

UTILIDAD DEL MÉTODO KATO-KATZ PARA DIAGNÓSTICO DE UNCINARIASIS: EXPERIENCIA EN UNA ZONA RURAL DE HONDURAS, 2011

Usefulness of Kato-Katz method for the diagnosis of hookworm infections: experience in a rural region of Honduras, 2011

José Antonio Gabriele,¹ María Mercedes Rueda,² Maritza Canales,³ Ana Sánchez.⁴

¹Estudiante de Maestría en Ciencias. Brock University, St. Catharines, Ontario, Canada

²Maestría en Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas. Departamento de Microbiología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Honduras

³Maestría en Salud Pública. Departamento de Microbiología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Honduras

⁴Doctorado en Biología de la Infección. Brock University, St. Catharines, Ontario, Canada

Este estudio recibió financiamiento del Proyecto Teasdale-Corti Honduras-Canadá, 2007-2012 "Fortaleciendo Capacidades para Lograr la Meta No. 6 del Milenio en Honduras: Combatiendo las Enfermedades Infecciosas". Dicho proyecto opera con fondos de la agencia Canadiense Iniciativa para la Investigación en Salud Mundial (GHRI) (www.ghri.ca)

RESUMEN

Antecedentes. El método Kato-Katz se utiliza para determinar infecciones por helmintos transmitidos por el suelo. A pesar de ser un método de concentración sencillo, robusto y relativamente sensible, la calidad de los resultados del Kato-Katz está sujeta a su apropiada estandarización en cada laboratorio. **Objetivo.** Describir el efecto negativo del aclaramiento excesivo de las muestras en la detección de uncinariasis utilizando el método de Kato-Katz en una encuesta coproparasitológica realizada en comunidades rurales Hondureñas en el año 2011. **Materiales y Métodos.** Se realizó un estudio epidemiológico sobre infecciones por uncinarias utilizando el método Kato-Katz en 351 niños de varias comunidades de Olancho, entre febrero y abril de 2011, encontrándose prevalencia de uncinariasis de 6.0%. La revisión del procedimiento determinó que en 228 muestras el tiempo de aclaramiento excedió dos horas. Se procedió a un segundo muestreo y se recolectaron 195 muestras de la misma población. **Resultados.** Las nuevas muestras se examinaron entre 60-90 minutos después de su preparación obteniéndose una prevalencia de uncinariasis de 15.9%. **Conclusiones.** El exceso de aclaramiento de las heces con el método Kato-Katz produjo la subestimación inicial de uncinariasis. Debido a que Kato-Katz es un método importante para la evaluación de los programas de desparasitación, su implementación en el laboratorio debe hacerse bajo supervisión.

Palabras clave: Diagnóstico, helmintos, Honduras, Kato-Katz, uncinarias

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades tropicales desatendidas (ETD) continúan imponiendo una carga inmensurable en las poblaciones vulnerables de los países de bajo y mediano desarrollo.^{1,2} Estas enfermedades están íntimamente ligadas a problemas macro-estructurales tales como la pobreza, condiciones sanitarias deficientes y falta de agua potable y por tanto son causa y efecto del bajo alfabetismo, salud deficiente y baja productividad en las poblaciones infectadas.³ Entre las ETD están las geohelmintiasis, infecciones intestinales causadas por cuatro especies de helmintos transmitidos por el suelo (HTS): *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* y las uncinarias (*Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*).³⁻⁵ Debido a que las infecciones por estos geohelmintos se localizan en el intestino, los métodos diagnósticos de laboratorio utilizan eminentemente muestras de materia fecal, en la cual se detectarán los huevos de estos parásitos (con menos frecuencia parásitos adultos).⁶

El método diagnóstico más utilizado mundialmente en encuestas parasitológicas y estudios epidemiológicos es el denominado Kato-Katz, el cual fue introducido por Kato y Miura en 1954 y modificado por Katz en 1972;⁷ llamándose desde entonces "Kato-Katz".

Este ha sido difundido ampliamente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y es actualmente recomendado como el método de elección para el diagnóstico cualitativo y cuantitativo de las geohelmintiasis humanas en este tipo de estudios.⁸ Esta recomendación se basa en lo siguiente: a) Kato-Katz es considerado un método de concentración pues utiliza una mayor cantidad de muestra de heces (41.7 ó 50 mg) que el método directo utilizado típicamente en los laboratorios clínicos de rutina (2 mg). Por esta razón, la sensibilidad del Kato-Katz es superior, habiéndose demostrado que su sensibilidad analítica es de 24 huevos por gramo (HPG) de heces (es decir, un huevo por preparación). Se ha documentado que la sensibilidad del Kato-Katz mejora si se hacen varias preparaciones de la misma muestra o mejor aún, examinando muestras recolectadas en días diferentes.^{9,10} Sin embargo, la OMS establece que la sola observación de una única muestra es suficiente para estudios epidemiológicos,¹¹ b) el método es sencillo, preciso, robusto y de bajo precio y por tanto aplicable a gran escala¹² c) permite la comparación de prevalencias e intensidades entre diversos países o regiones d) el proceso de aclaramiento de la muestra con glicerina que conlleva este método hace que los huevos de los HTS resalten en el campo microscópico, facilitando su detección e) ya que el método utiliza una plantilla estandarizada para medir aproximadamente 41.7 mg ó 50 mg de muestra (dependiendo de la plantilla utilizada), el conteo sistemático de huevos presentes en la preparación permite ha-

Recibido para publicación el 04/12, aceptado 07/12

Dirección para correspondencia: José Antonio Gabriele, Department of Community Health Sciences, Brock University, 500 Glenridge Avenue, St. Catharines, Ontario, Canada. L2S 3A1. Correo E: jgabrie@brocku.ca

cer una estimación cuantitativa de la carga parasitaria y con ello la estratificación de la intensidad de las infecciones.¹³ De acuerdo al número de huevos por gramo así determinado, las infecciones de cada especie de geohelminto se pueden categorizar en leve, moderada o severa (Cuadro 1).

Cuadro 1. Intensidad de fección por especie de geohelminto y número de huevos por gramo de heces (WHO, 2012).³⁷

Geohelminto	Número de huevos por gramo de heces (HPG)		
	Leve	Moderada	Severa
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1-4,999	5,000-49,999	≥ 50,000
<i>Trichuris trichiura</i>	1-999	1,000-9,999	≥ 10,000
Uncinarias	1-1,999	2,000-3,999	≥ 4,000

La información de la intensidad de infección en una población es relevante para la toma de decisiones y el monitoreo de los programas de control de geohelminthos, cuyo objetivo principal es la reducción del número de individuos altamente infectados. Los resultados obtenidos con el Kato-Katz se pueden utilizar para determinar la frecuencia de administración de drogas desparasitantes y para planear actividades de educación en salud y saneamiento.¹³ Adicionalmente, dada su simplicidad y versatilidad, el Kato-Katz ha sido recomendado por la OMS para evaluar la eficacia de tratamientos anti-helmínticos mediante la estimación de tasas de cura y/o reducción de número de huevos en la muestra del paciente después del tratamiento.^{14,15} Sin embargo, algunos autores postulan la importancia de revisar y estandarizar las recomendaciones dadas por la OMS para realizar los ensayos clínicos de eficacia de los antihelmínticos, sugiriendo métodos diagnósticos alternativos al Kato-Katz como el FLOTAC y McMaster.^{16,17}

En el caso particular de las uncinarias, los huevos son susceptibles a alterarse y/o destruirse en pocas horas debido al efecto de la glicerina; este fenómeno, denominado “sobre-aclaramiento”, ha sido invocado como una de las potenciales desventajas del Kato-Katz.^{6,8-10,18} La técnica descrita en 1991 por la OMS estableció un rango “seguro” de 30-60 min desde la preparación de la muestra hasta la finalización de la lectura, con la recomendación de que cada laboratorio determine el tiempo óptimo de aclaramiento para prevenir este problema;⁶ sin embargo, la misma OMS ha establecido la importancia de leer la preparación “dentro de las dos horas de su preparación”.¹⁸ Asimismo, algunos autores han utilizado un máximo de 90 min como un punto medio.¹⁹

Por estas razones, la estandarización y el aseguramiento de la calidad del método de Kato-Katz son de suma importancia. El presente artículo se preparó con el objetivo de describir el efecto negativo del aclaramiento excesivo de las muestras en la detección de uncinarias utilizando el método de Kato-Katz. Este trabajo se deriva del estudio descriptivo transversal “Prevalencia de las infecciones por helmintos transmitidos por el suelo en escolares hondureños” realizado por este grupo de investigadores, el cual tuvo por objeto describir la situación epidemiológica y el impacto en salud de los HTS en varias comunidades rurales del departamento de Olancho, Honduras (manuscrito en preparación).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio epidemiológico sobre infecciones por uncinarias, utilizando el método Kato-Katz en 351 niños de varias comunidades de Olancho, entre febrero y abril de 2011, encontrándose una prevalencia de uncinariosis de 6.0%. Las muestras se examinaron en Honduras por investigadores de las instituciones participantes y los análisis estadísticos y escritura de resultados se llevaron a cabo en la Universidad de Brock, Ontario, Canadá. Esta revisión reveló que en 228 muestras el tiempo real de aclaramiento (tiempo transcurrido entre la preparación de la lámina de Kato-Katz y su observación microscópica) había excedido las dos horas, lo cual no era confiable para el diagnóstico de uncinarias, por lo que se procedió a un segundo muestreo y se recolectaron 195 muestras de la misma población. Al comparar con datos provenientes de una encuesta a nivel nacional,²⁰ la baja detección de uncinarias motivó a los investigadores principales a revisar los procedimientos y técnicas utilizados en el laboratorio.

Recolección de la segunda muestra de heces

Cuatro semanas después de la primera recolección de muestras, se realizó una nueva visita a las comunidades evaluadas. Luego de obtener el consentimiento informado de los padres y el asentimiento de los niños, la segunda muestra se recolectó siguiendo el mismo procedimiento utilizado para la primera. Se distribuyeron entre los niños recipientes apropiados (tapadera hermética, limpios, secos y rotulados con código individual), se les entregó una bacinica plástica y se les dieron indicaciones específicas de cómo recolectar las muestras haciendo hincapié en evitar la contaminación con tierra u orina.

Examen coproparasitológico microscópico

La segunda muestra fue procesada de manera similar que la primera (ver descripción del método abajo). Sin embargo, se tuvo el cuidado de preparar un menor número de muestras para poder terminar la lectura de las preparaciones dentro de un máximo de 60-90 minutos^{18,19,21} y así, asegurar la correcta identificación de huevos de uncinarias que tienden a aclararse o destruirse a medida que transcurre el tiempo, especialmente cuando la temperatura ambiental es mayor de 25 °C.²² Para la realización del método, se utilizó el kit elaborado por Vestergaard-Frandsen Disease Control Textiles (Vestergaard-Frandsen SA, Aarhus, Denmark), siguiendo las instrucciones estándar de acuerdo a lineamientos de la OMS.⁸

Aspectos éticos y de bioseguridad

El estudio de prevalencia se diseñó apegándose a estándares internacionales de ética de la investigación y recibió aprobación del comité de ética de Brock University, St. Catharines, Ontario, Canadá (expediente BU 10-161) y de McGill University Health Centre, Montreal, QC (expediente MUHC 10 -175 – PED Nov. 23rd 2010). El socio en Honduras (Maestría en Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas [MEIZ] de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras), a través de su oficial de ética, evaluó los protocolos de investigación y validó las dos aprobaciones internacionales en base a los acuerdos académicos entre dichas instituciones.

Análisis de datos

Se usó estadística descriptiva para informar la prevalencia encontrada en términos de porcentajes. Además se efectuaron comparaciones de proporciones entre la Muestra 1 y la Muestra 2 en cuanto a positividad por cada especie de parásito utilizando la prueba de Chi cuadrado de Yates. El nivel de significancia estadística se fijó en $p < 0.05$. Para todos los análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS v.20 (IBM SPSS Statistics).

RESULTADOS

De los 228 niños a quienes se les solicitó proporcionar una segunda muestra, 195 (85.5%) la proporcionaron. De los 33 niños restantes, 3 suministraron muestra insuficiente para realizar el Kato-Katz y 30 ya habían recibido tratamiento desparasitante en la escuela. En la Figura 1 se presenta un flujograma de trabajo que demuestra la cantidad de niños participantes en el estudio de prevalencia, la cantidad de muestras obtenidas (inicial y segunda) y los procedimientos aplicados.

Se observó que la diferencia entre la positividad encontrada en la muestra 1 (1%) y la muestra 2 (15.9%) fue estadísticamente significativa ($p < 0.0001$).

Para explorar el impacto del exceso de aclaramiento sobre los huevos de uncinarias, se dio seguimiento a una muestra positiva. La muestra se observó a los 30 minutos para identificar un campo positivo el cual procedió a ser monitoreado microscópicamente cada 10 minutos. Entre cada observación, la luz del microscopio se apagó para no generar calor adicional. En la última observación realizada (aproximadamente 110-115 minutos desde su montaje) el contenido interno del huevo empezó a desplazarse hacia uno de los polos pero conservando aún su forma original. Luego de aproximadamente 10-15 segundos, el huevo perdió su forma original; su contenido interno se comprimió, adoptando una forma arriñonada de color oscuro, convirtiéndose en un simple "artefacto" imposible de identificar. La Figura 2 muestra el huevo antes y después de esta transformación. Cabe aclarar que dicha secuencia fotográfica se realizó durante el estudio de campo y se capturó con una cámara digital portátil; por tanto, su calidad y composición no son óptimas.

DISCUSIÓN

El método de Kato-Katz es muy útil en estudios epidemiológicos para estimar la prevalencia y carga parasitaria de los HTS, monitorear los programas de desparasitación¹¹ y vigilar la eficacia de los medicamentos antiparasitarios.^{15,25}

El método, sin embargo, tiene limitaciones y la precisión de los resultados es determinada por diversos factores como la variabilidad diaria de excreción de huevos en las heces y la experiencia del microscopista, entre otros.²⁶ Más aún, la ausencia de un "estándar de oro" de diagnóstico para las infecciones por HTS imposibilita la estimación de valores predictivos del método y se ha sugerido que el examen de una muestra de heces provee resultados fidedignos para *A. lumbricoides* y *T. trichiura* pero no para uncinarias.²⁶ Por esta razón, un buen número de publicaciones recientes hacen alusión a su baja sensibilidad y sugieren métodos alternativos, por ejemplo, el método FLOTAC.²⁷ También se han sugerido modificaciones al Kato-Katz como la propuesta en 1995 por Odongo-Aginya y cola-

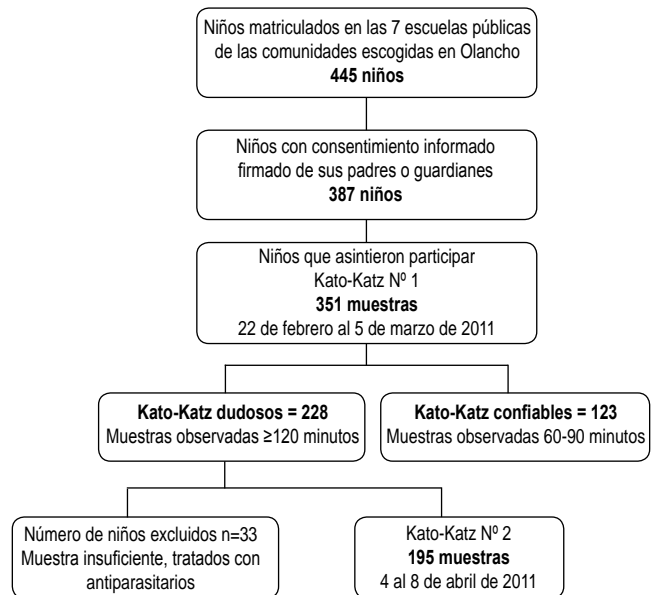


Figura 1. Flujograma de trabajo para verificar la calidad de resultados obtenidos por medio del método de Kato-Katz, Olancho, Honduras, 2011.

boradores que aconseja sustituir el verde de malaquita por una solución colorante compuesta por nigrosina y amarillo de eosina en formalina, la cual permite la fijación de los huevos de uncinarias impidiendo su posterior destrucción.²⁸ Recientemente los mismos autores evaluaron esta modificación y reiteran su superioridad sobre el Kato-Katz clásico.²⁹ Otra modificación propuesta para no perder los huevos de uncinaria es hacer la lectura de la preparación dos veces, primero dentro de 20-40 minutos en búsqueda de huevos de uncinaria y de 3-6 horas después para detectar *A. lumbricoides* y *T. trichiura*.³⁰ No obstante, estas modificaciones aún no han encontrado aceptación en la comunidad científica y la utilización del Kato-Katz sigue ampliamente diseminada a nivel internacional. Una de las razones de este apego es que el uso continuado del Kato-Katz facilita la comparación de resultados a través del tiempo, ya sea dentro o entre los diferentes países y comunidades endémicas. Por esta razón el aseguramiento de la calidad del Kato-Katz es fundamental para veracidad de los datos de prevalencia de los HTS.

En este estudio, al comparar los porcentajes de positividad en las muestras pareadas (muestra 1 versus muestra 2) se observó que la positividad para uncinarias encontrada en la muestra 2 fue 15.5 veces mayor que en la muestra 1 correspondiente.

Dada las condiciones endémicas de la zona estudiada, el aumento de casos de uncinariasis podría tener dos explicaciones: la adquisición de nuevas infecciones por los participantes o por la conversión de infecciones que se encontraban en su período prepatente durante el primer muestreo. Sin embargo, dado que la segunda muestra fue recolectada dentro de las cuatro semanas desde el muestreo inicial, la primera posibilidad quedaría descartada. Así mismo, la segunda posibilidad, aunque probable, estaría sujeta a factores aleatorios que no explicarían el significativo aumento en la prevalencia de uncinariasis encontrada. Por tanto los autores son del criterio que en vez de factores biológicos o de transmisión, la diferencia observada se debe a factores técnicos en la implemen-

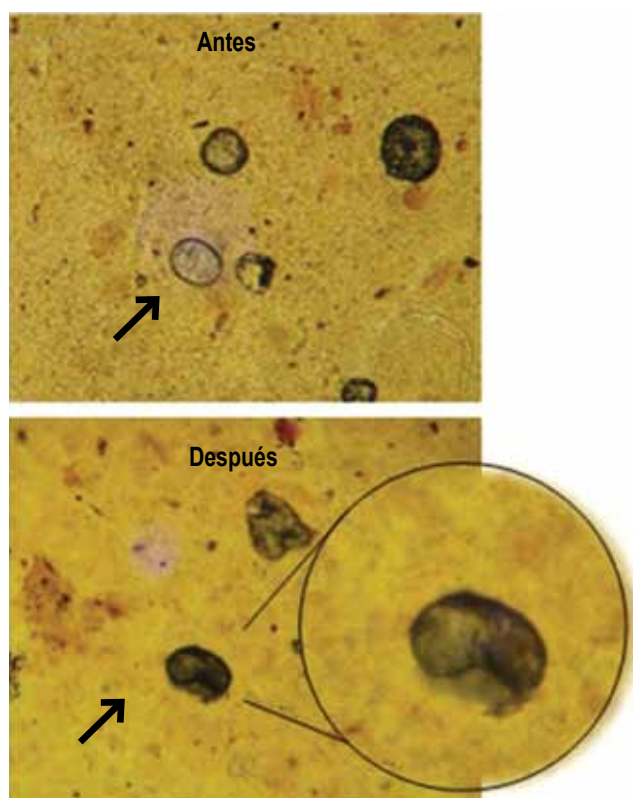


Figura 2. Alteración de un huevo de uncinaria un poco antes de 2 horas transcurridas desde el montaje de la lámina, utilizando el método de Kato-Katz. Las flechas indican la ubicación del huevo en el campo visual (Magnificación 10x). El círculo muestra una ampliación digital (2.5x) del huevo alterado.

tación del Kato-Katz, específicamente el aclaramiento excesivo de las muestras.

En Honduras, los estudios parasitológicos utilizando Kato-Katz ya sea en la población general o comunidades rurales no son muy abundantes en la literatura. Un estudio llevado a cabo en 1998 por Smith y colaboradores en 4 comunidades rurales no reporta la prevalencia de uncinarias pues argumenta que el método no es útil para la detección de huevos de este parásito.³² A nivel nacional la situación epidemiológica de los HTS ha sido evaluada con cierta regularidad. Los informes de encuestas parasitológicas realizadas por la Secretaría de Salud han reportado cifras variables de prevalencia de uncinarias. Por ejemplo, el reporte de un estudio realizado en 17 comunidades de Honduras en los años 2000 a 2001 menciona una

prevalencia general de uncinarias de 16%. Igualmente, dicho reporte menciona la siguiente distribución en términos de prevalencia: de 63% a 10% en 6 comunidades; de 9% a 7% en 2 comunidades y de 3% a 0% en las 9 comunidades restantes, 4 de ellas con 0%.²⁰ En otro estudio nacional realizado en 2011 con 2,554 escolares, se encontró una prevalencia general de uncinarias de 0.86%.³¹ La prevalencia específica por departamento tuvo grandes variaciones: 10.9% para el departamento de Colón y un rango de 3% a 0% para los 17 departamentos restantes, 10 de ellos con 0% de prevalencia; entre estos últimos se encontró el departamento de Olancho, cuya población analizada consistió en 203 niños.³³ Dicho estudio se encuentra aún en etapa de análisis pero su reporte correspondiente no hace ninguna referencia a problemas técnicos con el Kato-Katz para explicar la baja prevalencia de uncinarias encontrada. En contraste, el presente estudio, que comprendió un tamaño de muestra similar de escolares residentes en comunidades de Olancho, detectó una prevalencia de uncinariosis inicial de 5.6% (351 niños) y corregida de 16% (195 niños).

Naturalmente, es de esperarse que la prevalencia de uncinariosis en Honduras tenga una distribución heterogénea dependiendo de la existencia de condiciones favorables para su transmisión.³⁴ Esta heterogeneidad se ve reflejada en los resultados de las encuestas parasitológicas realizadas por la Secretaría de Salud en un período de diez años.^{20,33,35} Sin embargo, tomando en cuenta que en aquellas poblaciones donde la uncinariosis es prevalente tienden a predominar las infecciones leves, la reducida sensibilidad del Kato-Katz, especialmente cuando se realiza en una sola muestra, podría conllevar a la subestimación de la prevalencia real de esta parasitosis.³⁶ Si a esta baja sensibilidad se le agrega el potencial problema del aclaramiento excesivo de las muestras, la subestimación de la prevalencia sería aún más sustancial. Por tanto, en vista de nuestra experiencia, sería importante verificar primeramente que el aseguramiento de la calidad en el laboratorio forme parte integral de los estudios epidemiológicos nacionales de geohelmintiasis. Los resultados obtenidos a través del método de Kato-Katz deben de ser lo más veraces posibles pues pueden influir en la toma de decisiones en los programas de control de las geohelmintiasis en países endémicos como Honduras.³⁷

Dada la experiencia mostrada en el presente trabajo, nos parece importante aportar las siguientes recomendaciones para los estudios epidemiológicos de campo para determinar la prevalencia de geohelminintos (resumidas en el Cuadro 2).

Cuadro 2. Recomendaciones a considerar en estudios epidemiológicos de campo para determinar la prevalencia de geohelminintos.

- 1 Ser acreedor de la confianza y credibilidad de las comunidades participando en los estudios de investigación
- 2 Considerar variables externas al momento de la planeación (ubicación, topografía y distancia de las comunidades, disponibilidad del laboratorio, fenómenos meteorológicos, realidad social, etc.)
- 3 Recolectar la cantidad de muestras por día que pueden ser procesadas eficientemente
- 4 Escalonar la preparación de las muestras
- 5 Finalizar el conteo de huevos preferiblemente antes de 60 minutos desde la preparación de la lámina
- 6 Llevar registros completos de laboratorio (procedimiento, modificaciones técnicas, tiempos de observación, problemas, resultados obtenidos, etc.)
- 7 Implementar procesos de control de calidad en el laboratorio
- 8 De ser posible, contar con un generador eléctrico portátil con la capacidad requerida para no interrumpir el análisis de las muestras

1. Es indispensable que el equipo investigador sea acreedor de la confianza y respeto mutuo con las comunidades estudiadas, realizando un acercamiento con los líderes y autoridades locales. En nuestro caso, la construcción de esta relación facilitó realizar un nuevo muestreo y de esta manera corregir el diagnóstico de los casos de uncinariasis.
2. Es importante tener en cuenta imprevistos que pueden sucederse durante la implementación de estudios epidemiológicos de campo. En general, la ubicación, topografía y distancia de las comunidades, la disponibilidad del laboratorio donde se procesarán las muestras, fenómenos meteorológicos e incluso interrupciones sociales pueden ser factores que afecten la eficiencia y deben ser incluidos al momento de la planeación. En el trabajo cotidiano, también pueden suscitarse un sinnúmero de retrasos por ejemplo en el reclutamiento de participantes, administración de encuestas para recolección de datos, obtención de las muestras de los participantes, etc. Ya que estos factores pueden alargar la implementación del estudio y requerir personal y recursos adicionales, deben considerarse de antemano para diseñar un plan de trabajo realista con amplio espacio para fluctuaciones logísticas.
3. También se debe considerar que en algunas de las comunidades el servicio de energía eléctrica no es constante y la falta de servicio eléctrico puede convertirse en un serio factor limitante para la observación microscópica o el almacenamiento de muestras en refrigeración. Es útil contar con un generador eléctrico portátil para no interrumpir el análisis de las muestras en caso de un fallo en el servicio de energía eléctrica.
4. Otro aspecto importante es que aún para un microscopista experimentado, el tiempo que le tomará el recuento de huevos en la lámina preparada es impredecible pues estará condicionado a la cantidad de huevos encontrados, la presencia de mono- o poli-parasitismo y el método de conteo (manual o utilizando algún dispositivo auxiliar como un contador para células). Por esto es necesario establecer un plan de acción conservador al realizar estudios en comunidades donde la prevalencia e intensidad de las geohelmintiasis son desconocidas. Para mayor eficiencia y calidad en el laboratorio se pueden tomar en cuenta estas sugerencias:
 - a. El número de muestras recolectadas por día debe ajustarse a la capacidad de procesamiento del personal de laboratorio. Es altamente recomendable procesar las muestras el mismo día de su recolección.
 - b. El montaje de láminas debe iniciar con pocas muestras para determinar el tiempo requerido entre el aclaramiento de la muestra y el conteo de huevos. Posteriormente este montaje debería realizarse en pequeños lotes escalonados que permitan el aclaramiento de la muestra y el adecuado conteo de huevos sin que sobrepase la velocidad de trabajo del microscopista.
 - c. Se debe tener cuidado de finalizar el conteo de huevos entre 30-60 minutos desde la preparación de la lámina para prevenir el sub-registro de infecciones por uncinarias.
 - d. Es imprescindible llevar un libro de laboratorio donde se reporte además de los resultados obtenidos, todos los procedimientos ejecutados y especialmente las variaciones en cuanto a técnicas y tiempos de observación.
5. Es conveniente establecer un control de calidad interno en el laboratorio. Una manera sencilla de realizar dicho control sería la repetición (un nuevo montaje), en el mismo día del 10% de las muestras para ser analizadas por una persona calificada ajena a los resultados previamente obtenidos. Además, es imprescindible la supervisión adecuada del trabajo de laboratorio.

REFERENCIAS

- Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Periago MR. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008; 2(9):e300.
- Hotez P. Hookworm and poverty. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1136(1):38-44.
- Crompton DW, Nesheim MC. Nutritional impact of intestinal helminthiasis during the human life cycle. *Annu Rev Nutr.* 2002; 22:35-59.
- Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet.* 2006; 367:1521-32.
- Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, Kumaresan J, Sachs SE, Sachs JD, et al. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med.* 2007; 357:1018-27.
- World Health Organization. Basic laboratory methods in medical parasitology. Geneva, Switzerland: WHO; 1991.
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1972; 14:397-400.
- Montresor A, Crompton DWT, Hall A, Bundy DAP, Savioli L. Guidelines for the evaluation of soil-transmitted Helminthiasis and Schistosomiasis and Community Level. A Guide for Managers of Control Programmes. Geneva, Switzerland: WHO; 1998.
- Glinz D, Silue KD, Knopp S, Lohourignon LK, Yao KP, Steinmann P, et al. Comparing diagnostic accuracy of Kato-Katz, Koga agar plate, ether-concentration, and FLOTAC for *Schistosomamansoni* and soil-transmitted helminths. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010; 4:e754.
- Utzinger J, Rinaldi L, Lohourignon LK, Rohner F, Zimmermann MB, Tschannen AB, et al. FLOTAC: a new sensitive technique for the diagnosis of hookworm infections in humans. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008; 102:84-90.
- World Health Organization. Prevention and control of schistosomiasis and soil transmitted helminthiasis. Geneva, Switzerland: WHO; 2002.
- Peeling RW, Smith PG, Bossuyt PM. A guide for diagnostic evaluations. *Nat Rev Microbiol.* 2006; 4:S2-6.
- Montresor A, Albonico M, Berhan M, Chitsulo L, Crompton DW, Diarra A, et al. Helminth control in school age children: a guide for managers of control programmes. 2nd ed. Geneva, Switzerland: WHO; 2011.
- World Health Organization. Report of the WHO Informal Consultation on Monitoring Drug Efficacy in the Control of Schistosomiasis and Intestinal Nematodes. Geneva, Switzerland: WHO 1999.
- Albonico M, Allen H, Chitsulo L, Engels D, Gabrielli AF, Savioli L. Controlling soil-transmitted helminthiasis in pre-school-age children through preventive chemotherapy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008; 2:e126.
- Horton J. A standardised protocol for evaluation of anthelmintic efficacy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5:e1010.
- Vercruyse J, Albonico M, Behnke J M, Kotze A C, Prichard R K, McCarthy JS, et al. Is anthelmintic resistance a concern for the control of human soil-transmitted helminths? *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance.* 2011;1(1):14-27.
- World Health Organization. Action against worms. Geneva, Switzerland: WHO; 2004.
- Booth M, Vounatsou P, N'Goran EK, Tanner M, Utzinger J. The influence of sampling effort and the performance of the Kato-Katz technique in diagnosing *Schistosomamansoni* and hookworm co-infections in rural Cote d'Ivoire. *Parasitology.* 2003;127(pt 6):525-31.
- Zúniga C, Quan D, Canales M. Informe del Perfil de Geohelminthos y Teniasis en Escolares Años 2000 – 2001. Tegucigalpa MDC; Honduras: Secretaría de Salud; 2003.
- World Health Organization. Bench Aids for the diagnosis of intestinal parasites. Geneva, Switzerland: WHO; 1994.
- Santos FL, Cerqueira EJ, Soares NM. Comparison of the thick smear and Kato-Katz techniques for diagnosis of intestinal helminth infections. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38(2):196-8.
- Dacombe RJ, Crampin AC, Floyd S, Randall A, Ndhlovu R, Bickle Q, et al. Time delays between patient and laboratory selectively affect accuracy of helminth diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007 Feb; 101(2):140-5.
- World Health Organization. Action against worms. Geneva, Switzerland: WHO; 2008.
- Albonico M, Engels D, Savioli L. Monitoring drug efficacy and early detection of drug resistance in human soil-transmitted nematodes: a pressing public health agenda for helminth control. *Int J Parasitol.* 2004;34(11):1205-10.
- Tarafder MR, Carabin H, Joseph L, Balolong E, Jr., Olveda R, McGarvey ST. Estimating the sensitivity and specificity of Kato-Katz stool examination technique for detection of hookworms, *Ascarislumbricoides* and *Trichuristrichiura* infections in humans in the absence of a 'gold standard'. *Int J Parasitol.* 2010; 40(4):399-404.
- Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nat Protoc.* 2010;5(3):503-15.
- Odongo-Aginya EI, Taylor MG, Sturrock RF, Ackers JP, Doehring E. Field evaluation of an improved Kato-Katz thick smear technique for quantitative determination of helminth eggs in faeces. *Trop Med Parasitol.* 1995; 46(4):275-7.
- Odongo-Aginya EI, Kabatereine N, Ludwig S, Wabinga H, Fenwick A, Montresor A. Substitution of malachite green with nigrosin-eosin yellow stain in the Kato-Katz method: microscopical appearance of the helminth eggs. *Afr Health Sci.* 2007;7(1):33-6.
- Speich B, Knopp S, Mohammed KA, Khamis IS, Rinaldi L, Cringoli G, et al. Comparative cost assessment of the Kato-Katz and FLOTAC techniques for soil-transmitted helminth diagnosis in epidemiological surveys. *Parasit Vectors.* 2010;14(3):71.
- Brooker S, Bethony J, Hotez PJ. Human hookworm infection in the 21st century. *Adv Parasitol.* 2004; 58:197-288.
- Smith H, Kaminsky RG, Niwas S, Soto R, Jolly P. Prevalence and intensity of infections of *Ascarislumbricoides* and *Trichuristrichiura* and associated socio-demographic variables in four rural Honduran communities. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(3):303-14.
- Honduras. Secretaría de Salud Pública. Prevalencia de infección por geohelminthos y malaria e intensidad de la infección por geohelminthos; caracterizando los factores socio-culturales y ambientales que inciden en la infección de escolares en Honduras, Año 2011. Tegucigalpa, MDC: Secretaría de Salud; 2011.
- Weaver HJ, Hawdon JM, Hoberg EP. Soil-transmitted helminthiasis: implications of climate change and human behavior. *Trends Parasitol.* 2010; 26(12):574-81.
- Honduras. Secretaría de Salud Pública. Resultados del Estudio del Perfil de Geohelminthos, Realizado en Municipios Centinelas a Nivel Nacional, Año 2005-2006. Tegucigalpa, MDC: Secretaría de Salud; 2006.
- Knopp S, Mgeni AF, Khamis IS, Steinmann P, Stothard JR, Rollinson D, et al. Diagnosis of soil-transmitted helminths in the era of preventive chemotherapy: effect of multiple stool sampling and use of different diagnostic techniques. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008; 2(11):e331.
- World Health Organization. Soil-transmitted helminthiasis: eliminating soil-transmitted helminthiasis as a public health problem in children. Progress report 2001-2010 and strategic plan 2011-2020. Geneva, Switzerland: WHO; 2012.

ABSTRACT

Background. Kato-Katz method is used to determine infection by soil-transmitted helminths. Despite being a simple concentration method, robust and relatively sensitive, the quality of the results of the Kato-Katz method is subject to its proper standardization in each laboratory. **Objective.** To describe the negative effect of excessive clearance of samples in the detection of hookworms using the Kato-Katz method in a parasitological survey undertaken in Honduran rural communities in 2011. **Materials and Methodology.** An epidemiological study for hookworm was performed using the Kato-Katz method in 351 children from several rural communities in Olancho, February-April 2011, finding 6.0% hookworm infection prevalence. The revision of the procedure determined that in 228 samples clearance time exceeded two hours. A second sampling was performed and 195 samples from the same population were obtained. **Results.** New samples were examined within 60-90 minutes after its preparation resulting in a prevalence of hookworm infection of 15.9%. **Conclusions.** Excessive clearance of the stool with the Kato-Katz method produced the initial underestimation of hookworm infection. Since Kato-Katz method is an important tool for evaluating deworming programs, its implementation in the laboratory should be done under supervision.

Keywords: Diagnosis, Honduras, helminths, Kato-Katz, hookworm