



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

# Clinical laboratory diagnostic techniques used in the identification of the helminth *Ascaris lumbricoides*, a review of the literature

## Técnicas diagnósticas de laboratorio clínico utilizadas en la identificación del helminto *Ascaris lumbricoides*, una revisión de la literatura

Elena Johanna Pérez Laborde<sup>1</sup>  , Yajaira Marilin Rueda Castillo<sup>2</sup>  

<sup>1</sup>Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera de Laboratorio Clínico. Ambato, Ecuador.

<sup>2</sup>Universidad Pontificia Católica del Ecuador Sede Esmeraldas. Esmeraldas, Ecuador.

**Citar como:** Laborde EJP, Castillo YMR. Clinical laboratory diagnostic techniques used in the identification of the helminth *Ascaris lumbricoides*, a review of the literature. *Salud, Ciencia y Tecnología* 2023; 3:786. <https://doi.org/10.56294/saludcyt2024786>

**Enviado:** 30-10-2023

**Revisado:** 25-12-2023

**Aceptado:** 17-02-2024

**Publicado:** 18-02-2024

**Editor:** Dr. William Castillo-González 

### ABSTRACT

Ascariasis is a disease caused by the helminth *Ascaris lumbricoides* (intestinal worm), which infects an average of 819 million individuals. Approximately more than 60 000 people die worldwide each year from this parasite. It is classified as a neglected subtropical endemic disease and is frequently found in Africa, Latin America, and East Asia.

Ascariasis is detected by conventional tests, which are based on the direct identification of *A. lumbricoides* by direct macroscopic examination, traditional microscopy, formaldehyde concentration method, Kato-Katz, McMaster, flotation techniques (such as FLOTAC and Mini-FLOTAC), with the aim of observing helminth eggs; all these are cost-effective tests, but of low or moderate sensitivity. Therefore, molecular biology methods such as conventional PCR and multiplex PCR are an option for the detection of this parasite due to their high sensitivity and specificity, but their low accessibility in endemic countries due to the high prices of reagents and equipment should be considered. Indirect methods based on serology have been used for the identification of *A. lumbricoides*, but they have generated cross reactions with infections by other helminths so there is no specific serological test for this parasite at present. Nowadays, new techniques have been designed with high sensitivity and specificity that allow the diagnosis of ascariasis, among which we can mention detection and identification of *A. lumbricoides* eggs through optical imaging and loop-mediated isothermal amplification.

**Keywords:** Ascariasis; *Ascaris Lumbricoides*; Laboratory Diagnosis; Conventional Techniques; Molecular Techniques; Future Technology.

### RESUMEN

La ascariasis, o ascariasis, es una enfermedad causada por el helminto *Ascaris lumbricoides* (gusano intestinal), que infecta a una media de 819 millones de individuos. Cada año, más de 60 000 personas en todo el mundo mueren a causa de esta infección parasitaria. Está clasificada como una enfermedad endémica subtropical desatendida y ocurre con frecuencia en África, América Latina y el este de Asia. La detección de *Ascaris* se realiza mediante pruebas convencionales basadas en la detección directa de *A. lumbricoides* mediante examen macroscópico directo, microscopía tradicional, método de concentración de formalina-éter, Kato-Katz, McMaster, métodos de flotación (por ejemplo, FLOTAC y Mini-FLOTAC) destinados a seguimiento de huevos de helmintos; todas estas son pruebas convencionales económicas, pero tienen una sensibilidad de baja a moderada. Por lo tanto, los métodos de biología molecular, como la PCR convencional y la PCR multiplex, detección e identificación de huevos por imágenes ópticas, microscopía de campo amplio y confocal, Amplificación isotérmica mediada por bucle LAMP son técnicas futuristas para la detección de

este parásito debido a su alta sensibilidad y especificidad, pero su disponibilidad en países endémicos es baja debido a los altos precios de los reactivos, equipos y capacitación del personal.

**Palabras clave:** Ascariasis; *Ascaris lumbricoides*; Diagnóstico de Laboratorio; Técnicas Moleculares; Tecnología Futura.

## INTRODUCCIÓN

La ascariasis es una enfermedad producida por el helminto *Ascaris lumbricoides*, es considerada como una de las diez infecciones parasitarias más comunes en el mundo que afecta el intestino del ser humano.<sup>(1)</sup> Los gusanos adultos son cilíndricos de color blanco cremoso. El parásito presenta varias etapas de desarrollo: huevo, larvas (mudan desde la primera etapa L1 hasta L4) y adulto.<sup>(2)</sup>

Los helmintos transmitidos por el suelo (HTS) infectan alrededor de 1950 millones de personas en todo el mundo, con un estimado de 819 millones de individuos infectados por *A. lumbricoides*.<sup>(3,4)</sup> La ascariasis humana está muy extendida y constituye uno de los desafíos de salud pública más importantes a nivel mundial.<sup>(5)</sup> Se clasifica como una enfermedad subtropical desatendida, prevaleciendo particularmente en países subdesarrollados con climas tropicales, subtropicales y ecuatoriales los mismos que proporcionan un entorno favorable para la transmisión de la infección durante todo el año y se documenta frecuentemente en África, América Latina y Asia Oriental.<sup>(6)</sup>

La transmisión de *A. lumbricoides* se produce mediante un ciclo biológico directo fecal-oral es decir no necesita de un hospedador intermediario. El adulto hembra produce decenas de miles de huevos que se excretan con las heces, salen al medio ambiente y se ingieren después del contacto con tierra o alimentos contaminados.<sup>(3)</sup>

Las complicaciones por este parásito prevalecen en la infancia provocando daños insidiosos y crónicos como retardo en el crecimiento, deterioro cognitivo, alteración en la absorción de nutrientes, falta de apetito y pérdida de micronutrientes.<sup>(4)</sup> En aquellos pacientes que presentan parasitosis masiva, suele producirse complicaciones severas con cuadros clínicos que requieren intervención quirúrgica debido al cúmulo de parásitos adultos en el tubo digestivo.<sup>(7)</sup>

Según el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública en Ecuador (INSPI) el 80 % de la población rural y el 40 % del área urbana reflejan parasitosis, mediante el Programa Nacional para Abordaje Multidisciplinario de las Parasitosis Desatendidas en Ecuador (PROPAD). Actualmente se está desarrollando una investigación de parasitosis en algunas provincias puesto que no hay un mapeo completo de datos registrados sobre enfermedades parasitarias en el país, en el primer informe preliminar emitido por PROPAD el helminto más encontrado es *A. lumbricoides* en la región Costa y Amazonía tomando el séptimo lugar a nivel global del estudio después de la identificación de protozoos patógenos.<sup>(8)</sup>

Ante esta problemática sanitaria es importante la identificación rápida y acertada de *A. lumbricoides* para una correcta farmacoterapia. El diagnóstico de *A. lumbricoides* involucra una serie de métodos de laboratorio ejecutándose mediante diferentes técnicas convencionales, específicamente una de las técnicas más utilizadas para su diagnóstico es el método de Kato-Katz (KK), entre otras técnicas de identificación macroscópica como visualización de huevos mediante métodos de precipitación, sedimentación, flotación no obstante este conjunto de técnicas poseen una baja sensibilidad.<sup>(3)</sup>

Dado que los métodos tradicionales de identificación microscópica no son suficientemente sensibles para la detección de *A. lumbricoides*, en la actualidad el diagnóstico molecular ofrece técnicas específicas y sensibles para el diagnóstico de este helminto basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), PCR multiplex convencional, amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), microscopía de campo amplio, confocal y óptica.<sup>(9)</sup>

En la siguiente revisión bibliográfica se aportará con técnicas futuristas para la identificación de *A. lumbricoides*. Este conjunto de técnicas proporcionará una guía para la identificación específica de este parásito en países endémicos.

## MÉTODOS

La búsqueda bibliográfica fue realizada en las bases de datos PubMed, Springer, SciELO, Scopus, Google Scholar, Springer Nature, Web of Science y en la biblioteca virtual de la Universidad de Granada España para todas las publicaciones sobre técnicas diagnósticas de *Ascaris lumbricoides*.

### Tipo de estudio y estrategia de búsqueda

Se utilizaron palabras claves como: Soil transmitted/ TSH/ helminth/ *Ascaris* / *A. lumbricoides*/ Ascariasis/ diagnosis/ technique/ method/ Kato Katz/ fecal egg counts/ FLOTAC/ Mini Flotac/ McMaster/ DNA/ Molecular

Identificación/ ELISA/ PCR/ Reacción en Cadena de la Polimerasa/ Polymerase chain reaction/ Multiplex/ qPCR/ Sensibilidad/ Especificidad/ LAMP/ WHO Guid/ 2014/ 2015/ 2016/ 2017/ 2018/ 2019/ 2020 /2021 /2022 /2023, se han buscado publicaciones individuales por título y/o autores cuando ha sido necesario.

Los estudios incluidos fueron artículos científicos, revisiones sistemáticas en el idioma inglés y español de los últimos 10 años que trataban sobre técnicas diagnósticas, morfología, presentación clínica, epidemiología de *A. lumbricoides*. Se excluyeron estudios que diagnosticaban otro tipo de parásito, no aportaban con información relevante y de años de publicación muy antigua.

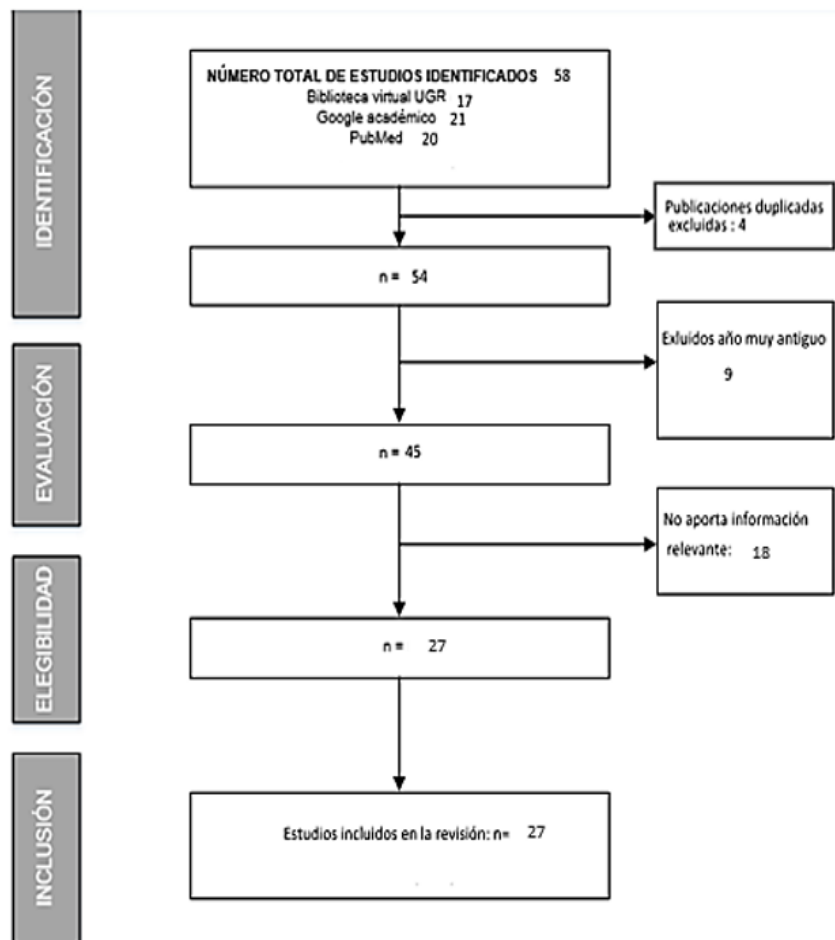
**Selección de publicaciones y extracción de datos**

La selección y exclusión de las publicaciones fue realizada por el investigador mediante la elaboración de una tabla analítica después de evaluar el título y resumen, la información extraída de las publicaciones fue: Fuente documental, año de publicación, palabras claves, metodología, resultados del estudio a nivel de significancia, tablas/ figuras de importancia y conclusiones.

**Resultados de la búsqueda bibliográfica**

En resumen, la búsqueda bibliográfica inicial en la literatura científica arrojó un total de 58 estudios publicados, de los que se realizó la eliminación de 8 duplicados y 23 excluidos por no aportar información relevante a la investigación. Por lo tanto, se incluyeron un total de 27 artículos que se publicaron entre 2014 y 2023 como se observa en la figura 1.

Todos los manuscritos seleccionados se analizaron utilizando un software de gestión de referencias Mendeley.



**Figura 1.** Diagrama PRISMA para una revisión bibliográfica que examina técnicas diagnósticas del helminto *Ascaris lumbricoides*

**RESULTADO Y DISCUSIÓN**

La ascariasis es una de las enfermedades parasitarias que no puede diagnosticarse mediante solo un examen físico y se necesitan pruebas adicionales de laboratorio. Desafortunadamente esta infección en su mayoría permanece sin diagnosticar debido a la falta de personal capacitado y de tecnología apropiada, de la cual son

carentes en los países endémicos. El desprendimiento intermitente de huevos o larvas dificulta aún más el diagnóstico de HTS, ya que no existe una prueba *gold estándar*/test de referencia específico para el diagnóstico de *A. lumbricoides*, lo que dificulta la comparación y estandarización de cualquiera de las técnicas utilizadas en la detección de este helminto.

## DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO CLÍNICO

### Técnicas Moleculares en el diagnóstico de *Ascaris lumbricoides*

Los avances en las técnicas moleculares han proporcionado una ventaja de detección rápida, sensible, específica y de cuantificación precisa de los huevos de HTS, la alta sensibilidad de las técnicas moleculares las hace esencialmente útiles para el control y seguimiento del tratamiento de los HTS.<sup>(10,11,12)</sup>

Se han desarrollado técnicas basadas en la detección y diferenciación de helmintos basadas en el análisis del ADN del parásito en muestras fecales, estas técnicas son: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), PCR multiplex convencional, ensayo de amplificación Isotérmica por bucle (LAMP) a continuación se describirán cada una de estas técnicas utilizadas para el diagnóstico de *A. lumbricoides*.<sup>(13,14,15)</sup>

#### PCR convencional

Es una de las principales técnicas de la biología molecular empleada en el diagnóstico de helmintiasis es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), esta técnica se basa en una reacción enzimática *in vitro*, la cual amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN.<sup>(16,17)</sup>

La enzima utilizada en este método es la ADN polimerasa que tiene la capacidad natural de sintetizar el ADN de las células, esta replicación se da mediante tres fases principales: Desnaturalización en esta etapa la doble cadena de ADN se separa a una temperatura de 95°C entre 20 a 30 segundos. Hibridación en esta fase los cebadores se alinean e hibridarán con su secuencia complementaria. Extensión es la última etapa del proceso donde la Taq polimerasa empieza actuar sobre el complejo molde cebador la enzima empieza con su función catalítica añadiendo los dNTP complementarios para generar el fragmento amplificado de interés.<sup>(8)</sup>

La identificación de *A. lumbricoides* por PCR se realiza mediante el aislamiento de ADN directamente de muestras fecales que han dado positivo en primera instancia al examen microscópico con presencia de huevos de *A. lumbricoides*, la extracción de ADN se realiza mediante minikit (STOOL DNA) o según el protocolo de referencia del laboratorio.<sup>(18)</sup>

Estudios moleculares han ayudado la identificación de *A. lumbricoides* examinando regiones del ADN nuclear y mitocondrial (mtADN) como el gen espaciador interno (ITS1) ha permitido identificar 5 genotipos presentes en humanos (G1-G5) el genotipo G1 es parásito con mayor frecuencia al humano, mitocondrial citocromo oxidasa subunidad (cox1).<sup>(19)</sup>

Según Sanprasert et al.<sup>(18)</sup> sugiere que para la amplificación de la región genómica ITS1 se debe extraer el ADN de heces confirmadas con la presencia de huevos de *A. lumbricoides*, posterior a esta PCR en el cual se añaden los cebadores diseñados para esta amplificación y finalmente confirmar la amplificación de PCR mediante electroforesis en gel de agarosa en el cual se debe verificar el tamaño correcto de la banda de 219 pb de la región genómica ITS1 para la detección de *A. lumbricoides*.<sup>(18,19,20)</sup>

#### Ventajas

La PCR convencional es altamente específica y sensible para la detección de *A. lumbricoides* a partir de muestras de heces que presenten infecciones muy bajas.<sup>(17,18)</sup>

#### Desventajas

La PCR convencional solo puede indicar presencia de infección, utiliza reactivos y equipos de altos costos de difícil acceso para los países endémicos.<sup>(17,18)</sup>

#### PCR multiplex convencional

En países endémicos el poliparasitismo de helmintos se considera común, la alta similitud morfológica de los huevos entre especies relacionadas complica que los métodos convencionales de diagnóstico microscópico que se sabe que carecen de sensibilidad, simplificando de esta manera el diagnóstico al reemplazar a varias pruebas individuales en una sola prueba molecular, especialmente en infecciones de baja intensidad.<sup>(21,22,23)</sup>

El método cuantitativo de PCR multiplex puede proporcionar una identificación rápida de múltiples especies de helmintos en una sola reacción a partir de una sola muestra de heces, siendo así una técnica altamente sensible, detecta HTS a partir de concentraciones muy bajas sin generar una reacción cruzada.<sup>(21,22)</sup>

La metodología empleada en PCR multiplex para identificar diferentes helmintos se basa en extraer ADN a partir de una muestra de heces, se usan cebadores y sondas específicas para cada especie de helmintos. El producto de la PCR multiplex se comprueba por electroforesis mediante un gel de agarosa para comprobar los productos y tamaños esperados de diferentes fragmentos de helmintos como: *S. stercoralis*, *A. lumbricoides* y

*N. americanus*.<sup>(23)</sup>

#### **Ventajas y desventajas**

La PCR multiplex muestra una sensibilidad cinco veces mayor que la técnica de concentración de formalina-acetato de etilo y la microscopía tradicional. PCR multiplex permite la cuantificación del amplicón y la intensidad de la infección asociada, es más sensible que KK y la técnica de flotación para la detección de infecciones y coinfecciones por *A. lumbricoides*, la PCR multiplex detecta con éxito la infección por *A. lumbricoides* junto con múltiples parásitos intestinales. Las limitaciones de este método son semejantes a las de PCR convencional.<sup>(21,22,23)</sup>

#### **Detección e identificación de huevos de *A. lumbricoides* a través de imágenes ópticas**

Esta metodología se basa en la identificación en tiempo real de huevos de helmintos en función de su fluorescencia intrínseca, mediante microscopía de fluorescencia, siendo un método prometedor para identificar helmintos. Esta técnica de imagen no invasiva podría orientar a una mejor comprensión de estas especies que puede ayudar en el control temprano de las enfermedades.<sup>(24,25)</sup>

La identificación de estos parásitos es desafiante debido a sutiles diferencias en la morfología de los huevos. Esto requiere un método sensible para la detección e identificación de huevos de helmintos para su control completo a nivel de cada especie.

En los últimos años, se han desarrollado y aplicado varios métodos para la detección y cuantificación de huevos de helmintos, pero la desventaja de estas técnicas es que requieren mucho tiempo y son laboriosas.<sup>(24)</sup>

#### **Microscopía de campo amplio**

Para la caracterización óptica de los huevos se utiliza microscopía de fluorescencia de campo amplio. Este método se basa en la fluorescencia intrínseca de los huevos de los nematodos para su detección sin el uso de etiquetas y colorantes.<sup>(26,27)</sup>

El huevo de *A. lumbricoides* se puede visualizar fácilmente mediante microscopía óptica. Además, son fluorescentes en la región visible cuando se iluminan con 360 nm y luz láser de 560 nm. Los huevos de *A. lumbricoides* muestran fluorescencia debido a la presencia de lípidos y proteínas en su membrana celular.

#### **Microscopio confocal**

El microscopio confocal tiene una resolución en el plano de 300 nm, pero incluso las características fluorescentes más pequeñas son detectables, y ya que el tamaño del huevo del helmineto oscila entre 40 µm y 75 µm puede detectarse con facilidad con un microscopio confocal, tomándose escaneos de fluorescencia de 100 µm por 100 µm.

Los escaneos confocales representativos de *A. lumbricoides*, reconocidos por su forma redondeada y el diámetro de los huevos fue de 40 µm. Estos huevos mostraron más de 2.0 millones de conteos por segundo usando una potencia de 25 µW, lo que indica emisores muy brillantes en su estructura, la potencia utilizada está muy por debajo del riesgo de daño fototérmico a la muestra<sup>(27)</sup>.

En estos escaneos confocales se observa la fluorescencia roja en donde se encuentran las estructuras de los huevos, lo que indica una característica fluorescente extremadamente brillante incluso con una baja potencia del láser. Esta presencia brillante se atribuye a las características de la membrana externa del parásito ya antes mencionadas.<sup>(27)</sup>

#### **Amplificación isotérmica mediada por bucle LAMP**

El ensayo de amplificación isotérmica (LAMP) es una tecnología única que ha surgido como un enfoque prometedor para la amplificación de ADN. Actualmente tiene una amplia aplicación como herramienta diagnóstica para enfermedades humanas.<sup>(25)</sup>

LAMP es capaz de amplificar rápidamente ácidos nucleicos diana con mayor sensibilidad, especificidad, eficiencia y rapidez en condiciones isotérmicas es decir la reacción ocurre a una misma temperatura en forma continua. Se requiere de un equipo relativamente simple que consta de una incubadora, baño de agua y un bloque de calor que proporciona una temperatura constante. Utiliza una ADN polimerasa de desplazamiento de cadena, lo que permite la amplificación que conduce a la acumulación de una gran cantidad de ADN. La detección colorimétrica de amplificación de ADN permite la inspección visual de los resultados sin necesidad de equipos sofisticados.<sup>(25)</sup>

LAMP es una metodología adecuada para apoyar el control de ascariasis ya que es capaz de detectar una baja cantidad de ADN de un solo huevo de este parásito, por lo que esta técnica sugiere que incluso en las infecciones de baja intensidad de *A. lumbricoides* se puede detectar fácilmente. Tiene un alto rendimiento, por lo tanto, se puede manejar muchas muestras al mismo tiempo.

Estudios recientes han demostrado que LAMP es más sensible y específico que la reacción en cadena de la



polimerasa convencional en infección por *A. lumbricoides* en muestras fecales.<sup>(25)</sup>

La metodología de esta técnica se basa en obtener huevos de *A. lumbricoides* de muestras fecales verificadas previamente mediante alguna de las técnicas microscópicas anteriormente descritas, para realizar la extracción de ADN. Seguido se realiza el diseño de cebadores para la región genómica ITS1, puesto que la efectividad de este método se basa en el diseño específico de cebadores requiriendo de 4 a 6 cebadores, en tercer lugar, se optimizan las temperaturas de incubación ideales que varían entre 56 °C a 63 °C y finalmente se usa la enzima ADN polimerasa más tampón de reacción.

La detección de los productos LAMP se realizan de dos formas visualmente en la cual se usa SYBR Green, o bien se pueden confirmar los resultados usando los productos en un gel de agarosa.<sup>(25)</sup>

### Ventajas

Este método ocurre a una misma temperatura en forma continua lo que es una importante ventaja sobre la PCR tradicional. El ensayo LAMP tiene la capacidad de detectar una baja cantidad de ADN (infección de baja intensidad) de este parásito en comparación con la técnica KK. La especificidad de LAMP es alta para *A. lumbricoides* y no se han observado reacciones cruzadas con parásitos helmintos coexistentes como anquilostomas, *Trichuris trichiura* o *Schistosoma mansoni*, helmintos que con frecuencia están presentes en individuos de países endémicos.

Una de las principales ventajas de LAMP según Shiraho et al.<sup>(25)</sup> sobre las técnicas moleculares convencionales es que no se requiere de equipo sofisticado para confirmar los resultados del método pues se puede visualizar a simple vista, lo que demuestra la viabilidad de utilizar este ensayo. Además, dado que la reacción de la prueba es isotérmica, se puede usar un baño de agua simple para esta prueba lo que puede permitir que la técnica se use en países endémicos de bajos recursos.<sup>(24,25)</sup>

### PROPUESTA OMS 2030

La OMS ha anunciado que el control de la morbilidad es el principal objetivo de salud pública para los HTS *A. lumbricoides* forma parte del grupo de los tres helmintos más importantes en infectar al ser humano. Según las pautas más recientes de la OMS, el control de la morbilidad se define como una prevalencia <2 % de infecciones de intensidad media a alta en niños de edad escolar para el año 2030. Las pautas de tratamiento de la OMS recomiendan la farmacoterapia preventiva mediante la administración masiva de medicamentos para lograr el control de la morbilidad.<sup>(27)</sup>

Para países endémicos con alta prevalencia las guías de la OMS proponen un tratamiento semestral, aunque en estas regiones el objetivo de disminuir la morbilidad es menos probable que se logre de acuerdo al presupuesto que presente cada ministerio de salud en cada uno de estos países.<sup>(28,29,30,31)</sup>

### CONCLUSIONES

El examen microscópico y la técnica de Kato-Katz siguen siendo las pruebas diagnósticas más importantes para la detección de *A. lumbricoides*, las cuales se utilizan especialmente en países endémicos por su costo y facilidad de uso, estos factores son más importantes que la sensibilidad diagnóstica, las pruebas moleculares son muy sensibles en comparación con los tradicionales, por lo que son aptos para el diagnóstico de este helminto. Actualmente, la detección molecular en países endémicos se limita al entorno del área de estudio, debido a que el equipamiento de los laboratorios clínicos públicos y privados es muy costoso. y reactivos de uso diario.

Se desarrollan nuevos y novedosos protocolos de identificación de *A. lumbricoides*, la detección de huevos de mediante imágenes ópticas y LAMP son las últimas técnicas actualmente en uso.

Se proporciona un conjunto de técnicas para uso en el laboratorio clínico para asegurar la identificación de *A. lumbricoides*. La elección del método utilizado para la determinación depende del presupuesto de salud asignado al sector salud de cada país endémico. La mejor opción para la detección de este helminto son las técnicas moleculares, que se prevé utilizar en los próximos años.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cabrera Barroso JL, Jiménez Artigas JC, Nuñez L, Pocaterra L, Rojas E, Hernán A. Evaluación inmunológica de extractos de *Ascaris Lumbricoides* para las inmunoglobulinas IgA en el suero de individuos infectados. Gen. 2014;68(2):48-Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-35032014000200005](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-35032014000200005)
2. Lamberton PHL, Jourdan PM. Human Ascariasis: Diagnostics Update. Curr Trop Med Reports. 2015;2(4):189-200. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26550552/>
3. Shahi P, Chadee K. Neglected Tropical Diseases - South Asia. 2017. 65-82 p. Disponible en: <http://link>.

springer.com/10.1007/978-3-319-68493-2

4. Rosa SL, Santos BM, Soares FA, Loiola SHN, Inácio SV, Suzuki CTN, et al. Use of the aqueous biphasic system as an alternative for concentration of *Ascaris lumbricoides* eggs, with non-toxic separation of faecal residues and fats. *Trop Med Int Health*. 2019;24(11):1320-9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tmi.13308>

5. Ana Belén Santísima-Trinidad, Fernando Jorge Bornay-Llinares, Marcos Martín González, José Antonio Pascual Valero and MRM. Quantitative PCR and Digital PCR for Detection of *Ascaris lumbricoides* Eggs in Reclaimed Water. 2017. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/7515409/>

6. Chiappe G. A, Arteaga K, Resurrección C, Ñavincopa M, Ticona E. Obstrucción intestinal por *Ascaris lumbricoides* en un adulto mayor. *Rev Chil Infectol*. 2016 Oct 1;33(5):572-5.

7. Camila M, Zabala P, Mauricio D, Martín A. Ascariasis, Reporte De Un Caso Diagnosticado Por Colonoscopia Report on a Case of Ascariasis Diagnosed By Colonoscopy. *RevMedicaSanitas*. 2015;18(2):106-11.

8. Castillo-González W. Kinesthetic treatment on stiffness, quality of life and functional independence in patients with rheumatoid arthritis. *AG Salud* 2023;1:20-20. <https://doi.org/10.62486/agsalud202320>.

9. INSPI. Instituto Nacional de Salud Sistema de Vigilancia en Salud Pública. Prevalencia general de las parasitosis desatendidas en el Ecuador: Protozoarios y Helmintos. 2013. Disponible en: <https://www.investigacion.salud.gob.ec/webs/propad/wp-content/uploads/2017/02/prevalencia-general-de-las-parasitosis-desatendidas-en-el-ecuador-protozoarios-y-helmintos.pdf>

10. Hasegawa M, Pilotte N, Kikuchi M, Means AR, Papaiakevou M, Gonzalez AM, et al. What does soil-transmitted helminth elimination look like? Results from a targeted molecular detection survey in Japan. *Parasites and Vectors*. 2020;13(1):1-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3875-z>

11. Yeng, Luis Coello Kuon rrg. Ascariasis: Actualización sobre una Parasitosis Endémica. Dialnet. 2019. Disponible en: <https://docplayer.es/142728381-Rev-hallazgos21-87-vol-4-no-1-2019-ascariasis-actualizacion-ascariasis-actualizacion-sobre-una-parasitosis-endemica.html>

12. Lawrence R. Ash, Thomas C. Orihel WV. World Health Organization. *Can Serv Med J*. 2019;11(3):121-6. Disponible en: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37323/9789241544764\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37323/9789241544764_eng.pdf?sequence=1)

13. Polanco C, Botero LE, Gutiérrez LA, Arias C, Francisca L. Reproducibility a direct examination of faeces and Ritchie (formol-ether) concentration and validity of direct ex-amination of feces for the diagnosis of intestinal parasites. *iMEDPUB Journals*. 2015;11:4. Disponible en: [www.archivosdemedicina.com](http://www.archivosdemedicina.com)

14. Ogolodom MP, Ochong AD, Ego EB, Jeremiah CU, Madume AK, Nyenke CU, et al. Knowledge and perception of healthcare workers towards the adoption of artificial intelligence in healthcare service delivery in Nigeria. *AG Salud* 2023;1:16-16. <https://doi.org/10.62486/agsalud202316>.

15. Von Schiller ICR, Berrío LPM, Giraldo MLS, Palacio MNM, Garcés JHB. Evaluación de tres técnicas coproparasitológicas para el diagnóstico de geohelminthos intestinales. *latreia*. 2014;26(1):15-24. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v26n1/v26n1a02.pdf>

16. Liu C, Lu L, Zhang L, Bai Y, Medina A, Rozelle S, et al. More poop, more precision: Improving epidemiologic surveillance of soil-transmitted helminths with multiple fecal sampling using the Kato-Katz technique. *Am J Trop Med Hyg*. 2017;97(3):870-5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5590569/>

17. Leuenberger A, Nassoro T, Said K, Fenner L, Sikalengo G, Letang E, et al. Assessing stool quantities generated by three specific Kato-Katz thick smear templates employed in different settings. *Infect Dis Poverty*. 2016;5(1):58. Disponible en: <http://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-016-0150-9>

18. Alfredo Fernández-Niño J, David Ramírez J, Consuelo López M, Inés Moncada L, Reyes P, Darío Heredia R. Agreement of the Kato-Katz test established by the WHO with samples fixed with sodium acetate analyzed at 6 months to diagnose intestinal geohelminthes. *Acta Trop*. 2015;146:42-4. Disponible en: <https://www>

sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X15000522

19. Jourdan PM, Lamberton PHL, Fenwick A, Addiss DG. Soil-transmitted helminth infection. Vol. 391, The Lancet. Lancet Publishing Group; 2018. p. 252-65. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014067361731930X>

20. Sanprasert V, Kerdkaew R, Srirungruang S, Charuchaibovorn S, Phadungsaksawasdi K, Nuchprayoon S. Development of conventional multiplex PCR: A rapid technique for simultaneous detection of soil-transmitted helminths. Pathogens. 2019;8(3):1-13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6789620/pdf/pathogens-08-00152.pdf>

21. Pilotte N, Papaikovou M, Grant JR, Bierwert LA, Llewellyn S, McCarthy JS, et al. Improved PCR-Based Detection of Soil Transmitted Helminth Infections Using a Next-Generation Sequencing Approach to Assay Design. Albonico M, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2016;10(3):e0004578. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0004578>

22. Hernández-Flórez N. Breaking stereotypes: “a philosophical reflection on women criminals from a gender perspective”. AG Salud 2023; 1:17-17. <https://doi.org/10.62486/agsalud202317>.

23. Das K, Chowdhury P, Ganguly S. Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) based sequence typing reveals phylogenetically distinct Ascaris population. Comput Struct Biotechnol J. 2015;13:478-83. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4579273/>

24. Gordon CA, McManus DP, Acosta LP, Olveda RM, Williams GM, Ross AG, et al. Multiplex real-time PCR monitoring of intestinal helminths in humans reveals widespread polyparasitism in Northern Samar, the Philippines. Int J Parasitol. 2015 Jun 1;45(7):477-83. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751915000752>

25. Gowon AI, Baba OV, Baba OI, Aaron Akpu P, Ezinne Lynda A. Ascaris lumbricoides Infection Using Microscopy and IgG4 Detection Techniques in a School Children Population in Central Nigeria: An Epidemiological Study. J Infect Dis Treat. 2018 Jun 21;04(01).

26. Al-tameemi K, Kabakli R. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control. 2020;13(4):20-3.

27. Qazi F, Khalid A, Poddar A, Tetienne JP, Nadarajah A, Aburto-Medina A, et al. Real-time detection and identification of nematode eggs genus and species through optical imaging. Sci Rep. 2020;10(1):1-12. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-63747-5#Sec11>

28. Auza-Santivañez JC, Lopez-Quispe AG, Carías A, Huanca BA, Remón AS, Condo-Gutierrez AR, et al. Improvements in functionality and quality of life after aquatic therapy in stroke survivors. AG Salud 2023;1:15-15. <https://doi.org/10.62486/agsalud202315>.

29. Shiraho EA, Eric AL, Mwangi IN, Maina GM, Kinuthia JM, Mutuku MW, et al. Development of a Loop Mediated Isothermal Amplification for Diagnosis of Ascaris lumbricoides in Fecal Samples. J Parasitol Res;2016. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5108867/>

30. Rashwan N, Diawara A, Scott ME, Prichard RK. Isothermal diagnostic assays for the detection of soil-transmitted helminths based on the SmartAmp2 method. Parasit Vectors. 2017;10(1):496. Disponible en: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2420-1>

31. Insights from quantitative analysis and mathematical modelling on the proposed WHO 2030 goals for soil-transmitted helminths. Gates Open Res. 2019; 3:1632. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6869437/>

## FINANCIACIÓN

Los autores no recibieron financiación para el desarrollo de la presente investigación.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.



**CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA**

*Conceptualización:* Elena Johanna Pérez Laborde, Yajaira Marilyn Rueda Castillo.

*Investigación:* Elena Johanna Pérez Laborde, Yajaira Marilyn Rueda Castillo.

*Metodología:* Elena Johanna Pérez Laborde, Yajaira Marilyn Rueda Castillo.

*Redacción - borrador inicial:* Elena Johanna Pérez Laborde, Yajaira Marilyn Rueda Castillo.

*Redacción - revisión y edición:* Elena Johanna Pérez Laborde, Yajaira Marilyn Rueda Castillo.