

# INVESTIGACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTOS

VELARDE PÉREZ FONTANA \*

La investigación de las oncosferas de la *Tænia echinococcus* es una operación básica e imprescindible en el estudio de las condiciones epidemiológicas de la hidatidosis.

Como acontece con la investigación de los huevos de helmintos en general, la comprobación de las oncosferas en las materias fecales del perro, o en los materiales que en el medio natural están en contacto con el perro, tiene sus inconvenientes.

Los huevos del parásito no abundan en la naturaleza como los microbios. No se producen ni pululan como las bacterias. A pesar de su tamaño de 30 a 60 micrones, por la razón antes señalada, su comprobación es dificultosa. Hay desproporción entre el volumen del material infectado y el número de huevos.

Los investigadores trataron de salvar este inconveniente concentrando el material infestado, para aumentar el número de huevos.

Hay dos grandes métodos: el primero consiste en la dilución, lavado y colado del material infectado y decantación que concentra los huevos que son más pesados que el agua en el poso. El otro método es el de la levitación, que consiste en el arrastre y flotación de los huevitos del material lavado y diluido, en el precipitado de soluciones de mayor tensión superficial que el agua, como el cloruro de sodio a saturación, el cloruro de zinc o el alumbre de hierro al 40 %. Ambos métodos son útiles y prácticos. El método de la decantación exige menos pericia de técnica de laboratorio, lo que representa una gran ventaja.

La mayor dificultad en la investigación de huevos de helmintos es el montaje y la observación microscópica.

El montaje en portaobjeto para la observación directa, con o sin cubreobjeto, tiene sus dificultades prácticas y además en esa forma sólo se puede observar poco material.

La observación directa en células o en caja de Petri, es más práctica que el montaje, pero no permite observar campos microscópicos tan nítidos.

Nos propusimos hacer una revisión de los métodos antes señalados para adquirir experiencia personal en el asunto.

En el transcurso del año pasado, con la Srta. Luisa Stoll, nuestra ayudante de Laboratorio, hicimos no menos de 600 experiencias y más

---

\* Presidente del Centro de Estudios y Profilaxis de la Hidatidosis.

de 5.000 observaciones microscópicas estudiando la resistencia de los huevos de *Tænia echinococcus*, *Hymenolepis nana*, *Dipilidium canium*, *Ascaris lumbricoides* del cerdo y *Ascaris* de perro, *Trichocéphalus*, *Tænia saginata* y *Tænia Canium*, frente a los distintos agentes físico-químicos.

La falta de un procedimiento práctico y seguro nos incitó a su búsqueda. Después de múltiples ensayos logramos un procedimiento de observación del material enriquecido por la decantación o la levitación, que consideramos superior a los procedimientos de práctica corriente.

Si se toma una o más gotas del poso de decantación o del precipitado y se deposita sobre un papel de filtro de grano fino y se seca suavemente a la llama de una lámpara de alcohol y luego se coloca en una caja de Petri y se humedece con xilol, se obtiene tal grado de transparencia del papel que permite observar con nitidez el material depositado. Este sencillo procedimiento permite concentrar más aún el material de decantación, porque el líquido de suspensión se evapora, reduce el volumen del material empleado que puede variar de 2 a 5 centímetros cúbicos.

Se puede emplear cualquier tipo de papel de filtro y aún papel común. Para clarificarlo se puede emplear aguarrás, bencina, alcohol rectificado, kerosene. El agua provoca una transparencia en el papel de filtro que permite una observación suficiente, aunque no tan perfecta como con los agentes anteriores.

El xilol o los clarificadores usuales de laboratorio, no dan preparaciones muy nítidas para la observación directa rápida. Estas preparaciones extemporáneas se pueden conservar indefinidamente. Si se quiere hacer un estudio de detalle se pueden pasar por xilol fenicado o por lactofenol y montar en bálsamo del Canadá.

#### FIJACIÓN Y COLORACIÓN DEL MATERIAL

En los primeros ensayos coloreamos las preparaciones sobre el papel. Ensayos posteriores nos llevaron a una técnica más perfecta de fijación, coloración y clarificación, agregando estos elementos al líquido de lavado y decantación para que los huevos se fijen, colorean y clarifiquen antes de ser transportados al papel. En esta forma se abrevia tiempo y se facilita la observación porque el papel no se tiñe con el colorante y la observación es más nítida. Con el mismo líquido se puede lavar dos o tres tomas de material para enriquecer el poso.

#### LÍQUIDO FIJADOR

Formol al 10 %, 500 gramos; lugol al 5 %, 50 gramos; ácido acético, 5 gramos. Después de diluir y colar el material en un colador metálico cubierto por dos dobleces de gasa, se agrega alcohol rectificado hasta que se inicie la separación de la materia en suspensión.

En vez de lugol se puede emplear una solución de tanino de alcohol. El vino o el vinagre de vino, se presta admirablemente para la triple función de fijación, coloración, clarificación y decantación.

Hemos empleado también el alumbre común al 10 %, que sirve como fijador colorante y acelera la decantación.

Los procedimientos de levitación más usados son los de Willis por el cloruro de sodio al 30 %, a los diez minutos la mayor parte de los huevos flotan en la superficie y pueden ser tomados y colocados en el papel de filtro.

El líquido ideal para el lavado es el agua, pero exige mayor tiempo de decantación. El agua jabonosa facilita la dilución, el lavado de las materias y también la decantación.

#### APLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Hemos estudiado las materias fecales de seis perros infectados experimentalmente. En las materias fecales de dos perros se encontraron huevos de tricocéfalo y de ascaris.

En dos perros infectados con escólex, sumergidos durante diez minutos en una solución de sodio al 20 %, y que posteriormente injirieron algunos gramos de cloruro de sodio en cápsulas, no se encontraron huevos de helmintos y en la autopsia se encontraron formas inmaduras de *Tænia echinococcus* que habían sufrido el proceso de la disquitinogénesis estudiado por Llambías, Monserrat, Napolitano y por nosotros también.

#### INVESTIGACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTOS EN MATERIAL DE INDUSTRIA ANIMAL

Comenzamos las investigaciones examinando el limo del primer lavado de lana de barriga. Estas investigaciones demostraron la presencia de varios huevos de helmintos y de *Tænia echinococcus* y *Ascaris* del perro en cada una de los centenares de preparaciones realizadas.

#### TÉCNICA DE INVESTIGACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTOS EN MATERIAS FECALES Y EN MATERIAL INFECTADO DE ORIGEN ANIMAL

Se recoge una abundante porción de materia y se diluye en agua en una medida cónica de 250 a 500 cms. cúbicos. Se filtra a través de un colador metálico recubierto por una doble malla de gasa. Se agrega entonces la tercera parte del fijador colorante (formol, lugol, alcohol acético).

Formol al 10 % .....	500 grs.
Lugol al 5 % .....	50 "
Ácido acético .....	5 cms.

Luego se agrega alcohol hasta que se inicie la decantación. Se revuelve bien la mezcla y se deja decantar.

Los huevos de helmintos no se depositan en el poso. Múltiples investigaciones sobre material tomado del fondo, de la parte media y de la superficie, demuestran que los huevos se encuentran en mayor cantidad en la capa superficial.

Hemos congelado varias copas de preparados en cuyo líquido agregamos gelatina diluída y con este sencillo procedimiento pudimos comprobar el hecho señalado.

En los múltiples exámenes practicados hemos podido comprobar en todas las preparaciones, varios ejemplares de huevos de *Tænia echinococcus*; *Trichocephalus* y *Ascaris* de perro. Este procedimiento lo hemos empleado también para la investigación de huevos en el barrido de las barracas, de producto de origen animal en tierra y se ha demostrado de gran utilidad.

Al presentar este sencillo procedimiento lo hacemos con la esperanza de ampliar el conocimiento de las condiciones ecológicas en el estudio de la demiólogía de la hidatidosis.