

Sociedad Argentina de Bacteriología,

Micología y Parasitología Clínicas.

Determinación:

Identificación por microscopía óptica de microfilarias

Determinación de ADN específico de *Mansonella ozzardi* por método de PCR convencional y secuenciación en muestras de sangre.

Metodología:

- Examen en fresco
- Extendido fino
- Gota gruesa
- Técnica de Knott
- PCR cualitativa seguida de secuenciación nucleotídica

Momento de la toma de muestra:

Las Microfilarias muestran una marcada periodicidad en función de las especies involucradas, por lo tanto, el momento de la toma de muestras es fundamental. Si se sospecha una infección filárica, el tiempo de recolección óptimo es el siguiente:

Especie	Área Geográfica	Periodicidad
<i>Wuchereria bancrofti</i>	Todo el mundo en trópicos y subtropicos	Nocturna (tomar muestra entre las 20 y las 2 hs)
<i>Brugia malayi</i>	Sudeste Asiático, India	Nocturna (tomar muestra entre las 20 y las 2 hs)
<i>Brugia timori</i>	Indonesia, Timor, Lesser, Islas Sunda	Nocturna (tomar muestra entre las 20 y las 2 hs)
<i>Loa loa</i>	África Central y Occidental	Diurna (tomar muestra entre las 10 y las 14 hs)
<i>Mansonella ozzardi</i>	Caribe, América Central y del Sur	Aperiódica (en cualquier momento)
<i>Mansonella perstans</i>	África y América del Sur	Aperiódica (en cualquier momento)
<i>Mansonella</i>	África Central y	-----

Sociedad Argentina de Bacteriología,

Micología y Parasitología Clínicas.

<i>streptocerca</i>	Occidental	
<i>Onchocerca volvulus</i>	África, Yemen, América Central y del Sur	-----

Conservación:

- Gota gruesa y extendidos finos: permitir el secado sobre una superficie plana, protegido de insectos, polvo y calor extremo; a temperatura ambiente no mayor a 25°C.
- El resto de las muestras mantenerlas refrigeradas a 4°C.

Tipo de muestra:

- **Sangre**

Extraer 10 ml de sangre por punción venosa y con esta muestra realizar:

1. Gota gruesa
Procedimiento:
Colocar 2-3 gotas de sangre y usando la esquina del extensor, rápidamente juntar las gotas de sangre y extenderlas para realizar la gota gruesa. La sangre no debe ser mezclada excesivamente pero debe ser extendida con 3 a 6 movimientos circulares o rectangulares. La gota gruesa debe ser de aproximadamente 1 cm de diámetro.
2. Extendidos hemáticos finos
Procedimiento:
Colocar 1 gota de sangre y usando un segundo portaobjetos como "extensor", apoyado en una superficie plana y firme, tocar la gota pequeña con el extensor permitiendo que la sangre corra por su borde. Firmemente deslizar el extensor a lo largo del portaobjetos, manteniendo el extensor en ángulo de 45°. Asegurarse de que el extensor esté continuamente en contacto con el portaobjetos durante todo el tiempo en que la sangre está siendo extendida.
3. Colocar 1 ml de la sangre obtenida por punción venosa en un tubo con 9 ml formol al 2% (Método de concentración de Knott). Homogeneizar para producir la lisis de los glóbulos rojos.
4. Colocar 3-5 ml de sangre en un tubo con EDTA 0.125 M

Sociedad Argentina de Bacteriología,

Micología y Parasitología Clínicas.

- **Biopsia de piel**

1. Las muestras se pueden obtener mediante el uso de “punches” esclerocorneales o del tipo Holth o Walse. Estos instrumentos toman muestras de diámetro uniforme siendo el método preferido.
2. Otra forma de tomar la muestra es utilizando una aguja para levantar la piel y un bisturí para cortar el área levantada; también pueden emplearse pinzas y tijeras curvas.
3. Colocar la biopsia en solución salina a temperatura ambiente y remitir al laboratorio inmediatamente.

Nota: Las biopsias de piel pueden ser obtenidas de regiones corporales seleccionadas, el lugar preferido es la cresta ilíaca o el área escapular; también se puede tomar en la zona de la pantorrilla. Lo ideal es tomar dos muestras de cada uno de estos lugares en ambos lados del individuo.

- **Orina**

Recolectar la totalidad de orina en recipiente limpio durante 24 hs.

- **Líquido de hidrocele**

Sólo si es necesario hacer drenaje o punción.

Envío:

El envase para el transporte de muestra deberá ser el apropiado según normas internacionales para el transporte de material biológico (triple envase), con interior con divisiones para portaobjetos. El tiempo de transporte no deberá superar las 24 horas. La muestra debe venir acompañada de la orden médica y de un resumen de historia clínica con los siguientes datos:

Datos del paciente:

Nombre del paciente, edad y sexo.

Región, provincia, distrito y zona donde se tomó la muestra. Fecha de toma de muestra.

Ciudad o pueblo donde vive el paciente.

Lugar/es de procedencia anterior/es (viajeros). Duración de la estadía

Estado ambulatorio o de internación del paciente. Tratamiento previo.

Teléfono del médico solicitante.