

Aplicación del método de plasma-trombina al diagnóstico de enfermedades parasitarias

Ettore De Girolami* y Ricardo De Girolami**

* South Miami Hospital and, University of Miami School of Medicine.

** Interventional Radiology, Humana Hospital-Bennett and, University of Miami School of Medicine.

(Rec. 5-IV-1988. Acept. 19-VII-1988)

Abstract: Four cases of parasitic diseases have been diagnosed by preparing samples with the plasma-thrombin cell block technique. This method has been previously applied for the cytological detection of cancer.

The authors want to emphasize that by applying this method to samples obtained from parasitized organs, it is possible to diagnose easily the disease as well as to study, by means of pseudotissural preparations, the tissues response to the parasite and, with follow up samples, the progression of the disease itself.

Desde hace más de 25 años, todas las muestras para estudio citológico por neoplasias o enfermedades infecciosas, excepto los frotis vaginales, han sido preparadas en nuestro laboratorio usando la técnica de la plasma-trombina (PT) (De Girolami 1972).

La primera vez que se aplicó este método fue en Washington en 1963 (De Girolami *et al.* 1966). En ese entonces estábamos estudiando muestras endometriales de pacientes que tomaban anticonceptivos. La muestra se tomaba con un cepillo endometrial (Ayre 1955) y los frotis se teñían con el colorante de Papanicolaou. A pesar de que las preparaciones eran excelentes, el diagnóstico era limitado pues se observaba solamente células normales, atípicas o malignas. Este material no permitía diagnosticar lesiones no cancerosas o precancerosas, como la hiperplasia quística, adenomatosa y atípica. Fue así que pensamos transformar la citología en histología de pequeños fragmentos, sacando el material del cepillo, comprimiéndolo entre dos portaobjetos y coagulando artificialmente la muestra. El material preparado de esa manera se fijaba y procesaba siguiendo la técnica histológica de rutina.

Por un período breve usamos esta técnica solamente con muestras endometriales y después, a medida que se adquiría más experiencia, se aplicó el método a otros materiales: líquidos de derrame, sedimentos urinarios, lavados bronquiales, gástricos, colónicos y vesicales y material obtenido de punciones percutáneas con aguja fina, etc. (De Girolami 1977a, 1977b).

El propósito de este artículo es presentar cuatro casos en los que el método de la PT fue usado para diagnosticar enfermedades parasitarias, y también para demostrar que usando este método se pueden obtener preparaciones histológicas de primera calidad, facilitando así el diagnóstico final.

MATERIAL Y METODOS

El material fue obtenido de cuatro pacientes residentes en Estados Unidos, dos emigrantes y dos nacidos en el país. Dos de las muestras fueron obtenidas del tracto urinario y dos de líquido aspirado de quistes intra-abdominales.



Fig. 1. Pielograma descendente con método de contraste que pone en evidencia la dilatación de los cálices y de los uréteres que terminan cerca de la vejiga en forma de cono. El tamaño de los riñones está reducido y se puede notar atrofia cortical.

Caso 1. Paciente femenina de 8 años, de origen portugués, que nació y vivió en Angola, Africa Central, y recientemente emigró a los Estados Unidos con sus padres y un hermano de 5 años de edad. Desde su llegada, la niña había tenido hematuria indolora y por consiguiente fue admitida al hospital. La anamnesis demuestra que la paciente y su hermano menor tuvieron hematuria desde antes de llegar a Estados Unidos. El examen físico fue negativo con excepción del cuadro urinario. En varios exámenes de orina se observó albuminuria y presencia en el sedimento de eritrocitos, leucocitos y células del epitelio de transición de las capas superficial e intermedia con residuo necrótico. La paciente fue sometida a un pielograma de contraste descendente. El estudio radiológico reveló que al inicio el medio de contraste pone en evidencia el sistema urinario excepto la vejiga (Fig. 1). El tamaño de los riñones es ligeramente más pequeño que lo normal, con atrofia cortical. La dilatación de la pelvis renal envuelve bilateralmente las estructuras de todos los cálices y de los dos uréteres. La parte distal de los uréteres termina en forma de cono. El contorno de la vejiga no es bien



Fig. 2. Detalle de la fotografía anterior. La vejiga, llena con el medio de contraste, muestra los bordes irregulares y la parte superior tiene una apariencia esponjosa debido a la irregularidad de la mucosa.

claro en esta radiografía; sin embargo se ve que el borde superior es irregular. En la foto siguiente (Fig. 2) la vejiga se ha llenado con el medio de contraste y se pueden apreciar irregularidades del contorno vesical y de la mucosa. No se observan calcificaciones en el tracto urinario superior ni inferior.

Varias enfermedades deben tomarse en cuenta para el diagnóstico diferencial de las lesiones que afectan al mismo tiempo la vejiga, los uréteres, la pelvis renal y que además producen atrofia cortical. La presencia de atrofia cortical, pelvicaliestasis e hidronefrosis bilateral sugieren una enfermedad crónica. Condiciones como la obstrucción crónica de la vejiga, el reflujo crónico vésico-ureteral y la atrofia post-obstrucciona tienen un cuadro radiológico similar. También es posible ver este cuadro en niños con pielonefritis con complicación de reflujo severo vésico-ureteral. Tomando en cuenta el país de origen de la paciente, las enfermedades de etiología bacteriana como la tuberculosis, o parasitarias como la esquistosomiasis, tienen que estar incluidas en el diagnóstico diferencial. En esta paciente se sospechó una esquistosomiasis, especialmente al observar los detalles de la figura 2 que muestra los bordes irregulares de la vejiga, sobre todo el superior, así como los detalles de la mucosa. El cuadro radiológico típico de la esquistosomiasis muestra inicialmente lesiones de la mucosa vesical que se extienden a la parte distal de los uréteres. La ausencia de peristalsis de los uréteres a menudo causa hidronefrosis bilateral al que sigue una pelvicaliestasis bilateral permanente si la enfermedad progresa. El grado de atrofia cortical está relacionado con la duración de la enfer-

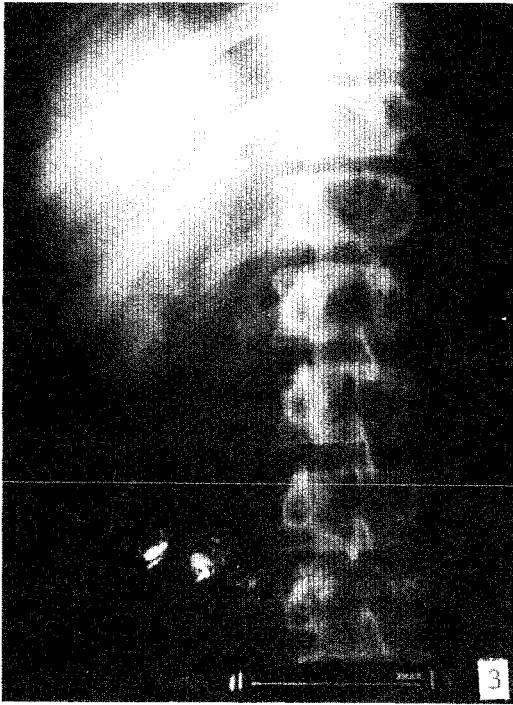


Fig. 3. Radiografía del tracto biliar que muestra opacidad de la vesícula biliar y a la altura del cuerpo vertebral T12, un quiste calcificado del hígado.

medad. A veces se ven áreas de calcificación en la pared de la vejiga, lo que no se nota en este caso.

En conclusión, considerando la historia clínica y los hallazgos radiológicos, el diagnóstico más probable fue el de una enfermedad infecciosa como la esquistosomiasis o la tuberculosis. Sin embargo, no se observa distorsión de la estructura de los cálices y estenosis ureteral, como es usual en la segunda.

Los datos clínicos y epidemiológicos y el cuadro radiológico, convencieron al clínico a solicitar un examen citológico de orina. La primera muestra de la mañana fue enviada al laboratorio y se procedió al estudio del sedimento usando el método de la PT.

Caso 2. Paciente femenina de 50 años, residente en los Estados Unidos, de origen caucásico quien acudió al médico de familia porque tenía una historia de hematuria intermitente sin dolor. El examen urinario repetido mostró un pH alcalino (7.5) con albuminuria y reacción positiva para sangre. El sedimento urinario mostró eritrocitos, leucocitos y células superficiales

del epitelio de transición. Tres cultivos urinarios resultaron negativos. Al examen cistoscópico se notan manchas hemorrágicas puntiformes que se extienden por toda la mucosa vesical. Una muestra de orina cateterizada (50ml) fue enviada para estudio citológico. El sedimento urinario fue preparado usando el método de la PT.

Caso 3. Paciente masculino de 37 años, de origen caucásico, nacido en Marsella, Francia, donde vivió hasta los 29 años y después emigró a los Estados Unidos. Mientras vivía en Francia, el paciente tenía un perro que estaba acostumbrado a dormir al pie de su cama.

El paciente se presentó al servicio de emergencia del hospital por haber notado distensión progresiva del abdomen en la línea media, entre el ombligo y la vejiga, con síntomas de poliuria.

Un año antes el paciente había estado hospitalizado y operado de un papiloma vesical. En ese entonces el examen reveló un quiste calcificado del hígado. La colecistografía oral (Fig. 3) fue reportada como sigue: "Opacidad general de la vesícula biliar. Se notan pequeñas calcificaciones alineadas en anillo y localizadas en el área lateral derecha del cuerpo vertebral T12. No se ven calcificaciones internas". Los diagnósticos posibles fueron: a) calcificación de la glándula adrenal derecha; b) calcificación del parénquima hepático; c) calcificación de un quiste hidatídico y d) calcificación de un aneurisma de la arteria hepática, posibilidad ésta muy remota.

En la sala de emergencias el examen físico reveló una masa quística del abdomen, levemente dolorosa de aproximadamente 12 cm de diámetro, localizada en el área suprapúbica. Una radiografía simple del abdomen mostró un quiste unilocular. Aún cuando la radiografía del hígado del año anterior había puesto en evidencia un quiste calcificado del lado izquierdo del hígado, el médico hizo el diagnóstico de quiste del uraco y aspiró 300 ml de líquido que fue enviado al laboratorio. La sección de urianálisis examinó la muestra y el examen microscópico mostró solamente la presencia de leucocitos. Aún cuando se aconsejó la hospitalización, el paciente no aceptó porque sus síntomas desaparecieron después de la punción. Tres meses después regresó, cuando los mismos síntomas reaparecieron y fue hospitalizado. Como el diagnóstico era de quiste del uraco, el urólo-



Fig. 4. Radiografía de perfil de una masa quística intra-abdominal inyectada con el medio de contraste. Bajo el quiste se observa la vejiga. No se observa comunicación entre la vejiga y la masa quística superior.



Fig. 5. Radiografía antero-posterior del caso anterior que pone en evidencia áreas de diferente densidad en la periferia del quiste. Por debajo, la vejiga es visible con el medio de contraste.

go decidió operar la masa. En el quirófano se aspiró del quiste 30 ml de líquido que fue reemplazado por 30 ml de líquido radio-opaco con índigo-carmín.

En dos radiografías, una de perfil (Fig. 4) y una antero-posterior (Fig. 5) se observaron múltiples áreas de diferente densidad en la masa superior. No se observa una fístula comunicante entre el quiste y la vejiga subyacente, particularmente visible en la placa de perfil. El diagnóstico diferencial incluye un quiste del uraco, un divertículo ancho de la vejiga y, teniendo en cuenta la historia clínica del paciente, una masa quística asociada con un agente infeccioso. El hecho de que este paciente tenga una historia clínica de quiste hidatídico hepático hace sospechar que también el quiste localizado sobre la vejiga sea de la misma etiología.

Una vez que se demostró que no había comunicación entre el quiste y la vejiga, el cirujano procedió a remover la masa, que en el quirófano pareció ser un quiste del omento. Al

examen macroscópico se observó una masa quística de 12 x 8 x 7 cm, con superficie irregular, rojiza, vasos congestionados y muchas adherencias; el quiste contenía un líquido opaco de color azul (por el índigo-carmín usado durante la operación) que fue enviado al laboratorio de citología. También aparecieron masas membranosas y muchos quistes menores, el más grande de 3 cm de diámetro (Figs. 6 y 7). La superficie interna del quiste era arrugada y focalmente calcificada. La pared del quiste medía 5 mm de grueso. El examen histológico demostró la presencia de quistes primarios y secundarios con escólices invaginados y muchos ganchos. El diagnóstico final fue de quiste hidatídico. Esta vez el líquido fue centrifugado y el sedimento preparado con la técnica de la PT.

Caso 4. El paciente es un contador de 58 años en buenas condiciones de salud, de origen caucásico, nacido en el Estado de Maryland, EUA, y que vive en Miami desde 1949. Recien-



Fig. 6. Quiste hidatídico del mismo caso de las figuras 4 y 5 cuya pared está coloreada de verde debido al colorante inyectado, y que muestra la mucosa arrugada y vesículas colapsadas.



Fig. 7. Detalle de la Fig. 6 que muestra las irregularidades de la pared interior así como una vesícula germinal más grande, en parte evacuada.

temente fue admitido al hospital por tener una masa indolora en el cuadrante superior derecho del abdomen. El paciente ha tenido cálculos renales y rinitis alérgica recurrente; fue operado varias veces de hernia, apendicitis, hemorroides, amígdalas y hace cinco años de un melanoma de la rodilla izquierda con resección radical de nódulos linfáticos. En los últimos dos años viajó a Inglaterra, México e Italia. Tenía un perro que murió hace dos años.

El examen físico general es negativo a excepción de una masa en el cuadrante superior derecho que parece ser parte del lóbulo hepático derecho. El examen ultrasonico del hígado revela un quiste intra-hepático de 9 cm de diámetro y un quiste del polo superior del riñón izquierdo de 1.5 cm. Para confirmar el diagnóstico se hizo una tomografía axial computarizada del hígado con contraste endovenoso. Una sección del hígado (Fig. 8) muestra un depósito de líquido intracístico en el área media inferior del lóbulo derecho. La lesión es bien apartada de la vesícula biliar y no hay dilatación concomitante de los canalículos biliares intra-hepáticos. La lesión mide más o menos 9 cm de diámetro; su pared es ligeramente gruesa, sin calcificaciones y su cavidad no presenta masas de contraste.

La presencia en el hígado de una cavidad quística con pared ligeramente gruesa con un líquido homogéneo, es compatible con los siguientes diagnósticos diferenciales: a) Quiste simple (solitario) del hígado; b) quiste secundario a hemorragia previa; c) quiste del colédoco; d) absceso piogénico del hígado; e) quiste secundario a parasitosis, como por ejemplo amebiasis o hidatidosis.

La presencia de una pared ligeramente gruesa no es considerada parte de la definición clásica de los quistes simples del hígado. La falta de calcificaciones de la pared del quiste no está en favor de la etiología infecciosa. La posibilidad de que la lesión represente un proceso neoplásico es muy remota pero no imposible. Otra vez hay que subrayar que la historia clínica es muy importante para el diagnóstico final entre las enfermedades mencionadas.

Los exámenes de laboratorio en este paciente fueron normales (orina, sangre, coagulación). Una prueba de hemaglutinación indirecta para anticuerpos de *Echinococcus* sp. fue negativa (título 1:80).

En vista de los resultados radiológicos y de laboratorio, el clínico concluyó que el pa-

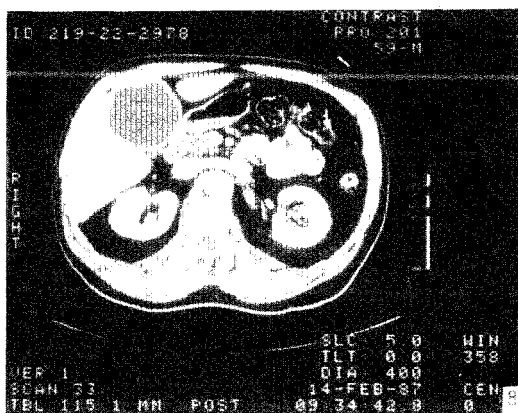


Fig. 8. Tomografía axial computarizada del hígado con contraste endovenoso: nótese un quiste en el área media inferior del lóbulo derecho, con pared gruesa sin calcificaciones. El líquido quístico es homogéneo.

ciente tenía un quiste solitario del hígado. El líquido fue aspirado vía percutánea bajo la guía de la tomografía computarizada.

El líquido aspirado, más o menos 100 ml, era ligeramente espeso, amarillo claro, opaco y al mover despacio la jeringa contenía una arenilla color ladrillo muy parecida al sedimento de uratos amorfos que se encuentra en la orina ácida (*sedimentum lateritium*). El líquido fue centrifugado y el sedimento preparado con el método de la PT.

Método de la Plasma-trombina

Las muestras, deben ser enviadas al laboratorio de inmediato. Es aconsejable examinar unos 200-300 ml de la primera orina matinal. Las orinas evacuadas espontáneamente, cate-rizadas o de lavados de la vejiga, así como otros líquidos, son preparados de la misma manera.

La muestra se centrifuga 10 minutos a 1.500 rpm. Si el material es abundante, se prefiere centrifugar en dos o cuatro tubos para concentrar mejor el sedimento, o se decanta y se añade más líquido al sedimento previo. El sedimento final se deja escurrir completamente y se secan los bordes del tubo con papel absorbente, dejando un sedimento lo más seco posible. Se añaden tres o cuatro gotas de plasma al sedimento se separa con cuidado del fondo del tubo por medio de un aplicador de madera para que el plasma pueda difundirse en el sedimento mismo. Una vez obtenida esta mezcla, se

añaden cuatro o cinco gotas de trombina líquida y se agita cuidadosamente el fondo del sedimento para que los materiales se mezclen; se deja la muestra en reposo 10 minutos o hasta que se forma un coágulo.

En sedimentos urinarios ácidos, con muchos uratos amorfos, la coagulación requiere más tiempo. Si la muestra es escasa y el sedimento es poco, se añade menos plasma y trombina. Idealmente, el tamaño del coágulo debe ser proporcional a la cantidad del sedimento. Si el sedimento es abundante, se necesita más plasma y trombina. Si el sedimento es demasiado diluido, la preparación histológica final no será satisfactoria.

Una vez que el coágulo está bien formado, se desliza desde el tubo en un receptáculo de histología cuyo fondo se cubre con papel de filtro para que se adhiera firmemente y no se pierda durante el procedimiento histotécnico. Si el coágulo es muy pequeño, se puede teñir con una gota de eosina para que sea más fácil encontrarlo al momento de incluirlo en parafina y cuando se secciona con el micrótopo. El receptáculo se cierra y se fija en formalina (10%) por lo menos de 30 minutos. El espécimen se procesa luego como cualquier tejido.

Se sugiere hacer cuatro cortes por muestra, uno coloreado con Papanicolao y los otros con hematoxilina-eosina. Se conserva el bloque de parafina por si es necesario hacer coloraciones especiales.

El plasma se obtiene en un banco de sangre o en la sección de hematología. Se preserva en el refrigerador a 4°C se le puede añadir un cristal de timol como preservativo. El plasma debe ser centrifugado antes del uso para que no contenga eritrocitos u otras impurezas.

La trombina se puede obtener en polvo, en ampollas que contienen 1000 ó 5000 U.I. (Bovine thrombin, tropical, Parke Davis and Co. Detroit, Michigan EUA o de Ubjohn Co. Kalamazoo, Michigan EUA). Para preparar la solución se usa agua destilada o solución salina que generalmente viene con la muestra. Para la técnica de la plasma-trombina consideramos satisfactoria una solución de 1 ml de líquido/cada 1000 unidades de polvo de trombina. La solución se conserva bien en el refrigerador a 4°C por lo menos por un mes. Como su actividad disminuye con el tiempo se aconseja verificarla antes del uso mezclando 2 gotas de plasma y 2 de trombina y observando la formación del coágulo, lo que ocurre en unos

30 segundos. Si no se dispone de trombina, se puede usar tromboplastina obtenida de cerebros de conejo.

RESULTADOS

El estudio citológico de la primera muestra de orina de la paciente del Caso 1 reveló la presencia de huevecillos de *Schistosoma haematobium* y confirmó el diagnóstico clínico (fig. 9). Con el objetivo de estudiar la sensibilidad del método se examinaron varias muestras de orina de la paciente, de su hermano y de sus padres. Las muestras de los niños fueron constantemente positivas y las de los padres negativas.

La figura 9 muestra una sección de sedimento urinario, preparado con la técnica de la PT, que contiene tres huevecillos de *S. haematobium*, células de transición y células mononucleadas. Dos de los huevecillos muestran sus espolones polares.

La figura 10 muestra la sección de un huevecillo de *S. haematobium* donde es posible observar en el interior el miracidio parcialmente desarrollado.

En la figura 11 el huevecillo está fagocitado por una célula gigante. También se pueden ver numerosas células gigantes de cuerpo extraño, células mononucleadas y muchos eosinófilos (figs. 12 y 13). En los casos de esquistosomiasis crónica es posible ver cambios progresivos de las células de transición, desde un cuadro de inflamación y displasia, hasta verdaderas células malignas (fig. 14), generalmente después de un proceso de metaplasia escamosa. En nuestra paciente, estos cambios celulares todavía no han ocurrido, debido a su poca edad.

En el segundo caso, el estudio del sedimento de la orina cateterizada muestra entre las células de transición de la vejiga y algunas células escamosas, grupos de *Trichomonas vaginalis* (figs. 15 y 16). La infección masiva causó una cistitis aguda que había irritado toda la pared vesical. Después del diagnóstico la paciente fue tratada y dos meses después el examen fue negativo y los síntomas desaparecieron.

En el tercer caso, el estudio citológico fue más bien de carácter investigativo que diagnóstico. El propósito fue ver si era posible hacer una buena preparación, para usarlo en el futuro. La figura 17 muestra varios escólices invaginados y en la parte inferior se ve una porción de la pared de una vesícula proliferativa.

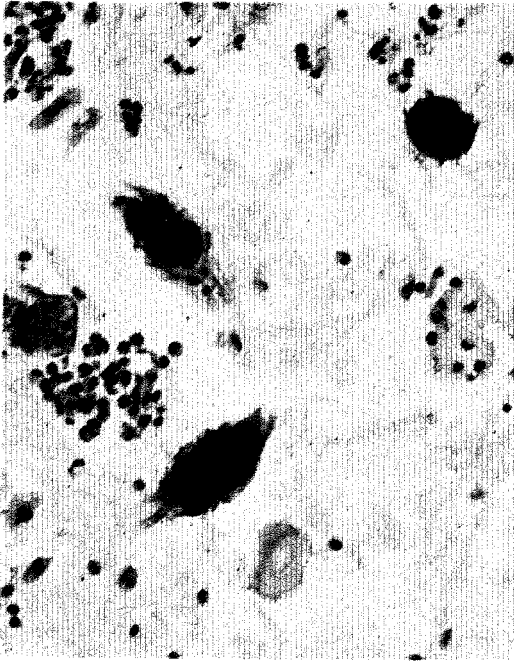


Fig. 9. Corte de un bloque del sedimento urinario preparado con la técnica de la plasma-trombina: nótese 3 huevecillos de *S. haematobium*, dos con sus espolones polares. La reacción celular es sobre todo a base de eosinófilos y células mononucleadas. 200 x.



Fig. 10. Huevecillo de *S. haematobium* con su espolón polar, que presenta en su interior un miracidio 900 x.

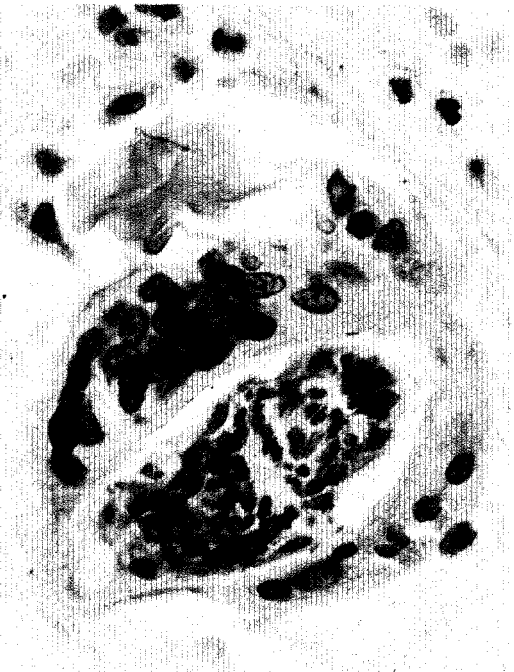


Fig. 11. Célula gigante que ha fagocitado un huevecillo de esquistosoma. Alrededor hay eosinófilos y glóbulos rojos. 400 x.



Fig. 12. Dos células gigantes con eosinófilos y células mononucleares que representan la reacción del tejido de la vejiga al parásito. 450 x.

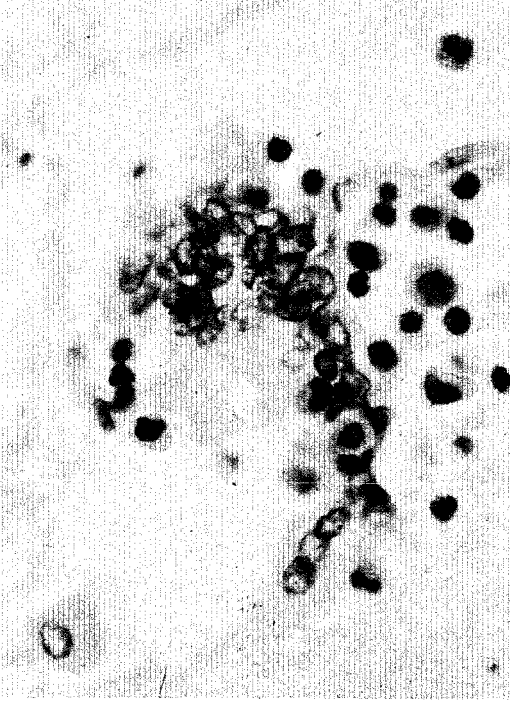


Fig. 13. Célula gigante multinucleada y eosinófilos. Hay además dos células epiteliales de transición. 450 x.

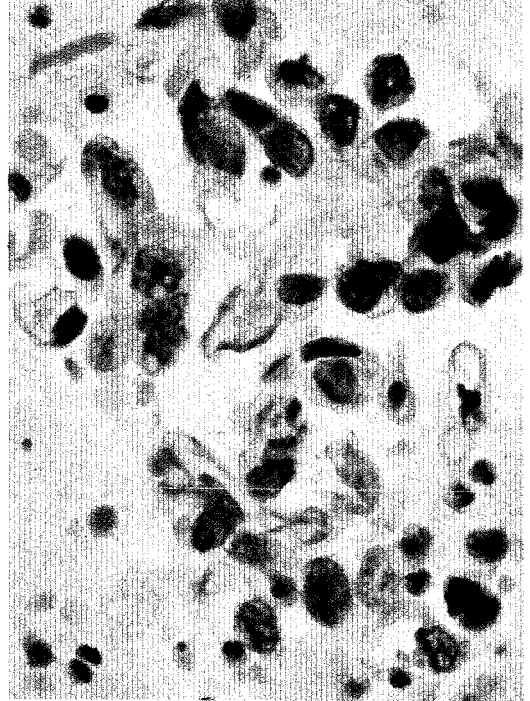
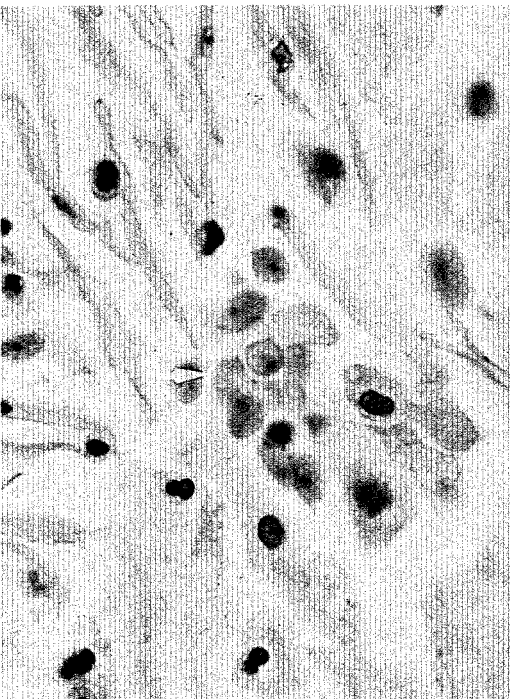


Fig. 14. Grupo de células malignas del epitelio de transición (grado III) en un paciente que tuvo *S. haematobium*. Método de la plasma-trombina. 450 x.



Figs. 15 y 16. Las dos fotos muestran células escamosas y uroepiteliales rodeadas de tricomonas. Las flechas indican los parásitos con sus núcleos pequeños. Método de la plasma-trombina. 450 x.

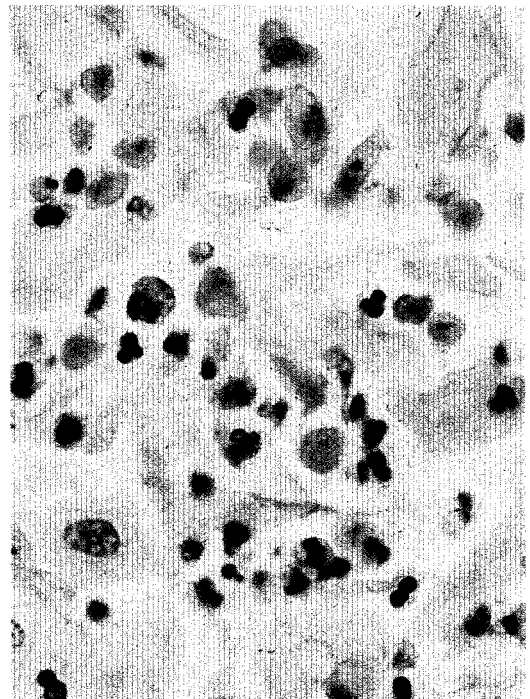




Fig. 17. Grupo de escólices de *Echinococcus* sp. coloreados con el método de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y preparados con el método de la plasma-trombina. Nótese la preservación de los escólices. 200 x.

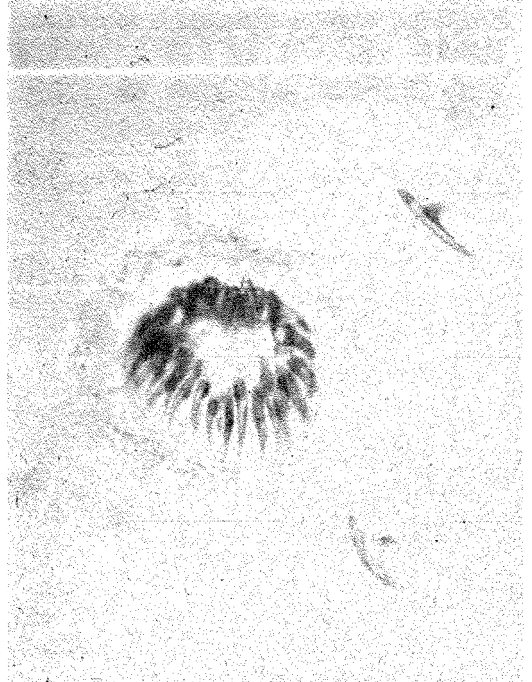


Fig. 18. En esta foto los ganchos del rostellum están coloreados de violeta usando el método del ácido per fórmico y colorante de Schiff. Dos ganchos aislados están también coloreados. 450 x.

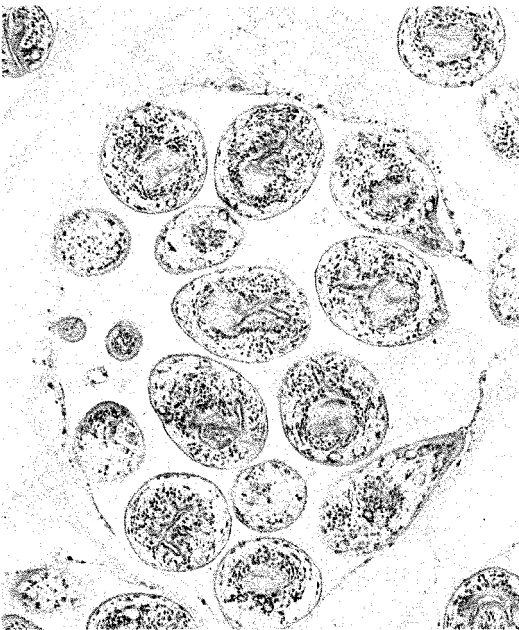


Fig. 19. Vesícula nieta rodeada de una membrana germinativa. La vesícula contiene 16 escólices teñidos con el colorante de Papanicolaou. Otras vesículas nietas, en la parte inferior, rodean la del centro con sus escólices. Método de la plasma-trombina. 200 x.



Fig. 20. Detalle de la foto 19 que pone en evidencia escólices cortados longitudinal y transversalmente. Nótese que los parásitos están perfectamente preservados y se puede ver en detalle los ganchos y otras partes anatómicas. Método de la plasma-trombina. 450 x.

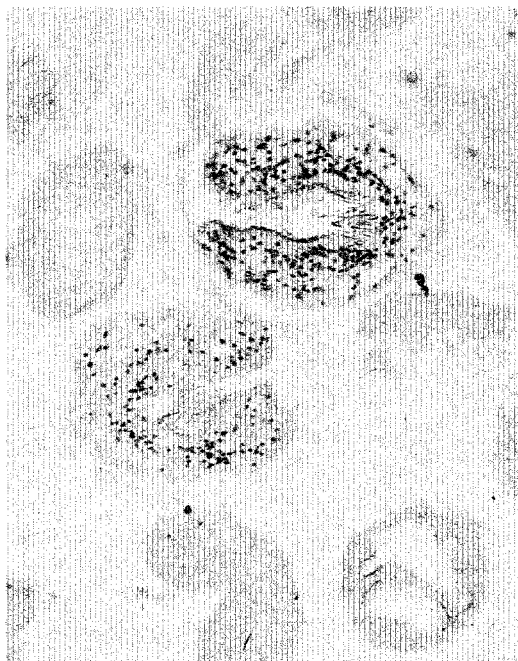


Fig. 21. Corte de bloque de plasma-trombina coloreado con Papanicolaou que muestra varios escólices en diferentes estados de preservación. La mayoría han sufrido una degeneración hidrópica. Los ganchos desaparecieron. 450 x.



Fig. 22. Corte de bloque de plasma-trombina coloreado con Papanicolaou que muestra arriba a la derecha, un rostellum con pocos ganchos y a la izquierda, la membrana adventicia. 450 x.

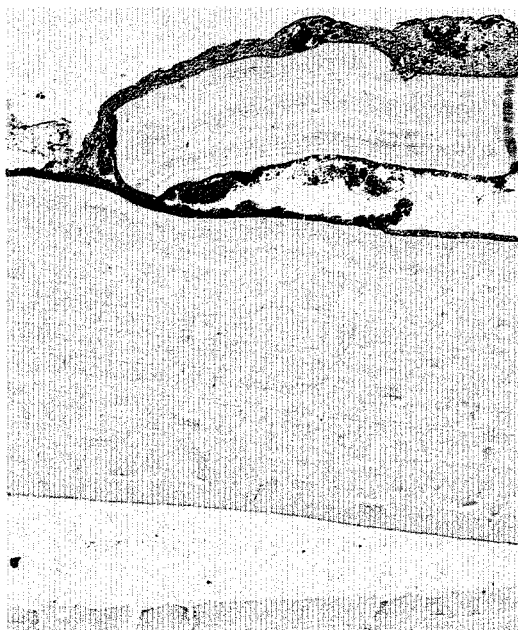


Fig. 23. Corte de bloque de plasma-trombina después del primer tratamiento intraquístico con plata. Coloración de Papanicolaou. En violeta se observa la membrana lamelar adventicia y en verde la membrana cuticular con su estructura lamelar. 450 x.

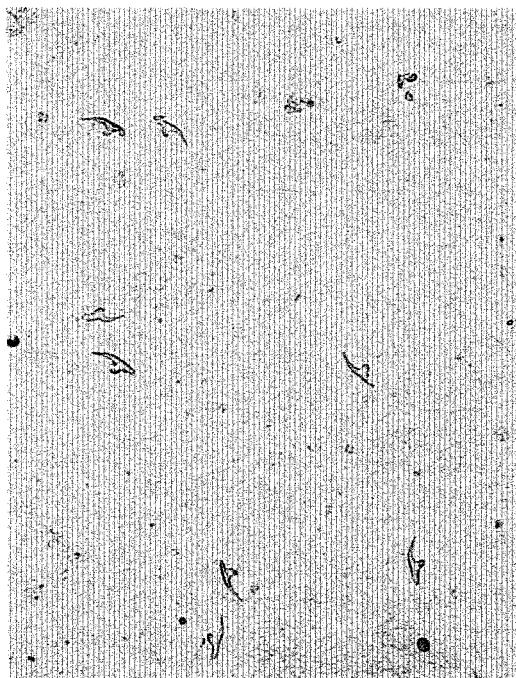


Fig. 24. Corte similar al anterior donde se ven muchos ganchos que desaparecieron después del segundo tratamiento con plata. 450 x.

Para colorear la queratina de los ganchos del rostelo usamos la técnica del ácido per fórmico combinada con el colorante de Schiff (Pearse 1960). En la figura 18 se puede apreciar el rostelo color violeta y dos ganchos separados.

El cuarto caso tal vez ha sido para nosotros el más interesante y de más estímulo pues ocurrió más de diez años después del tercero y sirvió para probar en la práctica los hallazgos que hicimos muchos años antes.

La figura 19 muestra una vesícula nieta que está delineada por una membrana germinativa delgada que contiene 16 escólices invaginados, en diferentes estados de maduración. La membrana está rodeada de material proteínico y se pueden observar en la periferia otras vesículas nietas con sus escólices.

La figura 20 muestra en detalle los escólices invaginados. Unos están cortados longitudinalmente (el primero en alto y el de la derecha, corte tangencial) los otros están cortados transversalmente; el central permite ver claramente los ganchos del rostelo. El diagnóstico final fue hidatidosis del hígado.

En los cuatro casos el estudio de los preparados hechos con el método de la PT fue esencial para el diagnóstico.

Como se puede ver en las fotografías estas secciones pseudotisulares permiten obtener preparaciones con excelentes detalles celulares. Además quedan en los archivos los bloques de parafina y en cualquier momento se pueden hacer secciones adicionales y/o coloraciones histoquímicas especiales.

DISCUSION

Los cuatro casos en discusión no presentaron serios problemas de diagnóstico parasitológico sino que se presentan con el propósito de dar a conocer al lector que, además de los métodos tradicionales descritos en los libros de parasitología, existe la técnica de la PT descrita hace muchos años por uno de los autores, que permite obtener preparaciones pseudo-histológicas con detalles citológicos tan buenos que facilitan el diagnóstico de las enfermedades parasitarias. Esta técnica puede ser utilizada como complemento a los otros métodos o como procedimiento principal para el diagnóstico final.

Schistosoma haematobium es un tremátodo que infecta al hombre y afecta las poblaciones de toda Africa, Medio Oriente y la costa oeste de la India. Los parásitos adultos viven inicial-

mente en las venas del sistema porta y luego en las vénulas del plexo pélvico y los órganos urogenitales. Las hembras depositan los huevecillos en los vasos sanguíneos pequeños de la pared de la vejiga. Estos huevecillos, provistos de un agudo espolón terminal y de un embrión desarrollado, atraviesan la pared de los vasos y de la vejiga y caen en la luz de ésta para ser eliminados al exterior durante la micción. Los huevecillos causan primero una irritación local del epitelio de transición de la vejiga y después una reacción eosinofílica de la submucosa con presencia de células gigantes que pueden fagocitar los huevecillos (inflamación exudativa y granulomatosa) y, si la enfermedad no es tratada, con el tiempo puede causar cambios celulares precancerosos y luego un carcinoma transicional de la vejiga.

En los casos de sospecha clínica, el diagnóstico parasitológico se hace fácilmente buscando los huevecillos en el sedimento urinario. En el área de Boston la enfermedad no es endémica y el estudio rutinario de una muestra de orina de la tarde puede ser negativo. Sin embargo, en el caso 1, la preparación del bloque con PT puso en evidencia muchos huevecillos de *S. haematobium*. Además, los cambios tisulares progresivos que ocurren durante la enfermedad no pueden ser apreciados estudiando solamente el sedimento urinario.

Los estudios en modelos animales son muy limitados y las lesiones son parecidas pero no iguales a aquellas observadas en el hombre (Cheever *et al.* 1976 Kuntz *et al.* 1975). Por otra parte, los estudios en humanos requieren examinar series de biopsias de cistectomías parciales o totales (Cheever *et al.* 1975, Ishak *et al.* 1967).

En nuestra paciente (caso 1) y su hermano, nosotros tuvimos la oportunidad de estudiar una serie de sedimentos urinarios preparados con la técnica de la PT lo que nos permitió no sólo observar un gran número de huevecillos bien preservados, sino también los cambios inflamatorios del epitelio de transición, las reacciones exudativas con eosinófilos y granulomas con células gigantes, ocasionalmente con huevecillos fagocitados. Si este estudio se hubiera hecho a largo plazo, la calidad de las preparaciones obtenidas con la técnica de la PT nos hubiera permitido observar mejor los cambios biológicos de la enfermedad.

El diagnóstico de tricomoniasis se hace fácilmente en cualquier laboratorio, analizan-

do sedimentos urinarios. En nuestro caso la paciente tenía una infección masiva pero probablemente la presencia de eritrocitos enmascaró la presencia del protozooario. Además, el médico de familia había dado énfasis a una etiología bacteriana. En todo caso, aún cuando no creemos que se puede considerar el bloque celular el método de elección, en este caso particular ha sido de ayuda para el diagnóstico y tratamiento de la paciente.

El tercer y cuarto caso los vamos a analizar juntos pues se trata de la misma enfermedad en dos pacientes que estudiamos con 10 años de diferencia.

En el tercer caso el diagnóstico fue hecho durante el examen macroscópico del quiste y el estudio del bloque celular se hizo con el propósito de observar las características y calidad de estas preparaciones y aplicar esta experiencia al diagnóstico de casos futuros.

La aspiración de un quiste hidatídico, previamente diagnosticado por estudio radiológico, inmunológico y clínico, está contraindicada. Sin embargo, si la información obtenida no está en favor de ese diagnóstico, especialmente en un área geográfica donde la enfermedad no es endémica, la aspiración del líquido de un quiste se hace para llegar a un diagnóstico, cualquiera que sea.

El hallazgo de ganchos en el líquido con su forma característica, permite el diagnóstico. En las áreas endémicas, el diagnóstico clínico se hace con más frecuencia y el laboratorista tiene más experiencia en la identificación de los ganchos (esto se facilita aumentando el contraste, usando luz oblicua o el condensador de contraste de fases). Si el paciente es estudiado en un área no endémica y la enfermedad no es sospechada clínicamente, el hallazgo de los ganchos en un líquido enviado al laboratorio es muy remoto.

La hidatidosis se encuentra con mayor frecuencia en los países mediterráneos: Unión Soviética, Rumanía, Turquía, Siria, Líbano, Egipto, Grecia, Italia (Isla de Cerdeña), Sur de Francia, España. También en Africa y Sur América: Uruguay, Chile, Sur de Brasil y Argentina. En Australia y Nueva Zelanda, aún cuando hay muchas ovejas, debido a una campaña de erradicación de la enfermedad, el número de casos es muy reducido. En América del Norte la enfermedad es muy rara, (Katz & Chia-Tung Pam 1958).

Existen varias especies del género *Echinococcus* que pueden causar quistes hidatídicos en el hombre: *E. granulosus* y *E. multilocularis* son las más conocidas. En las regiones neo-tropicales de Centro y Sur América la hidatidosis poliquística es causada por *E. vogeli* (D'Alessandro *et al.* 1971), cuyo huésped definitivo son cánidos salvajes (*Speothos venaticus*). No se ha probado que *E. oligarthrus* cause hidatidosis humana y *E. cruzi* es una *species inquirindae*.

En el hombre el quiste hidatídico se localiza en diferentes órganos causando cuadros clínicos distintos: hidatidosis hepática, pulmonar, esplénica, renal, cerebral, y ósea. En la mayoría de los casos la radiografía y la serología ayudan a hacer el diagnóstico clínico. El diagnóstico final se hace examinando líquido hidatídico. Hasta ahora no existe una terapia médica efectiva y el único tratamiento es remover el quiste quirúrgicamente.

En nuestro último caso, una vez que el quiste fue aspirado y el diagnóstico de hidatidosis fue confirmado, se colocó un catéter percutáneo en comunicación con el quiste. Este fue inyectado con una solución estéril hipertónica de NaCl al 30% y dejado en la cavidad por 10 minutos. Este tratamiento fue usado por primera vez por Mueller *et al.* (1975) del Massachusetts General Hospital de Boston. El estudio citológico con PT muestra por primera vez los cambios morfológicos del parásito que ocurren después de este tratamiento. La fotografía de la figura 21 fue tomada de la muestra obtenida después del primer tratamiento. Las vesículas germinativas desaparecieron, los escólices invaginados sufrieron una degeneración hidrópica y la coloración nuclear desapareció progresivamente. Los ganchos se desprenden del roseto y quedan libres en el líquido; posteriormente los escólices se rompen.

El segundo día se inyectó en el quiste una solución de nitrato de plata de 0.5% que fue aspirada después de seis minutos. El líquido fue enviado al laboratorio y estudiado también con el método de la PT. En la figura 22 se ve que todos los escólices han desaparecido excepto uno que se ve a la derecha, arriba, degenerado y con pocos ganchos. Quedan todavía la membrana adventicia visible en la figura 23 con sus láminas concéntricas teñidas en violeta con el colorante de Papanicolaou y la membrana cuticular también con su estruc-

tura laminar coloreada de verde con el mismo colorante. En el líquido se notan varios ganchos libres (figura 24). Tres días después, el paciente fue tratado otra vez inyectando el quiste con la solución de nitrato de plata 0.5% durante 15 minutos y después aspirado. El estudio del bloque celular con PT mostró solamente membranas degeneradas y dos ganchos. Radiológicamente el quiste desapareció y no se observaron secuelas 10 meses después, cuando el paciente fue examinado por última vez.

En conclusión, hemos presentado 4 casos de enfermedades parasitarias cuyo diagnóstico final fue hecho preparando las muestras con la técnica de la PT, método hasta ahora usado solamente para el diagnóstico citológico de las neoplasias. Queremos también poner énfasis en que con este método se puede estudiar la enfermedad en sus diferentes fases y ayudar al médico en su pronóstico final. Líquidos de derrame, lavados gástricos, duodenales, colónicos, bronquiales, y vesicales pueden ser centrifugados y sus sedimentos preparados con PT facilitando no sólo su diagnóstico sino también el estudio progresivo de la enfermedad.

RESUMEN

El diagnóstico de tres enfermedades parasitarias fue realizado usando el método de la plasma-trombina. Las preparaciones pseudotisulares así obtenidas permiten reconocer el parásito y estudiar las reacciones de los tejidos donde está ubicado. Los autores quieren enfatizar el hecho de que usando esta técnica no sólo se puede diagnosticar una enfermedad parasitaria sino investigar su evolución estudiando muestras sucesivas.

REFERENCIAS

- Ayre, E. 1955. Rotating endometrial brush: New technique for the diagnosis of fundal carcinoma. *Obst. Gynecol.* 5: 137-1139.
- Cheever, A. E., R. E. Kuntz, J. A. Moore, G. T. Bryan & R. R. Brown, 1876. Proliferative urothelial lesions in nonhuman primates infected with *Schistosoma haematobium*. *Am. J. Path.* 84 (3): 673-676.
- Cheever, A. W., A. H. Torkey & M. Shirbiney. 1975. The relation of worm burden to passage of *Schistosoma haematobium* eggs in the urine of infected patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 24 (2): 284-288.
- D'Alessandro, A., R. L. Raush; C. Cuello & N. Aristizabal. *Echinococcus vogeli* in men, with a review of polycystic hydatid disease in Colombia and neighboring countries. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 28 (2): 303-317.
- De Girolami, E., E. E. Gahres & R. B. Nelson. 1966. Histo-brush technic for endometrial tissue study. *Obst. Gynecol.* 28: 861-866.
- De Girolami, E., 1972. Plasma-Thrombin technique for cell block. *Cancer Cyt.* XII (2): 25-30.
- De Girolami, E. 1977a. Application of plasma-thrombin cell block in diagnostic cytology. Part I: Female genital and urinary tracts. *Path. Ann.* 12 (Part I): 251-275.
- De Girolami, E. 1977b. Application of plasma-thrombin cell block in diagnostic cytology Part II: Digestive and respiratory tracts, breast and effusions. *Path. Ann.* 12 (Part II): 91-110.
- Ishak, K. G., P. C. Le Galvan, I. El Sebay. 1967. Malignant bladder tumors associated with schistosomiasis: a gross and microscopic study, Bilharziasis. Edited by F. K. Mostofi. New York, Springer-Verlag, p. 58-83.
- Katz, A. M. & Chia-Tung Pan. 1958. Echinococcus disease in the United States. *Am. J. Med.* 25 (5): 759-770.
- Kuntz, R. E., A. W. Cheever, B. J. Myers, S. E. Young & J. A. Moore 1975. Calcification of the bladder and papillary tumors of the bladder and ureters in Gibbons (*Hylobates lar*) infected with *Schistosoma haematobium* (Iran): *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 69 (5) 494-502.
- Mueller, P. R., S. L. Dowson, J. T. Ferruci Jr., & G. L. Nardi 1985. Hepatic Echinococcal cyst: successful percutaneous drainage. *Radiology* 155 (3): 627-628.
- Pearse, A. G. E. 1960. *Histochemistry*. Little Brown Ed. Boston, 998 p.