la hembra en la región terminal del recto.

Contenedores para recolección de muestra

Test de Graham

Los portaobjetos deben ser entregados en un envase para su protección, que puede ser envueltos una bolsa de plástico, en caja de material plástico o cartón rígido. Los contenedores deben tener una etiqueta que permita identificar al paciente, fecha de la obtención de la muestra y procedencia.

Escobillado Anal

El paciente recibirá un paquete que incluye dos frascos, un frasco con las 5 gasas a utilizar y otro frasco con solución fijadora de cierre hermético y una etiqueta para escribir la identificación del paciente. Ambos frascos deberán ser entregados en un envase secundario que podría ser una bolsa de plástico.

Cantidad de la muestra por contenedor (ambas técnicas)

Por ser éste, un **examen cualitativo**, no existen recomendaciones sobre la cantidad de muestra.

Soluciones fijadoras

Test de Graham

Su uso no es necesario.

Escobillado Anal

La mayoría de las soluciones descritas previamente contienen sustancias reconocidamente biopeligrosas por lo que se hace indispensable que el personal conozca sus componentes, sus riesgos, medidas preventivas y primeros auxilios frente a accidentes de laboratorio. Por ello, debe existir información escrita como fichas de seguridad de cada uno de sus componentes en los manuales de procedimientos internos como también se debe mencionar el riesgo de intoxicación en las instrucciones entregadas al paciente, Anexo 2.

Como uno de los reactivos más empleados en la elaboración de soluciones fijadoras es el formaldehído, se mencionan en este documento consideraciones especiales para su manipulación en el Anexo 1.

Instrucciones para la obtención de muestra (ambas técnicas)

El laboratorio, además de entregar las indicaciones escritas, debe proporcionar instrucciones verbales idealmente con demostración del procedimiento a los pacientes o familiares responsables de la obtención de la muestra. Se recomienda que la persona responsable en el laboratorio solicite repetir las instrucciones para asegurar su comprensión. Las instrucciones escritas deben ser entregadas junto a los materiales y deben indicar los riesgos asociados y las conductas a seguir en caso de accidente. Anexo 2.

Conservación de las muestras (ambas técnicas)

Las muestras pueden ser conservadas durante varias semanas en un lugar fresco y alejadas de los niños. Pueden además ser transportadas a otras localidades sin necesidad de refrigeración, manteniéndose herméticamente cerradas.

SELECCIÓN DE LA TÉCNICA

Este documento recomienda el uso del Test de Graham para **lactantes y niños menores de 12 años**. En el caso de los **adultos**, se propone el método de Escobillado Anal.

En la literatura está publicado el trabajo “Pesquisa de infección por *Enterobius vermicularis* en niños de dos internados de la ciudad de Antofagasta. Comparación del método de Graham con una modificación del mismo” de los autores Sagua y Poblete (1976) que describe una sensibilidad de 74,1% para la Técnica de Graham y 72,3 % para una modificación metodológica, que contempla el uso de 5 trozos de cinta engomada de menor tamaño y distribuidas en un portaobjetos en lugar del uso de 5 portaobjetos independientes, uno por cada trozo de cinta engomada. Las ventajas de esta modificación según los autores estarían dadas por el menor costo y tiempo de observación.

En la Sección Parasitología del ISP no ha evaluado la modificación propuesta por Sagua y Poblete, por lo que recomienda a los laboratorios que la estén aplicando indicar como observación en el informe de resultado dicha referencia bibliográfica.

No se recomienda procesar muestras que no hayan sido tomadas con los requisitos establecidos por el laboratorio, lo que incluye modificación en el número de muestras o materiales empleados para el examen. En estos casos lo correcto sería entregar el material adecuado y solicitar una nueva muestra.

INFORME DE RESULTADOS (ambas técnicas)

Se recomienda emitir el informe de acuerdo a la reglamentación vigente para los laboratorios clínicos a nivel nacional. Además, se debe indicar el número de muestras examinadas.

- Si el resultado es negativo, es decir, no se observan elementos parasitarios, se informa de la siguiente manera:

Búsqueda de huevos de *Enterobius vermicularis*.

Test de Graham o Escobillado Anal.

(x) Número de muestras procesadas.

Resultado: **No se observan elementos parasitarios.**

Observaciones: xxx.

- Si el resultado es positivo, es decir, presenta estados evolutivos de *Enterobius vermicularis*, se informa de la siguiente manera:

Búsqueda de huevos de *Enterobius vermicularis*.

Test de Graham o Escobillado Anal.

(x) Número de muestras procesadas.

Resultado: **Huevos o adultos de *Enterobius vermicularis*.**

Observaciones: xxx.

Consideraciones para el informe:

- Se indica solo técnica empleada.
- Siempre se deberá mencionar el o los estados de desarrollo observados, tales como: huevo o adulto y el nombre científico del parásito, **correctamente escrito** y ciñéndose al Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.
- .- No utilizar abreviaciones.
- En el caso de encontrar secundariamente otros elementos parasitarios o de artrópodos en las muestras observadas estos deben ser informados.

REGISTROS (ambas técnicas)

Se recomienda registrar, ya sea en formato papel o digital de las actividades realizadas, las que deben incluir al menos la siguiente información:

- Nombre del paciente.
- N° de registro.
- Fecha del examen.
- Edad del paciente.
- Procedencia.
- Técnica empleada.
- Resultado obtenido.
- Número de muestras observadas o procesadas
- Nombre del observador.
- Motivo de rechazo de muestra
- Observaciones

CONTROL DE LA CALIDAD (ambas técnicas)

Control Interno

Se sugiere contar con un control interno del proceso que incluya todos los aspectos relevantes. Algunos de los indicadores posibles de evaluar, extraídos del Manual de Control de Calidad en el Laboratorio Clínico publicado por el Instituto de Salud Pública, son:

Se evalúa	Frecuencia	Indicador Expresado como porcentaje de muestras
Instrucciones al paciente	Trimestral	% de pacientes que comprenden las instrucciones. % de pacientes que recolectan bien la muestra. % de muestras mal tomadas.
Observación microscópica variación entre observadores	Trimestral	% de muestras positivas por profesional.

Otra alternativa para el control de calidad interno del Test de Graham podría ser contar con un número de láminas no inferior a 10, que incluyan:

- 5 láminas positivas con diferentes cantidades de huevos o adultos
- 5 láminas negativas

Se debe registrar por cada observador fecha de ejecución y valores obtenidos.

Cada laboratorio debe determinar la periodicidad con la que se realizará este control interno el cual deberá ser utilizado en etapas de entrenamiento y evaluación de las competencias de los profesionales que realizan la técnica.

Control Externo

Los laboratorios que ofrezcan la realización de este examen deben participar en algún Programa de Evaluación Externa de la Calidad que incluya el envío de muestras para la búsqueda de *Enterobius vermicularis*. Esto permitirá evaluar y mantener actualizado al personal en el reconocimiento de los estadios evolutivos de este parásito. Es necesario, que estas muestras sean analizadas como una muestra más dentro de la rutina de trabajo.

BIOSEGURIDAD (ambas técnicas)

Durante la obtención y el procesamiento de las muestras, al igual que para los otros exámenes de fluidos corporales, se deben guardar las precauciones contenidas en el Manual de Bioseguridad del laboratorio y seguir las buenas prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

Tener presente y aplicar las normas del reglamento sobre Manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de Salud (REAS, 2009) y decreto N° 594 sobre condiciones sanitarias y ambientales básicas en los lugares de trabajo (DECRETO DE SALUD N° 594/1999) que norman las condiciones mínimas de contaminantes en las áreas de trabajo.

Los portaobjetos o elementos empleados para el desarrollo del Escobillado Anal no pueden ser desechados en la basura común. Se debe disponer de un recipiente especial para eliminación de elementos corto punzantes y otro para residuos peligrosos que cumpla con el REAS.

INSTRUCCIONES PARA USO DE EQUIPO DE PROTECCION PERSONAL (EPP): (ambas técnicas)

Exigir en todo laboratorio donde se procese Test de Graham o Escobillado anal el uso de mascarilla simple como barrera para evitar la inhalación de huevos que son livianos y pueden estar flotando en el área de trabajo por un exceso de manipulación.

Uso de guantes que deben desecharse después de cada jornada de trabajo.

Considerar esta parasitosis como riesgo biológico en el laboratorio. La experiencia nos ha demostrado que se encuentran huevos con larvas móviles aún 2 días después de haber llegado las láminas al laboratorio a lo cual debe adicionarse los 5 días de toma de muestra.

Una vez terminada la ejecución de la técnica se deben limpiar los mesones, usando alcohol de 70° u otro desinfectante, en área de trabajo.

Para la desinfección del microscopio seguir las indicaciones del fabricante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atías A. 1999. Parasitología Médica. Editorial Publicaciones Técnicas Mediterránea Ltda. ISBN: 956-220-155-4.
2. International Commission on Zoological Nomenclature. International Code of Zoological Nomenclature. Fourth edition. Published by The International Trust for Zoological Nomenclature c/o The Natural History Museum, London, UK. 1999.
3. Instituto de Salud Pública de Chile. Manual de control de Calidad en el Laboratorio Clínico. Ministerio de Salud. 1998.
4. Ministerio de Salud. Decreto N° 594 sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales Básicas en los lugares de trabajo. 1999. Publicado en el Diario Oficial de 29 de abril de 2000.
5. Ministerio de Salud. DTO. N° 6: Reglamento sobre Manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de Salud (REAS). 2009.
6. Graham, C. F. 1941. A device for the diagnosis of *Enterobius* infection. Amer. J. Trop. Med. 21: 159-161.
7. Cuevas, R., Schenone, H., Silva, R., Galdamez M., Inzunza, E., Romero E. 1969. Prevalencia de infección por *Enterobius vermicularis* en un internado. Bol. Chil. Parasitol. 24:121-123.
8. Schenone, H., Arias B., Galdámez, M., Subiabre V., Cuevas R., Inzunza, E., Romero, E., Jiménez M. 1970. Rendimiento de los exámenes seriados en el diagnóstico de laboratorio de la infección por *Enterobius vermicularis*. Bol. Chil. Parasitol. 25:113-117.
9. Ministerio de Salud. DTO. N° 6: Reglamento sobre Manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de Salud (REAS). DTO. N° 6 de 2009.
10. Sagua H. y Poblete H. 1976. Pesquisa de la infección por *Enterobius vermicularis* en niños de dos internados de la ciudad de Antofagasta. Comparación del método de Graham clásico con una modificación del mismo. Bol. Chil. Parasitol. ,31:6-7.
11. Instituto de Salud Pública de Chile. Guía de Bioseguridad para Laboratorios Clínicos. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Agosto 2013.
12. Wendt S, Trawinski H, Schubert S, Rodloff AC, Mössner J, Lübbert C. The Diagnosis and Treatment of Pinworm Infection. Dtsch Arztebl Int. 2019 Mar 29;116(13):213-219. doi: 10.3238/arztebl.2019.0213. PMID: 31064642; PMCID: PMC6522669.
13. San Martín L, Frenzel A, Jeria ME, Torres P. 1981. Enterobiasis en pacientes adultos de los servicios de Oncología y Cirugía del Hospital de Valdivia, Chile. Bol. Chil. Parasitol. 36: 70-71

ANEXO 1

Recomendaciones para Laboratorios de Parasitología que empleen formaldehído o fenol en sus soluciones fijadoras.

Todos los laboratorios que empleen Formaldehído entre sus reactivos, deben ocupar campana de extracción de gases con capacidad suficiente para asegurar concentraciones inferiores al límite ambiental de 0,3 ppm (0,37 mg/m³) para exposiciones cortas.

En caso de no poseer este equipamiento los operadores deberán emplear elementos de protección personal para protección por vía aérea, piel o salpicaduras, tales como guantes, delantal, gafas y máscara facial. Si se pretende evitar completamente la inhalación de vapores, debe recurrirse a la utilización de equipos de protección respiratoria incluyendo filtros químicos del tipo BP3 y asegurar recambios de aire de la habitación.

Para el caso del uso de Fenol se recomienda utilizar ventilación por extracción localizada en el lugar de las emisiones químicas y aislar del resto del personal el proceso de manipulación. De lo contrario, se puede utilizar respiradores apropiados junto con el uso de elementos de protección personal.

Es importante mantener al personal continuamente informado de los riesgos a los que se encuentra expuesto, como minimizar estos riesgos y cómo actuar en caso de accidente.

El laboratorio puede evaluar el remplazo del formaldehído y otros reactivos nocivos para la salud en algunas metodologías. Sin embargo, debe mantenerse su eficiencia original, respaldada por una evaluación que asegure el rendimiento de los métodos, así como la preservación e inactivación efectiva de los parásitos.

ANEXO 2

INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA DE LOS MÉTODOS RECOMENDADOS

Test de Graham

- No se debe aplicar pomadas, talco ni otras sustancias en la región perianal durante los días en que se tomen las muestras.
- Recolectar 5 muestras, cada una en días consecutivos.
- Cada día se debe utilizar una placa de vidrio nueva con la cinta adhesiva transparente.
- Tomar la muestra en la mañana al despertarse. No realizarse previamente a la obtención de las muestras aseo anal ni perianal.
- Idealmente otra persona debe tomar la muestra al paciente siguiendo los siguientes pasos:
 - Despegar la cinta adherida de la placa y sujetar entre el pulgar y el dedo índice, con el lado engomado descubierto.
 - Con los dedos índice y pulgar de la otra mano, separar las nalgas del paciente y aplicar varias veces la cara engomada de la cinta alrededor del orificio anal, en forma radiada.
 - Adherir la cinta engomada nuevamente a la placa, alisándola con suavidad y cuidando que quede paralela al borde del portaobjetos.
 - Colocar la placa utilizada en el envase entregado por el laboratorio.
 - Escribir los datos del paciente solicitados.
 - Si no utilizó guantes desechables, lavarse las manos cuidadosamente con agua y jabón, utilizando una escobilla para uñas.
 - Secar con toalla de papel absorbente.

Escobillado Anal

- No se debe aplicar pomadas, talco ni otras sustancias en la región perianal durante los días en que se tomen las muestras.
- Tomar una muestra diaria, hasta completar 5.
- Retirar del frasco una gasa y humedecerla en suero fisiológico o gasa.
- Al despertar, limpiar varias veces el margen del ano, pliegues y zona anal, varias veces con una gasa humedecida en suero fisiológico o agua.
- Una vez realizada la limpieza introducir la gasa en el frasco 2 con la solución fijadora.
- Repetir este procedimiento durante 5 días consecutivos.
- Durante el tiempo del examen, conservar el frasco con la solución fijadora a temperatura ambiente, utilizando cada vez un nuevo trozo de gasa humedecida.
- Al finalizar la recolección, remitir al laboratorio el frasco que contiene las gasas.

NOTA: El contenido líquido del frasco es tóxico y debe permanecer fuera del alcance de los niños y en caso de ingesta accidental debe acudir de inmediato a un **servicio de urgencia** para recibir atención.

ANEXO 3

DESARROLLO DE LOS MÉTODOS RECOMENDADOS

Test de Graham

MATERIALES, INSUMOS Y EQUIPOS

- 5 portaobjetos de aproximadamente 75 mm x 25 mm limpios, no necesariamente estériles.
- Cinta adhesiva transparente de aproximadamente 12,7 mm de ancho.
- Contenedor plástico o de cartón prensado para proteger los portaobjetos con las muestras. El o los contenedores deben tener etiquetas para registrar los datos del paciente.
- Hoja impresa con las instrucciones para la recolección de las muestras. La hoja de instrucciones debe incluir los aspectos generales detallados en los requisitos de la muestra en lenguaje sencillo y comprensible.
- Microscopio óptico provisto de objetivo 10 X y 40 X.
- Frasco para desechos con solución desinfectante.
- Elementos de protección personal.

PREPARACION DEL MATERIAL

- Numerar 5 portaobjetos de 1 al 5 con lápiz graso o marcador permanente.
- Cortar 5 trozos de cintas adhesivas transparente de aproximadamente 9 cm.
- Adherir un trozo de cinta adhesiva en cada uno de los portaobjetos en el sentido de su eje mayor, cubriéndolos de un extremo a otro y dejando aproximadamente 1,5 cm de cinta sobresaliente.
- Doblar el trozo de cinta sobresaliente sobre sí mismo por la cara adhesiva, formando un asa, de la cual se pueda tirar suavemente para despegarla del portaobjeto.
- Colocar los 5 portaobjetos en el envase provistos por el laboratorio para su protección, en el que se debe anotar el nombre completo del paciente.

PROCESAMIENTO Y LECTURA

- Se requiere el uso de guantes y mascarilla para manipular y observar las muestras
- Las láminas se leen directamente, sin requerir preparación previa.
- Emplear objetivo de 10x y cuando hay que diferenciar entre un huevo y otro elemento o artefacto similar a los estadios del parásito, como burbujas de aire, utilizar el objetivo de 40x.
- Leer sistemática y ordenadamente toda la superficie de la cinta engomada, cuidando que los límites de los recorridos se superpongan entre sí, para no dejar áreas sin examinar.
- Si se encuentra otro elemento parasitario, continuar la lectura en busca del huevo o adultos de *E. vermicularis*.
- Detener la lectura al encontrar huevos y/o adultos de *Enterobius vermicularis*.
- Al término de la observación microscópica limpiar y desinfectar cuidadosamente el equipo y eliminar los portaobjetos observados en un contenedor para desecho de material cortopunzante.

Escobillado Anal

MATERIALES, INSUMOS Y EQUIPOS

- 5 trozos de gasa de 5 x 5 cm humedecidos en suero fisiológico (Frasco 1).
- Frasco con 15 ml de solución fijadora (Frasco 2).
- Espátulas.
- Centrífuga.
- Pipetas de plástico.
- Tubos de centrifuga plásticos.
- Portaobjetos aproximadamente de 75 mm x 25 mm limpios.
- Cubreobjetos 22x22 mm.
- Microscopio óptico provisto de objetivo 10x y 40x.
- Frasco para desechos con solución desinfectante.
- Elementos de protección personal.

PROCESAMIENTO Y LECTURA

- Una vez recibidas las muestras, las gasas se exprimen presionándolas con una espátula contra las paredes del frasco.
- La totalidad de la solución fijadora se transfiere a uno o dos tubos de centrifuga plásticos.
- Centrifugar el contenido por 3 minutos entre 1.500 y 1.800 r.p.m.
- Eliminar por inversión suavemente el sobrenadante, tratando de no perder la pequeña cantidad de sedimento presente.
- Con ayuda de pipetas de plástico tomar al menos 4 muestras del sedimento colocándolas entre porta y cubreobjetos.
- Observar con objetivos de 10x y 40x en busca de huevos y/o adultos de *Enterobius vermicularis*.
- No se requiere el uso de tinciones en el caso de observar algún elemento parasitario que requiera coloración para su identificación por ejemplo quistes o trofozoítos de protozoos se podría colocar una pequeña gota de colorante por capilaridad apoyando la punta de la pipeta en el borde del cubreobjeto.
- Al término de la observación microscópica, limpiar y descontaminar cuidadosamente el equipo y eliminar los portaobjetos observados en un contenedor para desecho de material corto punzante.
- Registrar en "observaciones" el hallazgo de otros elementos que podría aparecer en la lectura microscópica.