



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Informe final de investigación previo a la obtención del título de:
**LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA SALUD EN LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO**

TRABAJO DE TITULACIÓN:

Comparación de técnicas de detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no
biológicas

Autora:

Ruth Blanca Avilés Huatatoca

Tutora:

Dra. Luisa Carolina Gonzáles Ramírez

Riobamba-Ecuador

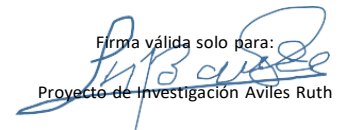
2021

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: **“Técnicas de detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas”**. Presentado por Ruth Blanca Avilés Huatatocha, dirigido por la Dra. Luisa Carolina González Ramírez PhD, una vez escuchada la defensa oral y realizado el informe final del proyecto de revisión bibliográfica con fines de graduación, escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para el uso y custodia de la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH.

Para la constancia de lo expuesto firman:

Mgs. Aída Mercedes Balladares Saltos
Presidenta del tribunal

Firma válida solo para:

Proyecto de Investigación Avilés Ruth

.....
Firma

Dra. Yisela Carolina Ramos Campi
Miembro del tribunal

Firma válida solo para:

Titulación Especial

.....
Firma

Mgs. Félix Atair Falconí Ontaneda
Miembro del tribunal

Firma válida solo para:

Proy Titulación Avilés 24/6/2021

.....
Firma

CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, Luisa Carolina González Ramírez, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado: **“Comparación de técnicas de detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas”**, propuesto por **Ruth Blanca Avilés Huatatoca**, egresado de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto.

Riobamba, 02 de junio de 2021



.....
Dra. Luisa Carolina González Ramírez
Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, corresponde exclusivamente a: Ruth Blanca Avilés Huatatoa y el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



.....
Ruth Blanca Avilés Huatatoa

150091502-8

AGRADECIMIENTO

Mi gratitud a Dios Padre Todopoderoso, por todas las bendiciones que me ha dado, por darme fuerza y conocimiento para luchar día a día y forjar mi camino para encontrarme donde estoy ahora.

Mi agradecimiento imperecedero a la Universidad Nacional de Chimborazo, a sus ilustres Catedráticos, y especialmente a mi tutora Luisa Carolina González por darme la oportunidad de profesionalizarme quienes, con sus sabias orientaciones, me permitieron transitar por el camino del bien y en especial de la ciencia, para realizarme como profesional al servicio de la salud.

Ruth Avilés

DEDICATORIA

Con todo mi cariño mi tesis la dedico a mis padres y a mi hermana, por todo el amor y el apoyo incondicional que me han brindado durante el transcurso de mi vida, por los valores que me han inculcado, por darme fuerza para forjar mi camino para encontrarme donde estoy ahora.

Ruth Avilés

ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
CAPÍTULO II.....	17
METODOLOGÍA.....	17
CAPÍTULO III.....	23
DESARROLLO.....	23
Técnicas aplicadas en muestras biológicas.....	23
Heces Humanas.....	23
1. Técnicas de concentración por sedimentación:.....	23
2. Técnicas de concentración por flotación.....	24
3. Técnicas de cuantificación de huevos.....	25
4. Técnicas de coloración.....	27
5. Técnica especial:.....	28
6. Técnicas de cultivo o aislamiento de larvas:.....	28
7. Técnicas alternativas.....	29
Heces de animales.....	30
2. Técnicas de concentración por sedimentación:.....	30
3. Técnicas de concentración por flotación:.....	31
5. Técnicas de cuantificación de huevos.....	32
Insectos.....	32
1. Técnica de sedimentación:.....	32
2. Kinyoun:.....	33
Métodos inmunológicos:.....	33
Suero humano.....	33
1. Ensayo Inmunoenzimático (ELISA);.....	33
Alimentos.....	34
1. Sedimentación espontánea:.....	34
2. Faust:.....	34
3. Kinyoun:.....	34
4. Inmunofluorescencia:.....	34
Técnicas aplicadas en muestras no biológicas.....	35
Agua.....	35

1. Sedimentación espontánea:	35
1.1. Bailenger (modificado):	35
Suelo	35
1. Sedimentación:	35
2. Flotación:	36
2.1 Faust:	36
2.2 Willis:	36
2.3 Baermann:	36
2.4 Sheather:	37
CONCLUSIONES:	44
BIBLIOGRAFÍA	45

RESUMEN

La parasitosis afectaba solo a países en vías de desarrollo y regiones tropicales, pero actualmente con la globalización se han ampliado al resto de países desarrollados, debido al aumento de infección en animales reservorios, diseminación en insectos vectores y vehículos como el agua y alimentos. El objetivo de este trabajo fue comparar técnicas de determinación de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, para determinar su aplicabilidad en los Laboratorios de diagnóstico. La metodología aplicada en esta investigación es de nivel descriptiva, diseño documental, cohorte transversal y retrospectiva. Para la muestra de estudio, se obtuvieron documentos de fuentes primarias y secundarias, estuvo conformada en su totalidad por 59 publicaciones que abordan el tema de investigación, los documentos fueron registrados en las siguientes bases de datos: NCBI (5), PubMed (10), JURN (8), Google académico (14), Scielo (10), Mediagraphic (2), Elseiver (7), además de páginas web como; MINSA (1), INEC (1) y documentos electrónicos como; libros (2), tesis de pregrado (1) y manuales (3), aplicando criterios de inclusión y exclusión. Los resultados revelaron que, las muestras biológicas y no biológicas necesitan realizar la técnica de sedimentación y filtración de muestras para identificar parásitos, no obstante, las muestras de suelo es más común encontrar huevos o quistes parasitarios. Se concluye que no todas las muestras aplican el mismo procedimiento para determinar parásitos, ya que cada una tiene diferentes características, así como, las muestras de insectos necesitan ser disecados, lavados o macerados para obtener el sedimento contenido de enteroparásitos.

Palabras claves: enteroparásitos, sedimentación, vectores, diseminación, técnicas.

ABSTRACT

Parasitoses used to affect only developing countries and tropical regions, but nowadays with globalization they have been extended to the rest of developed countries, because of the increase of infection in reservoir animals, dissemination in insect vectors and by means of water and food. The aim of this research was to compare techniques for the determination of enteroparasites in biological and non-biological samples, to determine their application in diagnostic laboratories. The methodology applied in this research is descriptive, documentary design, cross-sectional cohort and retrospective. According to the study sample, documents were obtained from primary and secondary sources, and consisted entirely of 59 publications that relate the research topic; the documents were registered in the following databases: NCBI (5), PubMed (10), JURN (8), Google academic (14), Scielo (10), Mediagraphic (2), Elsevier (7), in addition to web pages such as; MINSA (1), INEC (1) and electronic documents such as; books (2), undergraduate theses (1) and manuals (3), applying inclusion and exclusion criteria. The results revealed that biological and non-biological samples require the sedimentation and filtration technique to identify parasites; however, it is more common to find parasite eggs or cysts in soil samples. It is concluded that not all samples apply the same procedure to determine parasites, since each one has different characteristics, as well as, insect samples need to be dissected, washed or macerated to obtain the sediment containing enteroparasites.

KEYWORDS:

ENTEROPARASITES / SEDIMENTATION / VECTORS / DISSEMINATION / TECHNIQUES.

Reviewed by:



Firmado electrónicamente por:

**ENRIQUE JESUS GUAMBO
YEROVI**

Msc. ENRIQUE GUAMBO YEROVI.

English Professor

CI:0601802424

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

Los parásitos intestinales son protozoos o helmintos que ingresan al organismo de su hospedador teniendo como hábitat definitivo el intestino. Las infecciones eran comunes en países en vías de desarrollo y regiones tropicales, pero actualmente con la globalización se han ampliado los límites geográficos de la transmisión de parásitos, debido al aumento de infección en animales reservorios, diseminación en insectos vectores y vehículos como el agua y los alimentos¹, por lo que el laboratorista clínico puede y debe colaborar en la detección de parásitos, mediante diferentes métodos y técnicas en muestras biológicas y no biológicas para esclarecer las condiciones epidemiológicas que determinan la transmisión.

Tradicionalmente, los laboratoristas clínicos llevan a cabo el diagnóstico de infecciones parasitarias en seres humanos, mediante el empleo de técnicas parasitológicas que permiten la identificación de trofozoítos, quistes y ooquistes de protozoos, así como, huevos y larvas de helmintos en muestras fecales². El diagnóstico microscópico de las heces es una herramienta de investigación rutinarias, que pueden ser completada con pruebas inmunológicas y moleculares para diferenciar especies morfológicamente idénticas³.

Los parásitos intestinales utilizan diferentes rutas para ingresar al hospedador, la más común es la vía oral, algunas especies son capaces de ingresar por vía nasal, otras por vía cutánea, esta última es utilizada por familias que cumplen ciclos biológicos en la tierra e ingresan activamente a través de la piel. También, se debe recordar que existen helmintos que pueden ingresar por vía anal, cumpliendo un mecanismo conocido como retro infección, que puede ocurrir en casos de enterobiasis y strongiloidiasis⁴.

Entre los principales factores de riesgo asociados a la transmisión de parásitos intestinales se encuentra la contaminación hídrica, debido a que el agua se comporta como un eficiente vehículo para la diseminación de parásitos⁵. La contaminación de los productos vegetales obtenidos de los cultivos, ocurre por el riego con agua contaminada, bien sea, que se conduce por canales de irrigación abiertos donde drenan las formas parasitarias infectantes que se

encuentran en el suelo y son arrastradas por el agua de lluvia o por la fertilización con excretas de animales parasitados que contaminan el suelo ⁶.

Recientemente, se ha realizado el estudio en el “Río Turbio” en la ciudad de Barquisimeto, Venezuela, detectándose una alta diversidad y abundancia de enteroparásitos con: *Chilomastix mesnili* en el 43,33% de las muestras, *Entamoeba coli* 23,33%; *Uncinaria* sp 26,67%; *Blastocystis* sp; 13,13%; *Entamoeba histolytica/E. dispar* 10%, *Pentatrichomonas* sp; *Giardia* sp 6,67%; *Endolimax nana*; *Strongyloides* sp y *Ascaris lumbricoides* con 3,33% ⁷.

La parasitosis intestinal es conocida como una de las infecciones más comunes, siendo un problema de salud pública a nivel mundial, debido a que la transmisión está condicionada por factores como: amplia distribución mundial de alimentos procedentes de zonas endémicas de parásitos, bajo nivel socioeconómico, emigración, inmigración, insuficientes condiciones sanitarias entre otros. En Ecuador se calcula que la parasitosis afecta aproximadamente el 80% de la población de áreas rurales y el 40% en zonas urbano-marginal⁸.

Se estima que el 4% del total de muertes en el mundo se debe a la contaminación del agua y el 60% de los casos de giardiasis que ocurren en Estados Unidos son transmitidos por vía hídrica. El 62% en los hogares con niños menores de 12 años presentan en condiciones de pobreza, por tal motivo, los infantes son más vulnerables que aquellos con mejores condiciones socioeconómicas. Ecuador fue ubicado en el 7^{mo} lugar de países con mayor tasa de pobreza en Latinoamérica. De acuerdo al Censo realizado por el Instituto Ecuatoriano de Estadística y Censo (INEC) en el 2010, se registró en Ecuador, 3.643.806 niños y niñas menores de 12 años⁹.

También, ha sido descrito que, en Ecuador no se conoce con exactitud la verdadera prevalencia de las enteroparasitosis, debido a que existen subregistros y pocos estudios publicados sobre esta problemática. En Ecuador la parasitosis intestinal es clasificada dentro del grupo de enfermedades desatendidas, para tratar de solventar esta situación, se ha establecido un programa para la atención de parasitosis desatendidas (PROPAD) para su investigación ¹⁰.

Un estudio realizado en expendedores y hortalizas de los mercados públicos de Cuenca, determinó la presencia de parásitos en el 68,10% de expendedores y productos vegetales en venta. Entre los principales parásitos detectados en las personas se describe *Entamoeba histolytica* 19,03% y *Cryptosporidium parvum* 16,45, mientras que, las especies más frecuentes en las hortalizas fueron *Endolimax nana* 41,37%; *Entamoeba coli* 21,83%; *Entamoeba histolytica* 13,79% y las larvas filariformes de *Uncinaria* sp 5,74% ¹¹.

Las parasitosis intestinales son causadas por dos tipos de parásitos; helmintos, que son gusanos macroscópicos y los protozoos que constituyen organismos unicelulares que se producen dentro del hospedador. De acuerdo a su estado inmune, la cantidad de parásitos y el grado de patogenicidad de las especies, pueden causar enfermedades que afectan al tracto digestivo causando trastornos; intestinales, hematológicos, nutricionales, pondoestaturales, cognitivos, entre otros ¹².

La transmisión de las infecciones parasitarias está determinada por condiciones socioeconómicas e higiénicas precarias. El ser humano condiciona la transmisión de parásitos con acciones como; construcción de canales de riego, fertilización de cultivos con estiércol fresco, construcción de pozos sépticos cercanos a fuentes de agua, mantenimiento de animales sin tratamiento antiparasitario, ausencia de control de plagas, que pueden actuar como reservorios y vectores de parásitos, respectivamente ⁵.

El agua es un elemento importante en la dispersión de las formas parasitarias infectantes, los quistes y huevos son resistentes a las condiciones medioambientales y pueden permanecer viables en el agua, lo que hace posible la infección de hospedadores a grandes distancias. El suelo también es fundamental en la viabilidad de formas infectivas parasitarias en el ambiente. Como se ha comprobado en una investigación de la arena de playas con animales callejeros y sus heces que favorecen la transmisión de enfermedades infecciosas ⁶.

La materia fecal de algunos animales reservorios huevos o larvas de geohelminos, que pueden persistir en el ambiente, su dosis infecciosa es mínima y presentan la capacidad de permanecer en el suelo por largos períodos⁶. Los suelos arenosos favorecen la evolución de estos parásitos,

debido a sus características geológicas y sedimentos no consolidados, que admiten las variaciones de humedad, requeridas para convertirse en formas capaces de infectar al hospedador ¹³.

Los residuos sólidos acompañados de productos desechables no utilizables y producción inapropiada de residuos contribuyen a la proliferación de agentes infecciosos, los insectos vectores también son una de las causas fundamentales en la diseminación de agentes infecciosos, debido a que estos pueden desplazarse a través del vuelo a largas distancias¹⁴. Las moscas y cucarachas funcionan como eficientes vectores mecánicos, debido a que, transportan formas infectantes de enteroparásitos en su interior (intestino) o superficie (pelos, cerdas, alas y patas¹⁵.

Los parásitos son organismos que se alojan en seres vivos superiores a ellos, para nutrirse y completar el ciclo de vida. Además, permanecen viables en reservorios animales, insectos vectores y vehículos como el agua, el suelo o los alimentos ¹⁴. Se pueden aplicar diferentes técnicas de análisis directo, concentración por sedimentación, flotación, cuantificación de parásitos, aislamiento de larvas o técnicas especiales. Así como, coloraciones que son utilizadas para lograr la visualización de protozoos o helmintos en muestras de origen biológico o no biológico ¹⁶.

También, existen métodos inmunológicos que, con sus diferentes técnicas constituyen una herramienta de gran utilidad para la detección de anticuerpos y antígenos parasitarios que pueden ser aplicables en muestras biológicas y no biológicas. De más reciente aplicación están las técnicas que constituyen el método diagnóstico molecular, entre las que se descartan la reacción en cadena de la polimerasa con sus siglas en inglés PCR y la hibridación *en situ* ¹⁷.

Técnicas aplicadas en muestras biológicas:

Heces humanas

La técnica de examen directo, es utilizado para observar formas móviles de parásitos, como trofozoítos de protozoos o larvas de helmintos. El procesamiento debe realizarse a la brevedad, debido a que los estadios morfológicos pierden su movilidad¹⁸.

-Técnicas de concentración por sedimentación: se basan en la utilización de soluciones poco pesadas para que los parásitos se vayan al fondo del tubo. Ejemplo: concentrado corriente y Ritchie¹⁶.

-Técnicas de concentración por flotación: utiliza soluciones saturadas de alta densidad que hace flotar los protozoos y huevos livianos. Ejemplo: Faust, Willis y Sheater¹⁸.

-Técnicas de cuantificación de huevos: son técnicas estandarizadas con las que se determina la intensidad parasitaria medida en huevos por gramo de heces o en cantidad de gusanos en el intestino. Es imprescindible calcular la cantidad de huevos por gramos de heces para posteriormente determinar el número de gusanos que parasitan a los individuos. Ejemplo: Kato-Katz y Stoll¹⁹.

-Técnicas de coloración: emplean colorantes que facilitan la visualización de los parásitos. Ejemplo: Ziehl Neelsen modificado o Kinyoun y Hematoxilina férrica²⁰.

-Técnicas especiales: se utiliza una cinta adhesiva para recuperar los huevos de *Enterobius vermicularis* o *Taenia* spp., de la región perianal. Ejemplo: Graham²⁰.

-Técnicas Cultivo o aislamiento de larvas: se fundamentan en el hidro y termotropismo positivo de las larvas: Ejemplo: Baermann, Harada- Mori²⁰.

Técnicas aplicadas en heces de animales

Actualmente se ha observado la tendencia de adquirir mascotas ya sea perros o gatos, quienes conviven estrechamente con niños y ancianos, pero muchos de ellos no saben que estas mascotas en sus heces fecales eliminan quistes, ooquistes, huevos y larvas, que al no aplicar una medida de control al tratar sus desechos fecales y al no practicar un buen hábito higiénico se ingiere

accidentalmente y por ende si una persona ingiere huevos de *Toxocara canis*, esta causa la toxocariosis humana ²¹.

En las zonas agrícolas y ganaderas predominan animales vacunos y porcinos que, al realizar un saneamiento deficiente o nulo, favorece la contaminación con heces humanas del suelo y el agua, permitiendo la infección de vacunos y porcinos, por lo tanto, es necesario conocer técnicas para detectar parásitos intestinales²², técnicas accesibles como:

-El examen directo en heces de animales domésticos, como el perro, gato etc, aplican el mismo procedimiento utilizado en el diagnóstico de parásitos en heces humanas, pero siempre y cuando estas muestras sean frescas. Para realizar estudios epidemiológicos o de investigación de factores que causan la parasitosis en humanos, aplican técnicas que permiten identificar huevos, quistes y larvas presentes en heces de animales, a continuación, se expresa las técnicas aplicadas para determinar enteroparásitos en heces de animales²².

-La técnica de concentración mediante sedimentación, puede ser espontánea o por centrifugación, la muestra de heces de animales también es procesada mediante el concentrado corriente y Ritchie, mismas aplicadas en heces de humanos²³.

-Técnica de concentración mediante flotación: se basa en el uso de sustancias con densidad específica elevada, que hace que el material parasitario se eleve a la parte superior del tubo permitiendo la recuperación de quistes, ooquistes y huevos de helmintos livianos, la gran desventaja de estas técnicas y que los huevos pesados se van al fondo del tubo, perdiendo la posibilidad de su detección. Ejemplo: Gordon e Whitlock, Faust ¹⁹.

-Técnicas de filtrado para eliminación de celulosa en muestras fecales: las muestras fecales de herbívoros contienen mucha celulosa que impide la visualización de los parásitos, por lo que se recomienda filtrar en tamices de diferentes tamaños de poro, por lo general, antes de aplicar cada técnica se realiza el filtrado¹⁶.

-Técnicas de cuantificación de huevos: Para las muestras fecales veterinarias, se emplea la cuantificación en cámara de McMaster ²².

Insectos vectores

Los insectos son los causantes de la diseminación de agentes patógenos e infecciosos relacionados con la parasitosis, los insectos vectores como las moscas se desplazan a través del vuelo a largas distancias, transportando en su interior o superficie enteroparásitos. Asimismo, estos vectores eliminan enteroparásitos en sus heces o al regurgitar la comida anterior para alimentarse de nuevo, también los parásitos son eliminados por las heces de los dípteros, además las moscas se desarrollan en materiales biológicos en descomposición, como las heces, basura, cadáveres, etc, de manera que facilita la contaminación o infección con patógenos ¹⁵.

Para el aislamiento de parásitos de la superficie del insecto se realiza en vectores mecánicos como moscas y cucarachas. Estos vectores pueden presentar enteroparásitos de interés médico zoonótico y pueden ser detectados aplicando diferentes técnicas ¹⁵.

Las cucarachas son vectores que pueden o no presentar enteroparásitos de interés médicozoonótico en un elevado porcentaje (>97%) como: *Blastocysti* sp principalmente y *Leptomonas* sp ¹³. La tinción de Kinyoun (alcohol ácido-resistente), permite identificar ooquistes de coccidios intestinales, se miden con ayuda de un ocular calibrado ²⁴.

Al analizar las moscas, se puede encontrar principalmente *Blastocystis* spp., *Endolimax nana*, *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba histolytica*/E.*dispar*, *Entamoeba coli*, *Iodamoeba butschilii* y Ancylostomideos ¹⁵.

Método Inmunológico

Suero humano

Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): es una excelente técnica para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG anti-*Entamoeba histolytica* RIDASCREEN E. *histolytica*. Se realiza la

lectura a una longitud de onda de 450 nm y se expresa en densidad óptica (DO). Se determina un punto de corte con los valores obtenidos. Se considera valores positivos; $\geq 1,1$ y valores negativos; $\leq 0,9$ ²⁵.

Inmuno Fluorescencia Indirecta: es una técnica inmunológica que muestra excelente sensibilidad y especificidad, sin embargo, requiere del microscopio de fluorescencia y reactivos de alto costo, por esta razón no se realiza en laboratorios de rutina ¹⁶.

Alimentos

Los alimentos como los vegetales, es consumida diariamente por la humanidad y muchas de ellas son consumidas crudas, como el caso de la lechuga. Varios estudios realizados han sugerido la posibilidad de transmisión de parásitos intestinales por la ingestión de frutas y verduras crudas cultivadas en áreas contaminadas por residuos de heces o huertos donde se emplean abonos orgánicos. Los vegetales pueden llegar a ser un vehículo de transmisión de parásitos intestinales, sobre todo en la poblaciones urbanas y rurales consumen alimentos o vegetales sin una correcta limpieza de estas²⁶.

Para determinar enteroparásitos en este tipo de muestras se utiliza la sedimentación espontánea, técnica de Faust, coloración de kinyoun. La lechuga es considerada uno de los vegetales más contaminados, se ha descrito en ellas: *Entamoeba* spp, *Strongyloides stercoralis*, *Toxocara* spp., entre otros ²⁶.

Los vegetales de establecimientos de “comida rápida”: ha sido bien documentado el riesgo que implica el consumo de alimentos expendidos en puestos ambulantes ²⁵. Existen reportes de la presencia de: *Entamoeba histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*, *Blastocystis* spp; *Giardia* spp y Ancylostomídeos ²⁷.

-Método de recolección de muestra: Se recoge al azar muestras de vegetales picados sin aderezos, estas corresponden a hortalizas que se consumen crudas. Para visualizar mejor las

estructuras parasitarias puede utilizar Solución Yodada para teñirlas. Mientras que, para reconocer los coccidios debe realizar la tinción de Kinyoun ²⁸.

Técnicas aplicadas en muestras no biológicas:

Agua

La contaminación parasitaria del agua, indica la presencia de material fecal dispersada por el agua actuando como vehículo de formas parasitarias, que pueden ser resistentes a las condiciones ambientales y estas al consumirla por los pobladores que se abastecen de estas, pueden infectar y enfermarlos⁷.

De acuerdo a González et al, se ha demostrado mediante un análisis comparativo realizado a 3 tipos de cuerpos hídricos; agua entubada que surte a viviendas, agua de regadío y agua estancada en pozos, determinación realizada mediante la aplicación de técnicas sedimentación, flotación y cuantificación de huevos. Donde al comparar resultados de cada uno de ellos, se concluye que el agua con menos contaminación es el agua entubada que surte a las viviendas (57,14%), a diferencia del agua de regadío y estancada en pozos, resultaron contaminadas al (100%), es decir todas las muestras obtenidas del agua de regadío y estancada en pozos resultaron contaminadas⁶.

También se determinó la frecuencia de los géneros parasitarios presentes en los 3 tipos de cuerpos de agua, el resultado del agua entubada presentó menos contaminación por protozoarios y helmintos: Amebas de vida libre (1,36%), *Balantidium* spp. (7,48%), *Eimeria* spp. (5,44%) y larvas de nematodos (0,68%). Mientras que, los resultados del agua estancada indican mayor contaminación con *Entamoeba* spp. (56,67%), *Giardia duodenalis* (23,33%) y *Cyclospora* spp. (6,67%). Finalmente, el agua de regadío se determinó la presencia de microorganismos de vida libre en un mayor porcentaje: *Psorospermium hackeli* (13,51%), ciliados de vida libre (67,57%), flagelados de vida libre (89,19%) y Diatomeas (70,27%)⁶.

La detección de parásitos en muestras de agua es difícil, por lo que siempre se recomienda recolectar grandes cantidades de agua, como mínimo 20L, utilizando envases de plástico de paredes lisas y tapa hermética para evitar derrames durante el traslado al laboratorio⁷.

- Sedimentación por centrifugación: permite obtener el sedimento al cual se le agrega formalina al 7%, para fijar las formas de los parásitos. Para aumentar la probabilidad de extracción de parásitos se pueden aplicar las técnicas de Ritchie y Sheater ⁷.

-Técnica de cuantificación de huevos de helmintos en agua, modificada por Bouhoum y Schwartzbrod: permite cuantificar los huevos de helmintos por litro de agua, e identificar otras especies de parásitos de manera simple y efectiva ⁷.

Suelo

En este tipo de muestras se puede identificar trofozoítos, larvas, huevos de helmintos, quistes y ooquistes de protozoos¹⁴.

Ancylostoma sp. es uno de los parásitos encontrados con más frecuencia en arena de playas turísticas, debido a que estos parásitos son cosmopolitas de regiones tropicales y subtropicales. Los suelos que retienen humedad permiten su desarrollo, de manera que la fuente de infección para el ser humano, son arenas contaminadas con heces de animales como el gato o perro infectados con *Ancylostoma* sp. ¹⁴.

También *Strongyloides* sp son encontrados frecuentemente en muestra de suelo y arena, este helminto puede replicarse dentro del huésped humano, las larvas de *Strongyloides* sp, presentes en el suelo, penetran a través de la piel, sobre todo en personas que caminan descalzos. Esta infección puede ser asintomática, pero en el caso de personas inmunocomprometidas, con desnutrición o con enfermedades que desarrollan hiperinfecciones, el parásito puede causar autoinfección interna y multiplicarse dentro del huésped¹⁴.

-Técnica de flotación: permite detectar huevos de nemátodos y cestodos.

-Técnica de aislamiento de larvas del suelo

-Técnica de Baermann: se fundamenta en el termo e hidrotropismo positivo que muestran las larvas de nematodos. Es una técnica de aislamiento de larvas de gran utilidad para analizar muestras de tierra o arena²⁰.

Restrepo et al. (2012), asumen que en los laboratorios de Colombia una práctica rutinaria para realizar un examen parasitológico de forma rápida, es el examen directo en solución salina y Lugol, debido a que no todos los laboratorios cuentan con materiales para aplicar la técnica de Ritchie. De acuerdo al Sistema General de Seguridad Social en Colombia (Ley 100 de 1993) autoriza la utilización de un coprológico directo para el diagnóstico de parásitos intestinales¹⁹.

Restrepo et al. (2012), también evidenció que el diagnóstico de geohelmintiasis, requiere la utilización de técnicas adicionales que aumentan la sensibilidad de las muestras, es decir aumentar la probabilidad de obtener muestras positivas, por lo tanto, concluyen que la técnica de Kato-Katz ofrece resultados confiables para el diagnóstico de geohelmintiasis intestinales en Colombia¹⁹.

De acuerdo a los antecedentes mencionados y la información de factores que causan la enteroparasitosis, surge el planteamiento de la siguiente pregunta ¿Es importante conocer las técnicas utilizadas para la determinación de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas? Debido a la prevalencia de enteroparásitos en el humano a causa de contaminación mediante diferentes factores, se considera importante realizar una comparación de técnicas de detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, que permita documentar las diferentes técnicas y la importancia de su aplicabilidad en los laboratorios de diagnóstico con el fin de generar un aporte a la salud pública.

Este estudio permite conocer los diferentes procedimientos de análisis de muestras biológicas y no biológicas, que se emplean para detectar parásitos intestinales. Esto se logra mediante la recopilación de documentos publicados, con esta información se conoce las técnicas que son aplicadas en investigaciones clínicas y epidemiológicas, que servirán en la formación profesional de los laboratoristas, para que puedan integrarse en equipos que realiza en estudios epidemiológicos, donde se busque dilucidar fuentes de infección, reservorios, vectores y

vehículos de parásitos que contaminan a los seres humanos, contribuyendo en los programas sanitarios de control integrado de parásitos, buscando mejorar la calidad de vida de pobladores de áreas rurales y urbanas.

El objetivo del proyecto investigativo fue comparar las técnicas de detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, mediante una investigación bibliográfica, para determinar su aplicabilidad en los Laboratorios de diagnóstico.

CAPÍTULO II.

METODOLOGÍA

La presente investigación se desarrolló de acuerdo a las siguientes consideraciones.

Nivel

De tipo descriptivo, debido a que describe información o situación actual sobre el tema planteado, mismas que son obtenidas de fuentes científicas, que sustentó el desarrollo de la investigación, que permitió establecer la importancia mediante la comparación de técnicas de detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas.

Diseño

Documental, porque se realizó una revisión sistemática de documentos científicos publicados sobre determinación de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, para lo cual se consultó artículos científicos, manuales, libros y estudios investigativos sobre el tema publicados en bases de datos científicos reconocidos como NCBI, PubMed, Google Académico, Scielo, Elseiver, JURN.

Cohorte

Transversal, puesto, a que el proyecto se desarrolló en un período determinado y un solo bloque de resultados obtenidos de la recolección y análisis de documentos bibliográficos publicados entre el año 2011 y 2021, donde se obtuvo información válida mediante la investigación de diferentes datos científicos en páginas, revistas de gran impacto nacional e internacional que nos proporcione información científica.

Retrospectivo

El proyecto se trabajó con diferentes fuentes bibliográficos, obtenida de bases de datos confiables y actualizadas publicadas en la Web, que permitieron analizar, comparar y discutir sobre la información obtenida referente al tema de este proyecto.

Población

La población de estudio estuvo conformada con 146 publicaciones registradas en las siguientes bases de datos: NCBI (13), Scielo (25), PubMed (30), Google Académico (34), Mediagraphic (7), JURN (18), Elseiver (10), además se incluyeron páginas webs como; MINSA (1), INEC (1) y documentos electrónicos como; libros (2), tesis de pregrado (2) y manuales (3).

Estrategia de búsqueda

La búsqueda bibliográfica sobre el tema planteado, se realizó mediante buscadores de datos científicos, donde se utilizaron las palabras estratégicas de búsqueda “parásitos intestinales”, “enteroparásitos”, “determinación de enteroparásitos”, “vegetales con enteroparásitos”, “enteroparásitos y suelo”, “enteroparásitos y agua”, “enteroparásitos humanos en insectos”, “técnicas detección enteroparásitos”, “enteroparásitos en muestras no biológicas”, “parásitos en agua”, “parásitos en tierra”, “detección de parásitos intestinales en vegetales”, “pruebas inmunológicas enteroparásitos”, “prevalencia de enteroparásitos”.

La mayor parte de los documentos encontrados en la bases científicas latinoamericanas estaban escritos en español, mientras que, los descargados de bases científicas internacionales estaban en inglés, la selección de los documentos científicos utilizados en el trabajo ser realizó aplicando los criterios de inclusión y exclusión, dentro del criterio de inclusión, las revistas científicas,

manuales y libros deben ser publicados en los últimos 10 años, los artículos seleccionados incluían determinación de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas. Como criterio de exclusión se tomó en consideración el tiempo de la publicación, los artículos científicos, manuales, libros con más de 10 años fueron descartados. También, fueron excluidos aquellos artículos que no tienen autoría, ni tratan sobre la detección de enteroparásitos.

Por lo tanto, la población en su totalidad estuvo conformada con 146 publicaciones que abordan el tema de detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, publicadas en revistas indexadas en bases nacionales e internacionales entre las que se ubican en Scielo, PubMed, Elsevier, Mediagraphic, NCBI, JURN, Google Académico, quienes presentaban temáticas sobre determinación de enteroparásitos.

Muestra

Para la selección de muestras se escogieron 59 publicaciones registradas en las siguientes bases de datos: NCBI (5), PubMed (8), JURN (5), Google académico (10), Scielo (17), Mediagraphic (4), Elsevier (2), además se incluyeron páginas webs como; MINSA (1), INEC (1) y documentos electrónicos como; libros (2), tesis de pregrado (1) y manuales (3), toda esta selección fue realizada tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de Selección

Criterios de inclusión

Se empleó artículos científicos, libros y manuales publicados hasta hace 10 años, debido a que, el proyecto investigativo necesita información actualizada referente a técnicas de detección de enteroparásitos. Se incluyó manuales que contengan técnicas de determinación de enteroparásitos, porque estos documentos describen detalladamente el proceso de cada técnica. Asimismo, los artículos científicos donde analizan muestras biológicas y no biológicas, porque permitieron identificar el procedimiento a realizar de acuerdo a cada muestra. También se tomó en cuenta, los artículos científicos donde comparan técnicas fueron de mucha ayuda, ya que, proporcionó información de técnicas más confiables para su aplicabilidad en el laboratorio.

Por lo tanto, fueron seleccionados 59 publicaciones registradas en las siguientes bases de datos: NCBI (5), PubMed (8), JURN (5), Google académico (10), Scielo (17), Mediagraphic (4), Elseiver (2), además se incluyeron páginas webs como; MINSA (1), INEC (1) y documentos electrónicos como; libros (2), tesis de pregrado (1) y manuales (3), toda esta selección fue realizada tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de exclusión

Los artículos científicos, manuales y libros publicados hace más de 10 años, fueron excluidos, debido, a la información anacrónica que podría incluir en la investigación realizada. Los artículos científicos mal documentados, no pueden ser incluidos, porque podría conllevar a exponer información errónea y desprestigiar el documento investigativo y a su institución. Los artículos sin autoría, muchas veces no garantizan información fiable, mientras que, los artículos científicos que no incluyen técnicas ni información referente al tema son excluidas, porque no presentan temas de interés investigativo.

Técnicas y procedimientos

- Se inició la búsqueda de información científica sobre información general de investigaciones realizadas de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, a nivel nacional e internacional, de artículos científicos, organizaciones y libros presentados en línea, extraídos de buscadores confiables como NCBI, PubMed, Google Académico, Scielo, JURN, Mediagraphic, Elseiver y la web, tomando en cuenta las variables de estudio y el tiempo de publicación de las mismas.

- Después se procedió a recolectar información científica de técnicas aplicadas en la determinación de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, y en caso de comparaciones de técnicas también fueron seleccionadas.

- De toda la información obtenida fueron seleccionados 59 publicaciones, de diferentes bases de datos. De cada una de ellas se realizaron lecturas profundas buscando información sobre las

técnicas de detección de parásitos empleadas en diferentes muestras que los puedan contener a nivel nacional e internacional.

- Se evaluó el aporte científico de los datos seleccionados de las publicaciones obtenidas sobre la determinación de enteroparasitosis en muestras biológicas y no biológicas, con la finalidad de dar cumplimiento a los objetivos planteados. Con los datos y estudios obtenidos, se realizó una tabla comparativa, que fue de utilidad para plantear la discusión del estudio.

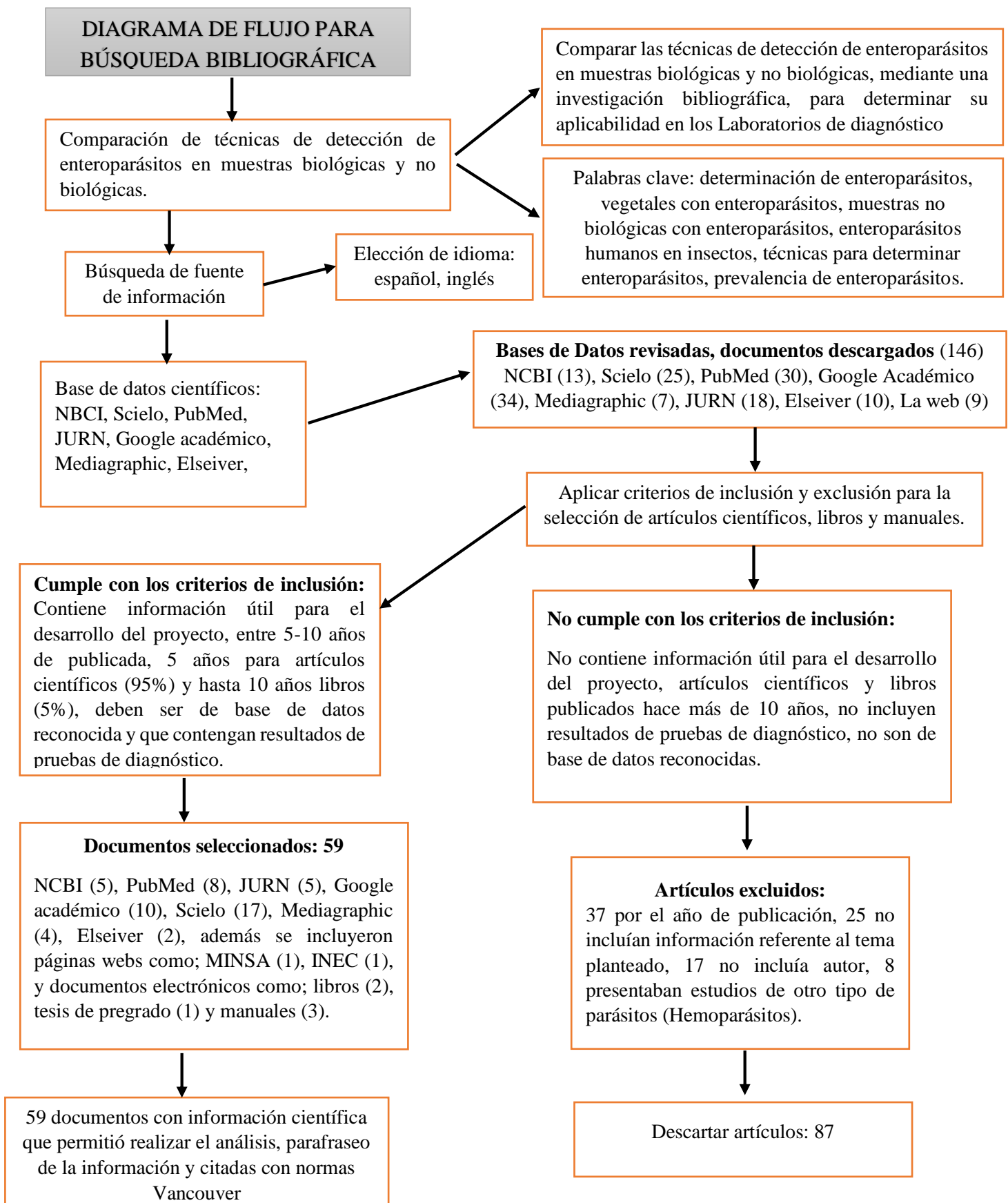
Procesamiento estadístico

En la presente investigación se recolectaron datos cualitativos de actualizados publicados en artículos científicos indexados relacionados con el tema y la cual permitió desarrollar la recopilación de las técnicas que se emplean en la detección de enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas, mediante la clasificación realizada permitió comparar y analizar la utilidad de cada técnica según el tipo de muestra. Por lo tanto, no aplicó el procesamiento estadístico, debido a que esta investigación es de tipo bibliográfico y no incluye el uso de base de datos o información en cifras para su realización.

Consideraciones éticas

Este proyecto al ser un diseño documental realizada totalmente a través de la Web, no requirió la aprobación de ningún Comité de Bioética reconocido por el Ministerio de Salud Pública, porque esta investigación no afectó, ni puso en peligro la integridad del ser humano, la flora, la fauna o el medioambiente.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA



CAPÍTULO III.

DESARROLLO

En el presente trabajo de investigación de carácter bibliográfico, fue realizado mediante la recopilación de documentos con información científica de fuentes bibliográficas actualizadas. Se logró obtener información científica de las siguientes bases de datos: NCBI, PudMed, JURN, Scielo, Elseiver, Mediagraphic, Google Académico y en la Web se pudo encontrar libros, manuales, tesis de pregrado y páginas Web de acceso abierto, en la que se encontró información de los datos requeridos acorde a los objetivos planteados.

Técnicas aplicadas en muestras biológicas

Heces Humanas

Examen directo:

- Colocar en un portaobjeto una gota de solución salina (0,85%) y en el otro extremo una gota de lugol (4%), con un palillo homogenizar la muestra en cada gota de manera independiente^{1,12,19}.
- Colocar un cubreobjetos a cada preparación, para realizar la observación microscópica con 100 y 400 aumentos^{1,12,29}.

1. Técnicas de concentración por sedimentación:

1.1 Ritchie: es una técnica que se basa en separar los parásitos de los restos de alimentos contenidos en las heces, para facilitar la visualización microscópica, permite la investigación de todas las formas parasitarias incluyendo huevos livianos y pesados^{2,29}.

- Homogenizar 2g de heces en 10 ml de agua y filtrar con doble gasa, mientras el filtrado es recogido en un tubo cónico de 15 ml.
- Centrifugar a 2.500 rpm durante 1 minuto, el sobrenadante se decanta agregando 10 ml de agua destilada a 45°C, más 100 µl de detergente neutro (Tween 20).
- Repetir el procedimiento por duplicado hasta observar el sobrenadante limpio.

-Decantar el sobrenadante, tomar una gota de sedimento y colocar en una lámina, añadir una gota de lugol, mezclar y colocar un cubreobjeto para luego proceder a observar en el microscopio ^{2,30}.

2. Técnicas de concentración por flotación:

2.1 Willis: es una técnica de flotación rápida, sencilla y económica, los huevos de helmintos tienden a subir y adherirse a la laminilla debido a que estos huevos tienen un peso menor que la solución saturada de cloruro sódico de densidad 1,200 (315 g NaCl más 890 ml de H₂O)^{3,30}.

-Tomar una muestra de heces del tamaño de un garbanzo y colocar en un tubo, se añade solución de cloruro sódico saturada para disolver la muestra, realizar un breve filtrado con ayuda de una gasa y luego añadir más solución hasta el borde.

-Colocar un portaobjeto sobre el menisco de la solución que sobresale el borde del recipiente.

-Después de 15 a 20 minutos, retirar el portaobjeto y colocar un cubreobjeto para proceder a observar en el microscopio^{3,30}.

2.2 Faust: esta técnica se basa en aplicar la centrifugación y flotación para concentrar quistes, y larvas con solución de sulfato de zinc.

-Mezclar 2 g de heces con 10 ml de agua destilada en un tubo de ensayo,

-Centrifugar a 3.000rpm durante 3 minutos, luego eliminar el sobrenadante, y agregar 2-3 ml de agua para volver a centrifugar, repetir 3-4 veces este procedimiento hasta obtener un líquido claro, luego añadir 3-4 ml de solución de sulfato de zinc al 33,3%.

-Centrifugar a 3000rpm durante 3 minutos, se añade sulfato de zinc hasta el borde del tubo, y se coloca la lámina cubreobjetos sobre el menisco que sobre sale del tubo, se deja reposar 15 minutos, se retira el cubreobjetos y colocar 1 gota de Lugol para proceder a observar al microscopio^{8,30}.

2.3 Sheather: permite separar, concentrar y recuperar quistes de protozoos y huevos livianos de helmintos. Es la técnica de elección para concentrar ooquistes de *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis* y *Cystoisospora belli*.

-Realizar una suspensión de heces con 2 g de materia fecal disuelto en 5 ml de solución salina fisiológica, luego se filtra la suspensión de heces con doble capa de gasa.

-Tapar el tubo y centrifugar a 1.500 rpm durante 2 minutos, luego decantar el sobrenadante, para añadir solución fenolada azucarada al sedimento, mientras se agita se continúa añadiendo solución fenolada hasta completar 2 cm bajo el borde del tubo.

-La preparación se centrifuga a 1.000 rpm durante 10 minutos, tomar gotas de la superficie del menisco para montar la muestra y observar al microscopio con aumentos de 100 y 400x^{13,30}.

3. Técnicas de cuantificación de huevos

3.1 Kato (cualitativo): se debe preparar la solución de Kato con Glicerina (100 ml), agua destilada (100 ml) y verde malaquita al 3% (1 ml). El papel celofán se corta en trozos de aproximadamente 2x4 cm, estos deben ser introducidos en la solución de Kato durante 24 horas previas a su uso para que se impregnen de la solución ^{1,17,20}.

-Colocar una porción de heces del tamaño de un frijol en una lámina portaobjetos, cubrir con el trozo de papel celofán embebido en la solución de Kato.

-Presionar contra la mesa de trabajo o con otra lámina portaobjeto para que por capilaridad la muestra se distribuya homogéneamente entre el papel celofán y la lámina, evitando que se formen burbujas de aire ^{1,17,20}.

-Colocar la preparación bajo la luz para que la glicerina clarifique los huevos durante 10 minutos, para posteriormente realizar su observación microscópica con objetivo de 10x.

-Los resultados solamente indicarán presencia o ausencia de huevos de helmintos, con esta técnica no se puede determinar la intensidad parasitaria ^{1,17,20}.

3.2. Kato-Katz (cuantitativo):

-Colocar una porción de heces sobre un papel desechable y cubrir la muestra de heces con una malla de nylon, de manera que al presionar con un aplicador de plástico se obtiene una cantidad de heces filtradas^{13,31}.

-Con la ayuda de una espátula, tomar las heces filtrada y colocar en el orificio del molde plástico situada sobre un portaobjeto.

-Retirar con cuidado el molde manteniendo la forma y el volumen del orificio del molde, luego se procede a cubrir la muestra con trozo de papel celofán previamente preparado.

-Invertir la preparación y hacer presión sobre la mesa de trabajo de manera que la extensión cubra un área de 20 a 25 mm de diámetro.

-Dejar reposar 1 hora a temperatura ambiente y proceder a leer bajo un microscopio.

El número de huevos contados es multiplicado por 24, debido a que el orificio del molde mide el volumen de heces equivalente a 41,7 mg. Esta técnica determina la presencia de huevos de *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, Ancylostomidos (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*) visible mínimo después de 30 minutos y huevos de *Hymenolepis nana* ^{31,32}.

3.3. Stoll: permite evaluar la intensidad de huevos de helmintos y gusanos redondos como; *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, Anquilostomideos (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*) y *Strongyloides stercoralis*, también permite cuantificar platelmintos. Es un método que se basa las diluciones empleadas para determinar los resultados, debido a que la muestra es menor en comparación al hidróxido de sodio ^{23,33}.

-En un tubo cónico colocar hidróxido de sodio 0.1N hasta la marca 5.6 ml

-Agregar muestra de heces hasta llegar a la marca 6 ml.

-Añadir 5 perlas de vidrio, cerrar el tubo y agitar 1 minuto

-Dejar reposar 15 minutos, con una pipeta serológica tomar 75 µl (0,075 ml) de la parte media de la suspensión y colocar en un portaobjeto para montarlo y proceder a observar en el microscopio, se observará todos los campos.

Para obtener los resultados, el número de larvas o huevos encontrados es multiplicado por los factores de acuerdo a la cantidad de suspensión tomada (0,075 o 0,15ml) considerando la consistencia ^{23,33}.

Cuadro 1: Factor aplicado para el cálculo de acuerdo a la consistencia de las heces.

Heces	Suspensión	Factor
Duras	0,075 ml	200
Pastosas	0,075 ml	400
Líquidas	0,075 ml	800
Duras	0,150 ml	100

Pastosas	0,150 ml	200
Líquidas	0,150 ml	400

El resultado es expresado por mililitros en heces (ml)

4. Técnicas de coloración.

4.1 Ziehl Neelsen modificado o Kinyoun: esta técnica de coloración pone en evidencia los ooquistes de coccidios intestinales: *Cryptosporidium* spp., *Cystoisospora belli* y *Cyclospora cayetanensis* excretadas en heces de individuos infectados²⁰.

- Realizar un frotis de heces, dejar secar y fijar con metanol por 30 segundos.
- Se introduce en carbol-fucsina por 10 minutos, luego lavar con agua destilada.
- Decolorar con alcohol-ácido clorhídrico por 30 segundos, luego lavar con agua destilada
- Dejar secar a temperatura ambiente y proceder a observar en el microscopio^{5,8,20}.

4.2 Hematoxilina férrica: es una técnica de coloración e identificación de trofozoítos y quistes de protozoos. El resultado dependerá de una correcta ejecución, donde la clave está en la fijación, diferenciación y deshidratación^{18,30}.

- Suspender la muestra con el fijador Schaudinn modificado en relación 10:1 (10ml de fijador para 1 g o 1 ml de heces), la muestra debe permanecer 6 horas en el fijador para después proceder a realizar la coloración, luego agitar el frasco que contiene la muestra con el fijador y traspasar 1 ml de la mezcla a una centrífuga, luego llenar el tubo con agua destilada y centrifugar a 2.000 rpm durante 2 minutos. Descartar el sobrenadante (repetir proceso para eliminar el exceso de fijador).
- Agregar la misma cantidad de albúmina de Mayer que se tiene del sedimento de heces, mezclar y realizar el extendido con 1-2 gotas sobre una lámina portaobjeto.
- Dejar secar y luego introducir la preparación en las siguientes soluciones: alcohol 50% (5 min); alcohol yodado 70% (2-5 min); alcohol 70% (2-5 min); alcohol 50% (3-5 min).
- Lavar con agua corriente (3-10 min), colocar solución mordiente sulfato férrico amónico (10 min), lavar (3 min) y añadir Hematoxilina acuosa (10 min), lavar (2min) y agregar ácido pícrico saturado (diferenciador) (10-15 min), lavar (15 a 30 min), deshidratar con alcoholes en incremento; 70%,

95% y dos cambios en 100%, dejamos secar 2 minutos cada uno, colocar Xilol (2 min), colocar 1-2 gotas de Permout, dejar secar y observar al microscopio^{18,30}.

5. Técnica especial:

5.1 Graham: se usa una cinta engomada transparente de 12 cm de largo por 1 de ancho, esta se pega en el portaobjetos permitiendo que sobresalgan los dos extremos de la cinta. Un extremo se usará para sostener la lámina y la otra se pega a un bajalenguas. Al momento de usar, la cinta se despega del baja lenguas y se doble por detrás de esta dejando la parte con goma por fuera. Se realiza varias aplicaciones en la zona perianal, se vuelve a pegar en la placa de vidrio. Para proceder a observarlas se desprende el baja lenguas^{4,31}.

5. Técnicas de cultivo o aislamiento de larvas:

5.1 Cultivo en carbón vegetal: se prepara una mezcla de consistencia homogénea con 50 gr de heces y agua destilada, se añade un volumen de carbón vegetal granulado de porción similar al de las heces, se homogeniza el preparado, para colocarlo sobre un disco de papel de filtro previamente humedecido en agua destilada, que debe estar contenido en una placa de Petri, se mantienen a temperatura ambiente y oscuridad. Después de 5 a 6 días se añade un poco de agua para restaurar la humedad y se revisa diariamente, observando los bordes del disco de papel con una lupa para confirmar la migración de las larvas^{4,5,30}.

5.2. Harada-Mori: es una técnica de cultivo que permite que los huevos de nemátodos liberen las larvas rhabditoides y estas migren al agua que se mantienen a 37°C cumpliendo el hidrotropismo y termotropismo positivo que poseen. Es útil en el estudio de larvas de Ancylostomideos, (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*)³⁰.

-Colocar entre 0,5-1,0 g de heces sobre el tercio medio de una tira del papel filtro y extender la muestra sin que llegue a al borde superior, ni inferior, luego colocar 2 ml de agua tibia en el tubo de ensayo e insertar la tira de papel de filtro que contiene la muestra fecal dentro del tubo, cuidando que el agua del fondo cubra el borde inferior del papel que quedó sin heces, quedando la porción de heces extendida fuera del agua (no mojar el extendido).

-El tubo con la preparación se coloca en una gradilla y se mantiene a 37 °C durante 14 días. El nivel del agua se revisa diariamente y en el caso de la pérdida del agua por evaporación se procede a verificar si presenta larvas móviles en el sedimento.

-Recoger una porción de sedimento con ayuda de una pipeta Pasteur y es colocada en una caja Petri para ser observada al microscopio estereoscópico.

-Para el estudio de morfología diferencial de las larvas, la muestra es colocada en una laminilla con su respectivo cubreobjetos, o en ciertos casos se agrega Lugol al sedimento para inmovilizar las larvas, finalmente se procede a observar en el microscopio óptico ^{9,20}.

5.3. Baermann (modificado): método utilizado para recobrar larvas de *Strongyloides stercoralis* de heces, suelo, tejidos etc.

-Verter el agua a 37 °C dentro del vaso de sedimentación hasta 3 cm antes del borde.

-Tomar aproximadamente 5 g de heces y envolverla con una gasa de 4 dobleces, se coloca la preparación dentro de un embudo que se introduce en vaso, la gasa debe tocar el agua, pero no estar sumergida del todo.

-Dejar reposar durante 1 hora, tiempo suficiente para aislar las larvas de muestra fecal, luego colocar gotas del sedimento con la ayuda de una pipeta Pasteur colocar una gota sobre una laminilla para realizar su identificación en el microscopio^{10,20}.

7. Técnicas alternativas

7.1 TF-Test o Three Fecal Test: consiste en encontrar los parásitos aplicando la sedimentación por centrifugación, la muestra es recolectada durante 3 días alternos, el Kit está compuesto por 3 tubos que contienen 5 ml de tampón neutro-solución formalina 10% ³.

7.2 Flotac: esta técnica se basa en la flotación centrífuga de una suspensión de muestra fecal, de manera que la porción de suspensión flotante permite realizar el recuento de huevos³⁴.

El aparato Flotac es un dispositivo cilíndrico, termoplástico amorfo de policarbonato, este aparato está compuesto por la base, disco de transferencia y disco de lectura. También está compuesta por dos cámaras de 5 ml.

La solución conservante está compuesta de:

- Formaldehído (CH_2O), solución al 40%
- Trihidrato de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
- Ácido acético glacial (CH_3COOH)

Realizar una suspensión de heces, filtrar y colocar en un tubo cónico y luego centrifugar a 1500 rpm por 3 minutos a temperatura ambiente. Desechar el sedimento y llenar el tubo con solución de flotación hasta el nivel de 11 ml. Homogenizar la preparación y llenar en las dos cámaras de flotación, después cerrar las cámaras y centrifugar durante 5 minutos a 120 RCF. Analizar las partes superiores de las cámaras de flotación bajo un microscopio. Esta técnica fue aplicada en el área de parasitología veterinarias en un principio, pero actualmente es realizada en heces humanas³¹.

Heces de animales

1. Examen directo: se realiza de manera similar a como es aplicada a las muestras de seres humanos²⁸. Se deben colocar 2 gotas separadas de salina al 0,85% y Lugol en la lámina portaobjetos para homogeneizar la muestra fecal, colocar un cubreobjeto a cada preparación y proceder a observar en el microscopio óptico^{35,36}.

2. Técnicas de concentración por sedimentación:

2.1 Sedimentación espontánea:

-Tomar 4 g de heces y colocar 10 ml de solución salina, homogenizar, luego se traspasa a un tubo cónico de plástico de 13 x 2,5 cm, de 50 ml de capacidad filtrando con doble capa de gasa.

-Agregar solución salina fisiológica, se tapa el tubo para agitar durante 30 segundos y dejar reposar por 45 minutos, eliminar el sobrenadante y con una pipeta Pasteur tomar una gota de muestra del fondo del tubo. Luego colocar una gota de solución salina fisiológica y otra de Lugol en una lámina y agregar 1 gota de sedimento en cada una de ellas, mezclar y colocar las laminillas, para proceder a observar en el microscopio^{21,36}.

2.2 Ritchie: se realiza de manera similar a como es aplicada en muestras de seres humanos, aunque en el caso de muestras de heces de rumiantes es necesario una filtración en malla de metal para retirar la celulosa de las heces³⁷.

-Homogenizar 2g de heces en 10 ml de agua y filtrar con doble gasa, mientras el filtrado es recogido en un tubo cónico de 15 ml.

-Centrifugar a 2.500 rpm durante 1 minuto, el sobrenadante se decanta agregando 10 ml de agua destilada a 45°C, más 100 µl de detergente neutro (Tween 20).

-Repetir el procedimiento por duplicado hasta observar el sobrenadante limpio.

-Decantar el sobrenadante, tomar una gota de sedimento y colocar en una lámina, añadir una gota de Lugol, mezclar y colocar un cubreobjeto para luego proceder a observar en el microscopio^{37,38}.

2.3 Sedimentación simple de Tello:

Homogenizar muestra fecal con solución fisiológica hasta que se torne pastosa, luego trasvasar a una copa de sedimentación usando un colador de malla fina de manera que filtre la celulosa de las heces. Llenar con agua hasta el tope de la copa, homogenizar y dejar sedimentar durante 30 minutos, volver a decantar y llenar la copa (repetir este paso hasta ver la transparencia del sobrenadante). Centrifugar a 2.000 rpm durante 1 minuto, decantar y guardar 3 ml de sedimento³⁹.

3. Técnicas de concentración por flotación:

3.2 Faust: consiste en omitir la centrifugación, pues se basa en el principio de gravidez de los huevos y quistes, mediante la suspensión en agua en la primera fase para lavar la muestra fecal y eliminar sustancias hidrosolubles y en la segunda fase utiliza una solución de sulfato de zinc permitiendo así la flotación de formas parasitarias^{40,41}.

1era Fase; homogenizar 3g de heces con 10-20 ml de agua, luego filtrar con ayuda de una gasa de dos dobleces. Agregar agua hasta 1 cm debajo del borde del tubo y dejar sedimentar durante 20 minutos, eliminar el sobrenadante, repetir el mismo procedimiento hasta ver el líquido claro.

1da Fase; colocar el sedimento en un tubo de 13 x 100 ml. Agregar solución de sulfato de zinc, homogenizar y completar la solución hasta formar el menisco que sobre salga del tubo.

Colocar el cubreobjeto sobre el menisco y dejar reposar por 20 minutos. Después del tiempo requerido se retira el cubreobjeto y se coloca sobre una lámina para proceder a realizar la observación en el microscopio^{40,41}.

4. Técnica de cultivo o aislamiento de larvas

4.2 Baermann (modificada): colocar la muestra de heces sobre una capa de gasa doble, atar con un hilo para evitar derrames, sostener esta preparación sobre un embudo que se sumerge en un recipiente que contiene suero fisiológico tibio (26°C). Se procede a incubar a 26°C durante 10 días para obtener lavas filariformes. Se pipetea muestra desde el fondo del recipiente y se coloca en una lámina con cubreobjetos para proceder a observar en el microscopio^{22,42}.

5. Técnicas de cuantificación de huevos:

5.1 Gordon y Whitlok: se basa en el diagnóstico de nemátodos gastrointestinales de rumiantes y equinos, se obtiene resultados de intensidad medida en huevos por gramo de heces (hpgh).

Pesar 4g de heces en una gasa, colocar la muestra en un vaso de precipitado, más 60 ml de solución saturada (azúcar, sal o sulfato de magnesio); filtrar (gasa-colador), mezclar el filtrado, colocar muestra en las dos áreas de la cámara MacMaster, dejar reposar de 1-2 minutos, realizar el conteo de huevos de ambas áreas de la cámara. Se realiza la suma de las dos áreas, después se multiplica por 100, de esta manera se obtiene la cantidad de huevos por gramo de heces. En este caso 100 es el factor de multiplicación de acuerdo a la proporción de heces examinadas, por lo tanto, quiere decir que cada área de recuento de la cámara equivale a una centésima de 1 gramo de heces. En el caso de heces pastosas el factor debe ser 200 y 600 en heces líquidas^{22,23,43}.

Insectos

1. Técnica de sedimentación:

Colocar 2 ml de solución salina fisiológica en el recipiente que contiene los vectores a estudiar, agitar durante 2-3 minutos, y remover los insectos, dejar reposar el líquido resultante para su sedimentación durante 2-3 horas. Puede centrifugar a 1.700 rpm durante 3 minutos, decantar el sobrenadante y tomar muestra del sedimento, colocar en una lámina con una gota de Lugol para la observación microscópica^{15,24,44,45}.

-Para identificar parásitos contenidos en el tracto digestivo del artrópodo se extrae el intestino del insecto y macera en solución salina fisiológica. Cuando no se conoce esta técnica entomológica, es válido realizar un lavado con solución salina fisiológica que garantice la eliminación de los

enteroparásitos adheridos a la superficie del cuerpo, también, pueden eliminarse alas y patas para disminuir la probabilidad de visualizar formas parasitarias adheridas en la superficie.

-Con un mortero de porcelana, se tritura el insecto con solución salina fisiológica, hasta lograr un macerado homogéneo, se filtra el líquido resultante en una doble capa de gasa, para dejar reposar durante 2 o 3 horas en un tubo, para lograr la sedimentación espontánea de los parásitos. Si no dispone de tiempo, puede centrifugar durante 3 minutos a 3.000 rpm para obtener el sedimento. En el caso de obtener muestra centrifugada se decanta el sobrenadante y se obtiene el sedimento, se añade 4 gotas de formol al 10% para evitar la proliferación de microorganismos.

-En el caso de sedimento espontáneo, se toma una muestra del fondo del recipiente con una pipeta Pasteur, las dos primeras gotas las devuelve al tubo y la tercera gota la coloca entre porta y cubreobjeto para realizar la observación microscópica con 100 y 400 aumentos^{15,24,44,45}.

2. Kinyoun:

Dejar secar una gota de sedimento, fijar con metanol por 30 segundos. Se introduce en carbol-fucsina por 10 minutos, luego lavar con agua destilada. Decolorar con alcohol-ácido clorhídrico por 30 segundos, luego lavar con agua destilada. Dejar secar a temperatura ambiente y proceder a observar en el microscopio. Para la búsqueda específica de coccidios intestinales es indispensable medir los ooquistes redondos para diferenciar los tamaños de *Cryptosporidium* (4-6 μ) de *Cyclospora* (7-10 μ) utilizando un ocular calibrado^{15,24,44,45}.

Métodos inmunológicos:

Suero humano

1. Ensayo Inmunoenzimático (ELISA); es una excelente técnica para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgA, M y G principalmente. Las especificaciones de uso vienen contenidas en el kit²⁵.

Inmuno Fluorescencia Indirecta (IFI): es una técnica inmunológica que muestra excelente sensibilidad y especificidad, sin embargo, requiere del microscopio de fluorescencia y reactivos de alto costo, por esta razón, generalmente no se realiza en laboratorios de rutina¹⁶.

Alimentos

1. Sedimentación espontánea: los vegetales son colocados en fundas de polietileno estéril con 100 ml de agua destilada para ser lavadas, luego se extraen las hojas de cada vegetal, o se cortan en trozos las verduras, se lavan con un pincel en un recipiente con 1,5 ml de detergente neutro (Polisorbato 20/Tween al 20%) diluido en 150 ml de agua destilada. Luego el agua resultante es filtrada en un vaso cónico de 250 ml, para dejar sedimentar durante 24 horas. En cada portaobjeto se coloca 10 µl de sedimento y una gota de Lugol, para proceder a examinar bajo un microscopio óptico ^{11,46,47,48}.

2. Faust: es una técnica de flotación por centrifugación. Se toma una parte del sedimento para colocarlo en un tubo, más dos tercios de agua, se procede a centrifugar hasta ver el sobrenadante limpio, eliminar el sobrenadante y agregar sulfato de zinc al 33.3%, centrifugar a 2.500 rpm, durante 5 a 10 minutos, tomar muestra de la parte superficial con un gotero y colocar en una lámina con Lugol, cubrir con laminilla y analizar al microscopio ^{26,27,49,50}.

3. Kinyoun:

- Dejar secar una gota de sedimento, fijar con metanol por 30 segundos.
- Se introduce en carbol-fuina por 10 minutos, luego lavar con agua destilada.
- Decolorar con alcohol-ácido clorhídrico por 30 segundos, luego lavar con agua destilada
- Dejar secar a temperatura ambiente y proceder a observar en el microscopio ^{28,49,50}.

4. Inmunofluorescencia: recoger hojas de los vegetales y lavarlas en un baño ultrasónico durante 5 minutos con 1 litro de detergente compuesto por Tween 80 (0,1%), formaldehído (2,5%) y duodecil sulfato de sodio (0,1%), retirar los vegetales y repetir procedimiento. Concentrar la solución del lavado restante, por centrifugación a 1.200 rpm durante 10 minutos. El sedimento se transfiere a un tubo con 25 ml de solución Sheater y es centrifugado a 1.200 rpm por 30 minutos con el objetivo de aclarar el sedimento. Se retira 7 ml del fluido de la interfase y se deposita en un tubo. Luego se completa el mismo volumen con detergente Tween 80 (1%). Este proceso se repite dos veces luego se procede a analizar en el microscopio añadiendo Lugol concentrado⁵¹.

Técnicas aplicadas en muestras no biológicas

Agua.

1. Sedimentación espontánea:

Dejar sedimentar el agua por 1 hora, con una pipeta tomar muestra del fondo del recipiente y colocar dos gotas separadas en un portaobjetos, la una gota se analizará con Lugol y se procede a analizar las muestras con ayuda de un microscopio ^{6,7,52}.

1.1. Bailenger (modificado):

-Dejar sedimentar el agua durante 24 horas en un recipiente plástico de paredes lisas con capacidad suficiente para los 20 L de agua que deben ser concentrados.

-Eliminar el sobrenadante sin remover el sedimento, transferir el sedimento a tubos para centrifugar a 1.000 rpm durante 5 minutos, enjuagar el sedimento con la solución de Tween 80 (0,1%).

-Descartar el sobrenadante, lavar con solución Tween 80 (0,1%) y volver a centrifugar

-Resuspender el sedimento en igual volumen de buffer acetoacético con pH 4,5

-Agregar acetato de etilo o éter, este debe ser el doble del volumen del buffer, mezclar y volver a centrifugar, al culminar el procedimiento, el agua estará separada en 3 fases diferentes: sedimento, capa de buffer y una capa oscura y espesa de acetato de etilo o éter, medir el volumen del sedimento, descartar el sobrenadante.

-Resuspender el sedimento en 5 volúmenes de solución de Sulfato de Zinc, es decir, si el sedimento tiene 1ml agregamos 5 ml que resulta 1,5 ml para realizar el montaje en la cámara McMaster.

-Tomar una alícuota y colocar en la cámara, dejar sedimentar durante 5 minutos antes de observar. Para la microscopía se examina bajo los objetivos 10 y 40x ^{6,53}.

Suelo

1. Sedimentación: pesar 50 g de muestra de suelo y disolver en 100 ml de agua destilada estéril, agitar 10 minutos, filtrar con doble capa de gasa y colocar en tubos Falcón de 50 ml de capacidad, centrifugar a 1.000 rpm durante 15 minutos, decantar el sobrenadante y colocar formalina al 10% en cantidad que duplique al sedimento, homogenizar con ayuda de un vórtex, de manera que el

sedimento se resuspenda y quede una solución homogénea, dejar reposar y realizar el procedimiento de montaje de la muestra del sedimento para su observación microscópica ^{14,54}.

2. Flotación:

2.1 Faust: mezclar 100 g de muestra de suelo con 250 ml de agua a 30°C en un envase de suficiente capacidad para el ensayo. Para centrifugar se reparte la mezcla en tubos Falcón de 50 ml, para proceder a centrifugar durante 3 minutos a 3000 rpm. Eliminar el sobrenadante, y agregar de 2-3 ml de agua y volver a centrifugar, repetir de 3-4 veces hasta obtener un sobrenadante claro, luego se trasvasan a tubos de 12 ml de capacidad se añaden 4 ml de solución de sulfato de zinc al 33,3% a cada uno, para proceder a centrifugar a 3.000 rpm durante 3 minutos, añadir sulfato de zinc hasta el borde del tubo, colocar el cubreobjetos sobre el menisco que sobrepasa el borde del tubo y dejar reposar 15 minutos, retirar el cubreobjetos y colocar 1 gota de Lugol para proceder a observar al microscopio ^{54,55}.

2.2 Willis:

-Lavar 100 g de muestra de suelo con 250 ml de agua destilada estéril, filtrar en un colador metálico, el filtrado resultante mezclar con 10 ml de solución saturada homogenizar y volver a filtrar con una gasa ^{14,55}.

-El líquido resultante llenar completamente el tubo y colocar un portaobjeto sobre ella permitiendo el contacto del líquido y el portaobjeto.

-Esperar de 5 a 10 minutos para que los quistes o huevos floten y se adhieran al portaobjetos.

-Retirar el portaobjetos y colocar una gota de Lugol y el cubreobjetos para proceder a analizar la muestra bajo un microscopio ^{14,55}.

2.3 Baermann:

-En una copa de sedimentación de un 1L, colocar un filtro de 0,75 mm de apertura de poro, más 4 gasas entrecruzadas por encima del primer filtro.

-Agregar la muestra de suelo y enjuagar con agua tibia, el líquido resultante es colocado en la copa de sedimentación, agregar agua templada hasta que llegue al fondo de la muestra, dejar reposar 24 horas, retirar el filtro, decantar el sobrenadante y obtener el sedimento para colocar en una placa

Petri para realizar la búsqueda de las larvas aisladas con la técnica mediante el análisis en el microscopio óptico^{56.57}.

2.4 Sheather:

Mezclar 3 g de muestra de suelo con 20 ml de solución de Sheather, homogenizar, filtrar y depositar en tubos de ensayos de 10 ml hasta observar un menisco dejar reposar 5 minutos. Colocar un cubreobjeto en el menisco del tubo sin formar burbujas de aire, dejar reposar 2 minutos. Transcurrido el tiempo, tomar el cubreobjeto y colocarlo en una lámina portaobjeto para analizar en el microscopio^{58.59}.

Tabla 1: Comparación de técnicas para determinar enteroparásitos en muestras biológicas y no biológicas

MUESTRA	BIOLÓGICAS					NO BIOLÓGICAS	
	Heces de humanos	Heces de animales	Insectos	Alimentos	Suero humano	Agua	Suelo
Examen directo	Solución salina, Lugol	Solución salina, Lugol					
Técnicas de sedimentación	Espontánea Richie	Espontánea Richie Simple Tello	Espontánea Centrifugación	Espontánea Centrifugación	Centrifugación	Espontáneas Centrifugación	Espontáneas Centrifugación
Concentración por Flotación	Willis, Faust, Sheather	Faust		Faust			Faust, Willis, Sheather
Técnicas especiales	Graham (Técnicas Alternativas)			Inmunofluorescencia	Métodos inmunológicos (ELISA)	Bailenger modificado	
Aislamiento de larvas	Baerman Cultivo en carbón vegetal	Baermann					Baermann
Cultivo de larvas	Harada-Mori						
Conteo de huevos	Kato-Katz Stoll-Hausheer	Gordon y Whitlok					
Tinción	Kinyoun Hematoxilina férrica	Kinyoun	Kinyoun	Kinyoun		Kinyoun	Kinyoun

Análisis e interpretación

Las heces de los humanos, se deben analizar con un examen directo, las técnicas de concentración más utilizadas son las de sedimentación, la sedimentación espontánea debido a la facilidad del procedimiento y el bajo costo, seguida de Ritchie. Para la concentración por flotación se usa Willis, Faust y Sheather. Como técnicas especiales se aplica Graham, para cultivar larvas se usa Harada-Mori, mientras que, para el aislamiento o recuperación de larvas de *Strongyloides stercoralis*, se usa Baermann. La cuantificación de huevos en muestras fecales formadas se realiza a través de la técnica de Kato-Katz, y cuando las heces son líquidas se utiliza Stoll-Hausheer. Las coloraciones realizadas frecuentemente son: Lugol, Kinyoun y Hematoxilina férrica.

Para las heces de animales también se realiza el examen directo, las técnicas de concentración más utilizadas son Ritchie, sedimentación simple y Tello. Como técnicas de concentración por flotación se aplican Willis y Faust. Recuperar larvas se usa de rutina Baermann, para el conteo de huevos Gordon y Whitlok, de igual manera que en muestras de humanos se usa la tinción de Kinyoun para determinar coccidios.

En el caso de los insectos, la detección de parásitos se realiza preferiblemente con muestras obtenidas por sedimentación espontánea, cuando se requiere acortar los tiempos se realiza la centrifugación, por otra parte, la tinción de Kinyoun es indispensable para el reconocimiento de coccidios.

Para aumentar la probabilidad de visualizar las formas parasitarias presentes en vegetales: frutas, verduras y hortalizas se recomienda concentrar el agua con la que se han lavado, la mayoría de los autores de los artículos publicados, se prefiere el empleo de técnicas de sedimentación, que garantizan la concentración de todas las formas parasitarias incluyendo los huevos grandes y pesados que se pierden en las técnicas de flotación. Como pruebas especiales, se usan en el análisis de alimentos la determinación de Igs por inmunofluorescencia

El agua suele analizarse después de concentrar las muestras por sedimentación espontánea o lograda por centrifugación. La técnica de Bailenger se usa en algunos casos, no se emplean de rutina porque se requieren reactivos que aumentan el costo de las pruebas.

Para la recuperación de parásitos de muestras de tierra o arena recolectadas del suelo no suelen emplearse técnicas de sedimentación, porque los sedimentos son muy sucios debido a las partículas de tierra o los granos de arena que precipitan. Se prefieren las técnicas de flotación como Willis, Faust y Sheater, con las que se pueden recuperar formas parasitarias pequeñas, como quistes, ooquistes o huevos livianos. Para el aislamiento de larvas de nemátodos se utiliza la técnica de Baermann, así como, la tinción de Kinyoung para visualizar coccidios.

Vásquez, realizó un estudio de enteroparásitos en heces en niños menores de 11 años, para lo cual aplicó el examen directo con solución salina fisiológica y Lugol. También aplicó la técnica de Graham para el diagnóstico de *Enterobius vermicularis*, para concentrar las muestras utilizó Richie para detectar protozoos, así como, huevos y larvas de helmintos¹⁸. Mientras que, Murillo et al., realizaron un estudio de parásitos intestinales en habitantes de 0 a 20 años de la parroquia El Anegado, cantón Jipijapa en la provincia de Manabí, para determinar la prevalencia de parásitos en la población. Para lo cual, solo se aplicó la técnica directa en muestra de heces por microscopía¹². Consideramos, que sí estos investigadores hubieran aplicado simultáneamente Kato-Katz y alguna técnica de concentración por sedimentación, el porcentaje de parasitismo hubiera resultado mayor.

Asimismo, Mera et al., realizaron un estudio de enteroparásitos en un pueblo de Lambayeque para determinar su distribución, mientras que para el análisis del estudio se aplicó el método directo con solución salina y Lugol, también aplicó la sedimentación espontánea y Baermann modificado⁵⁶. Cabe recalcar que toda investigación de parásitos, es indispensable la aplicación de la técnica directa con solución salina y Lugol, queda claro que, para una mejor búsqueda de formas parasitarias es necesario la utilización de otras técnicas.

Benavides et al., realizaron un estudio de identificación de huevos de *Toxocara* spp., en zonas verdes de conjuntos cerrados del municipio de Pasto-Colombia. Para lo que aplicaron la técnica de Sheather, cabe mencionar que la técnica utilizada es bastante eficaz, debido a que se encontraron otras formas parasitarias de los géneros *Ancylostomideos* spp., *Dipilydium* spp., *Entamoeba* spp., spp., *Strongyloides* spp., *Eimeria* spp.,⁵⁷ con la ventaja adicional que luego de aplicar la técnica de Sheather se pudo cuantificar los huevos por gramo de muestra de suelo, con la utilización de cámara de MacMaster.

Asimismo, Romero et al., comprobaron la presencia y viabilidad de huevos de *Toxocara* spp., en el suelo de parques públicos, para lo que se utilizaron técnicas de flotación y sedimentación, mientras que, para la cuantificación de estos, se utilizó la cámara de McMaster⁵⁸.

Por otra parte, Apóstol et al., detectaron huevos de *Toxocara* sp., en suelos de tres parques públicos, para lo cual emplearon la técnica de Willis modificada, aumentaron la flotabilidad de los huevos de *Toxocara* sp aplicando solución hipersaturada de glucosa⁵⁹. Benavides et al., y Romero et al., coinciden en la utilización de cámara de MacMaster para la cuantificación de huevos de *Toxocara* sp., dato que se utiliza como un indicador del grado de contaminación de suelo con heces de cánidos o felinos.

Muñoz y Rodríguez, estudiaron los agentes bacterianos y parasitarios en la mosca común *Musca doméstica*. El procedimiento para obtener el sedimento que contiene los parásitos comienza con el lavado con solución fisiológica en tubos estériles, donde se realizan movimientos de agitación para de esta manera desprender los parásitos de la superficie del insecto. También se realizó el macerado del cuerpo del insecto para extraer parásitos de su tracto intestinal, el sedimento se obtuvo mediante sedimentación espontánea, para analizar se usó solución fisiológica y Lugol, aunque para determinar coccidios se realizó la tinción de Kinyoun. Para el diagnóstico bacteriano se realizaron cultivos en los agares Mac Conkey, EMB-Levine, Salmonella-Shigella y TCBS, donde se aisló un mayor número de especies⁴⁰.

Velásquez, para estudiar los parásitos transportados por las moscas de una comunidad, realizó el lavado y el macerado de los insectos para obtener parásitos de la superficie y del tracto intestinal,

en este caso se obtuvo el sedimento mediante centrifugación, también se realizó el examen directo con suero fisiológico y Lugol ³⁹.

Traviezo et al. Realizaron un estudio para determinar la contaminación de enteroparásitos en moscas, para ello también realizaron el lavado, aunque este caso no se realizó el macerado, porque según los investigadores, los parásitos del tracto digestivo de la mosca se desprenden con la agitación vigorosa, también usaron la centrifugación para obtener el sedimento y no se realizó la tinción de Kinyoun¹⁵.

Cazorla, et al., realizaron el aislamiento de parásitos intestinales en la cucaracha americana, y para ello también se aplicó el lavado con solución fisiológica para desprender parásitos de la superficie del insecto, el líquido resultante se dejó sedimentar espontáneamente, luego con centrifugación, para su análisis se usó solución fisiológica y tinción Kinyoun para la visualización específica de ooquistes de coccidios intestinales, que fueron identificados de acuerdo a su tamaño que se midió con un ocular calibrado ³⁸.

A diferencia de los demás autores para determinar parásitos del tracto digestivo de las moscas, estas son fijadas con alfileres en una placa Petri rellena de parafina y disecadas bajo un microscopio estereoscópico, luego el tejido disecado es macerado en solución salina fisiológica. Se puede analizar que todos los autores realizan un lavado y macerado para separar parásitos del insecto, no obstante, para el análisis de parásito en cucaracha el tracto digestivo es disectada para proceder a macerar, a pesar de que la minoría no realiza la maceración, ni la tinción de Kinyoun, así como tampoco realiza cultivos del sedimento, a pesar de que este método permite aislar más microorganismos

Giraldo y Guatimboza, realizaron un estudio de comparación de dos técnicas utilizado, mencionan que la implementación de la técnica de Kato-Katz con fijador SAF es una herramienta valiosa en el trabajo de campo, debido a que permite conservar las muestras y realizar la lectura sin alterar los resultados, gracias a la fijación de SAF que da estabilidad a la forma de estadios infectivos de helmintos, mientras con el concentrado de Ritchie-Frick corre el riesgo de incurrir al diagnóstico de falsos negativos para helmintos, pero este método es útil para la identificación de estadios

infectivos de protozoos, por lo tanto, se concluye que la técnica de Kato-Katz es específica para identificar huevos de helmintos, mientras que, el concentrado de Ritchie-Frick permite la identificación de estadios infectivos de protozoos ²⁶.

Soares et al., realizaron una revisión, donde fue comparado cada principio de las técnicas convencionales y las nuevas técnicas alternativas, permitiendo de esta manera conocer la importancia de cada una de ellas en la determinación de parásitos. Las técnicas alternativas tampoco presentan una eficacia de 100%, debido a que es necesario aplicar los métodos convencionales para mejorar su sensibilidad³, por lo tanto, este planteamiento coincide con lo expuesto por los demás autores. Por otra parte, se puede describir que dos autores indican que la técnica de Kato-Katz es la más utilizada para complementar la detección de parásitos, asociada a la aplicación del examen directo y la de Ritchie-Frick.

También mencionan, que la técnica de laboratorio más utilizada para diagnosticar parásitos es el examen directo, pero que, con la aplicación única, se corre el riesgo de pasar por alto, casos positivos en pacientes con cargas parasitarias bajas, asimismo, en casos de investigaciones de parásitos, se sugiere complementar con técnicas de concentración, debido a que aumenta el 30% de sensibilidad, pues el uso de Ritchie-Frick es utilizado en los laboratorios clínicos, por ser sencilla y económica. Para finalizar, cabe mencionar que las técnicas a utilizar varían de acuerdo a su finalidad, en los laboratorios clínicos de rutina se aplican técnicas convencionales, mientras que, los laboratorios clínicos especializados o los de investigación aplican técnicas especiales que se acoplen al estudio requerido.

CONCLUSIONES:

-El conocimiento de las técnicas de detección de parásitos intestinales, permite a los laboratoristas emplear de manera correcta los diferentes procedimientos de análisis en las investigaciones clínicas y también la integración en los estudios epidemiológicos realizados para esclarecer fuentes de infección, reservorios, vectores y vehículos de parásitos intestinales, de manera que esta investigación contribuye al diagnóstico de parasitosis, proporcionando información útil para los programas sanitarios de control integrado de parásitos, mejorando la calidad de vida de los pobladores rurales y urbanos, debido a que la parasitosis intestinal es conocida como un problema de salud pública a nivel mundial.

-La técnica de Kato-Katz, es aplicada en muestras biológicas y debido a la eficacia es recomendado para estudios epidemiológicos de helmintos intestinales, sin embargo, la consistencia de las heces limita su sensibilidad, por tal motivo, es complementada con otras técnicas. Mientras que, en el análisis de muestras no biológicas, se usa la cámara de McMaster para el conteo de huevos. Por lo tanto, la aplicación de técnicas de detección de parásitos intestinales en muestras biológicas y no biológicas son importantes para el diagnóstico de parasitosis y esclarecer las condiciones epidemiológicas que determinan la transmisión de parásitos.

-De acuerdo al cuadro comparativo, la sedimentación y la concentración de la muestra es un pilar fundamental para la investigación de parásitos, debido a que es aplicada tanto en muestras biológicas y no biológicas, aunque para ello, el procesamiento es diferente de acuerdo al tipo de muestra, como en el caso de los insectos que necesitan ser enjuagadas o maceradas para obtener el sedimento con parásitos a diferencia de las demás muestras, esto debido a las características físicas de cada muestra.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ash L, Orhiel T. Atlas de Parasitología Humana. Quinta Edición ed. Spin, Sandra P, editors. España: Panamericana; 2012.
2. Mazariego AMA, Alejandro GMR, Ramírez AFJ, Trujillo VMG. Prevalencia de parasitosis intestinal en niños de guarderías rurales en Chiapas. *Enf. Infec y Microb.* [Internet]. 2020 [citado 19 febr.2021]; 40(2); 43-46. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=94846>
3. Soares A, Benitez A, Santos B, Saulo Nery, Laryssa R, Nagata W. A historical review of parasite retrieval techniques for detection in human feces. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 2020 [citado 28 de febrero del 2021]; 53: e20190535. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822020000100203&lng=en.
4. Castro J, Mera L, Schettini M. Epidemiología de las enteroparasitosis en escolares de Manabí, Ecuador. *Kasmera* [Internet].2020 [citado 16 febr.2021];48(1):e4813093. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/30933>
5. Murillo A, Rodríguez Z, Bracho A. Parasitosis intestinales y factores de riesgo de enteroparasitosis en escolares de la zona urbana del cantón Jipijapa, Ecuador. *Kasmera* [Internet].2020 [citado 19 febr.2021];48(1):e48130858. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/30858>
6. González-Ramírez, L., Falconí-Ontaneda, F., Yaucén-Rodríguez, M., Romero-Zapata, C., Parra-Mayorga, P., García-Ríos, C., Prato-Moreno, J.G. Dispersión hídrica de enteroparásitos en una zona agropecuaria de gran altitud, en Los Andes ecuatorianos. *Kasmera* [Internet].2020 [citado 24 de febrero de 2021];48(2):e48231698. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/31698>
7. Traviezo L, Fernández G, Garabán C, González J, Hamm J, Landaez M, Llaque J, Marín E, Najul M, Cárdenas E. Presencia de enteroparásitos en aguas del río turbio, Estado Lara, Venezuela. *RHCS* [Internet].2017 [citado 16febr.2021];3(2):47-2. Disponible en: <http://www.uhsalud.com/index.php/revhispano/article/view/255>

8. Barona J, Chaquina A, Brossard E, Miño P. Parasitismo intestinal en escolares de la Unidad Educativa del Milenio. Cantón Penipe, Ecuador. REE [Internet].2018 [citado 18 febr.2021];12(1):1-7. Disponible en: <http://eugenioespejo.unach.edu.ec/index.php/EE/article/view/43>
9. Instituto Ecuatoriano de Estadística y Censo (INEC). [Internet]. 2011. Disponible en: www.inec.gob.ec
10. Montero L, Benavides K, Valle D, Villafuente W, Ipiates G, Enriquez V. Prevalencia general de las parasitosis desatendidas en Ecuador: Protozoarios y Helmintos [Internet]. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública. 2017. P;1-1. Disponible en: <http://www.investigacionsalud.gob.ec/webs/propad/wp-content/uploads/2017/02/.pdf>
11. Baculima J, Álvarez M, Zeas R. Parásitos en expendedores y hortalizas de los mercados públicos. Cuenca 2015. Rev. Fac. Cien. Méd. Uni. de Cuenca [Internet].2019 [Citado 18 febr.2021];37(1). Disponible en: <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/medicina/article/view/2467/1780>
12. Murillo A, Marcillo C, Parrales I, Barcia C. Prevalencia de parasitosis en habitantes de 0 a 20 años de la Parroquia El Anegado del Cantón Jipijapa. RECIMUNDO [Internet].2019 [citado 19 febr.2021];3(3):1294-302. Disponible en: <https://recimundo.com/index.php/es/article/view/570>
13. Robles P. Diagnóstico de parásitos en heces: Comparación de dos técnicas de concentración. [Internet]. 2017. [citado 24 Febr2021] Disponible en: [https://masteres.ugr.es/cienciasfarmaceuticas/pages/master/documentacion/21muestratfmrepresentativadistintascalificaciones/!](https://masteres.ugr.es/cienciasfarmaceuticas/pages/master/documentacion/21muestratfmrepresentativadistintascalificaciones/)
14. Manjarrez G, Blanco J, González B, Botero C, Díaz-Mendoza C. Parásitos en Playas Turísticas: propuesta de inclusión como indicadores de calidad sanitaria. Revisión para América Latina. Ecol. apl. [Internet]. 2019 Ene [citado 19 febr.2021]; 18(1): 91-100. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162019000100011&lng=es. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i1.1311>.
15. Traviezo L, Alejos M, Antonini M, Escobar C, Pérez M, Pérez F. Contaminación enteroparasitaria de moscas capturadas en el municipio Palavecino, estado Lara, Venezuela, 2017. Rev. Méd de Uruguay. [Internet]. 2018 Dic; 34(4): 70-83. Disponible en:

- http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902018000400070&lng=es.
16. Botero D, Marcos R. Parasitosis Humana. Quinta Edición ed. Alexander E, editor. Medellin, Colombia: Panamericana; 2012.
 17. Rojo G, Cuadros J, Malaria y protozoos intestinales. *Enf. Inf. Microbiol. Clinic* [Internet] 2016 [citado 19 Marzo 2021];34(3): 191-204. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-malaria-protozoos-intestinales-S0213005X16000057?referer=buscador>
 18. Vásquez-Castro E. Enteroparasitosis en menores de 11 años del Centro de Salud 9 de Enero-Chachapoyas. 2017. *Rev. Inves. Cient. UNTRM* [Internet]. 2013 [citado 19 febr.2021]; 2(2): 9-21. Disponible en: <http://revistas.untrm.edu.pe/indehp/CSH/article/view/326/346>
 19. Restrepo I, Mazo L, Salazar M, Montoya M, Botero J. Evaluación de tres técnicas coproparasitológicas para el diagnóstico de geohelminthos intestinales. *Dep. de Microb y Parast* [Internet] 2015. [citado 23de Marzo 2021]; 26 (1): 15-24. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v26n1/v26n1a02.pdf>.
 20. Puerta-Inmaculada VM Parasitología en el laboratorio; Guía básica de diagnóstico. Primera edición ed. Murcia. España: Área de Innovación y Desarrollo, S.L [Internet].2017 [citado 24 Marzo 2021] Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es>
 21. Vilca Díaz F, Melo Anccasi M. Enteroparásitos en perros (*Canis familiaris*) y gatos (*Felis catus*) de la provincia de Puno. *Rev. Inves Altoandinas*. [Internet].2013 [citado 20 febr.2021]; 15(1): 117-122. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5893927>
 22. Zúniga I, Caro J. Heces caninas: un riesgo permanente y sin control para la salud pública. *Rev. Latin. de Infecto. Pedιά.* 2020 [citado 20 febr.2021]; 33(2):74-77. doi:10.35366/94417. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=94417>
 23. Rosales J, Bautista K. Comparación de tres métodos de concentración de enteroparásitos en muestras fecales humanas. *Rev Cub Med Trop* [Internet]. 2020 [citado 25 Mar.2021]; 72(2): e494. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602020000200008&lng=es. Epub 20-Oct-2020.
 24. Cazorla D, Morales P, Navas P. Aislamiento de parásitos intestinales en la cucaracha americana (*Periplaneta americana*) en Coro, estado Falcón, Venezuela. *Bol Mal Salud Amb* [Internet].

- 2015 [citado 21 febr.2021];55(2): 184-193. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482015000200006&lng=es.
25. Bracho A, Rivero de Rodríguez Z, Cordero M E, Chirinos A, González Y C, Uribe I. Prevalencia de enteroparásitos y anticuerpos IgG anti-*Entamoeba histolytica* en indígenas de la comunidad de Toromo, estado Zulia, Venezuela. Rev. Soc. Ven. Microbiol. [Internet]. 2013 [citado 22 febr.2021];33(2): 151-156. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562013000200012&lng=es
26. Rodríguez AC, da Silva MDC, Pereira RÂS, Pinto LC. Prevalence of contamination by intestinal parasites in vegetables (*Lactuca sativa L.* and *Coriandrum sativum L.*) sold in markets in Belém, northern Brazil. J Sci Food Agric. [Internet] 2020 [citado 26 Marzo 2021];100(7):2859-2865. DOI: 10.1002/jsfa.10265. Epub 2020 Mar 3. PMID: 31953861.
27. Cazorla P, Morales P, Acosta P. Evaluación parasitológica de cuatro especies de vegetales utilizados en establecimientos de “comida rápida” en Coro, Falcón, Venezuela. Rev. Venezolana de Ciencias y Tecnología de Alimentos. [Internet] 2013 [citado 23 febr.2021]; 4(1); 032-046. Disponible en: <http://www.rvcta.org>
28. Puig-Peña; Y, Leyva-CastilloII V, Rodríguez-SuárezIII A, Carrera VaraIV J, Molejón P L, Pérez MuñozVI Y, Dueñas MoreiraVII O. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. Rev. Hab. Cien. Med. [Internet] 2013 [citado 26 de Marzo 2021];13(1):111-119. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revhabciemed/hcm-2014/hcm141m.pdf>
29. Instituto Nacional de Salud. Lima; Perú. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2660-1.pdf/>
30. Girard de Kaminsky R. Manual de Parasitología; Técnicas para Laboratorios de Atención Primaria de Salud y para el Diagnóstico de las Enfermedades Infecciosas Desatendidas. Tercera Edición ed. Vásquez, Marvin, Editores. Honduras: Panamericana; 2017.
31. Vázquez-Martínez J I, Cedeño-Borges M C, Collazo Díaz M, Jiménez-Suárez M, Quintero-Hernández L, Barletta Del Castillo J. A Protozoology and Parasitological Techniques Brochure. Rev. Elect. Cien. Méd. Cienf [Internet] 2012 [citado 24 Marzo 2021]; 10(2).
32. Giraldo J, Guatibonza A. Comparación de sensibilidad y especificidad de dos técnicas de diagnóstico directo: Kato–Katz–Saf y Ritchie–Frick (formol-gasolina) en examen coproparasitológico para la identificación de estadios infectivos de geohelminthos en población

- infantil en edad preescolar y escolar. Rev. Med [Internet] 2017 [citado 24 Marzo.2021];25(2): 22-41. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-52562017000200022&lng=en.
33. Gutiérrez D, Juárez M, Poma H, Garcéz B, Rajal V. Cuantificación y evaluación de la estacionalidad de elementos parasitarios en ambientes acuáticos recreativos de la provincia de Salta, Argentina. Rev.Arg, Microbiol [Internet] 2016 [citado 25 Marzo 2021];46(2): 150-160. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-microbiologia-372-pdf-S0325754114700641>
34. Acurero de Yamarte E, Barrios R, Bellido L, Rojo J, et al. Enteroparásitos en estudiantes de la Escuela Nacional Leoncio Quintana, municipio Maracaibo, Venezuela. Rev.Cien.Salud. [Internet] 2019 [citado 24 Marzo 2021]; 3(1). Disponible en: <https://revistas.utm.edu.ec/index.php/QhaliKay/article/view/1703>
35. Serrano E, Tantaleán M, Castro V, Quispe M, Casas G. Estudio retrospectivo de frecuencia de parásitos en muestras fecales en análisis rutinarios de laboratorio. Rev. Inv. Veteri. [Internet] 2014. Citado [24 Marzo 2021]; 25(1): 113-116. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v25n1/a14v25n1.pdf>
36. Zavala M. Identificación de parásitos gastrointestinales en primates no humanos provenientes del Decomiso y hallazgo por la Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre (ATFFS). Repositorio; Univ. Na. Jorg. B. Groh. Tac. Perú. [Internet]. 2019 [citado 24 Marzo de 2021]. Disponible en: http://tesis.njbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3662/1584_2019_zavala_vincha_ml_fcag_veterinaria.pdf?sequence=1&isAllowed=y
37. Lara E, Figueroa JM, Quijano I, Del Ángel J, Barbosa M, Victoria J. Frecuencia de parásitos gastrointestinales de perros en parques públicos de dos municipios vecinos del Estado de México. Nova [Internet]. 2019 [citado 15 de febrero del 2021];17(32): 75-81. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200075&lng=en.
38. Quinceno J. Parásitos gastrointestinales frecuentes en caninos y sus métodos diagnósticos. Repositorio Univ.Coop.Colom. [Internet]. 2020 [citado 24 Marzo del 2021]. Disponible en: https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/20495/1/2020_parasitos_gastrointestinal_es_frecuentes.pdf

39. Hernández E, Canseco J, Hernández R, González B, Pérez L. Zoonotic parasites in dog feces from Leon, Mexico. *Acta Univ* [Internet]. 2019 [citado 20 febr.2021] ; 29: e2113. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-62662019000100166&lng=es. Epub 15-Ene-2020.
40. Heredia R, Aguilar E, Romero C, Bautista L, Mendoza G. Evaluation of five treatments to control intestinal parasites in sheep in Ayapango, state of Mexico. *Vet. World*, [Internet]. 2016 [citado 25 de Marzo de 2021]; 9(11): 1233–1237. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1233-1237>
41. Julon D, Puicón V, Chávez A, Bardales W, Gonzales J, Vásquez H, et al. Prevalencia de *Fasciola hepatica* y parásitos gastrointestinales en bovinos de la Región Amazonas, Perú. *Rev. Investig. Vet. Perú* [Internet]. 2020 Ene [citado 25 Marzo.2021] ; 31(1): e17560. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172020000100014&lng=es. Epub 31-Mar-2020. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17560>.
42. Gutierrez J. Evaluation of *Strongylus* spp. In horses of the Molle Molle Community, Paruro province, Cusco región, Perú. *Neotrop. Helmin.* [Internet]. 2020 [citado 25 Marzo.2021]; 14(2): 193-198 Disponible en: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20210025150> DOI:10.24039/rnh2020142772
43. Rodríguez K, Rodríguez E, Da Silva L, Nogueira M, Cavalcante S. Comparación entre tres técnicas coproparasitológicas en la investigación de parásitos intestinales en humanos. *Rev. Elec. Acerv. Saúde* [Internet]. 2020 [citado 24 de Marzo 2021]; (52): e3521. Disponible en: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/3521>
44. Velásquez V, Yamunaqué C, Villafuerte K, Villegas D, Ychpas G. Parásitos con relevancia para Salud Pública en moscas de la comunidad Shipiba Cantagallo, 2014. *CIMEL* [Internet].2018 [citado 26 Marzo 2021]; 23(1): 5-9. Disponible en:<https://www.researchgate.net>. DOI: <https://doi.org/10.23961/cimel.v23i1.1017>
45. Muñoz D, Rodríguez R. Bacterial and Parasite Agents in Adult Housefly *Musca doméstica*. Collected in El Peñón, Sucre State, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ*. [Internet] 2019. [citado 26 de Marzo 2021];XXV(2): 159 – 166. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/40201/articulo9.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

46. Polo G A, Benavides C J, Astaiza J M, Vallejo D A, Betancourt P. Determinación de enteroparásitos en *Lactuca sativa* en fincas dedicadas a su producción en Pasto, Colombia Biomédica, Biomédica [Internet] 2016 [citado 27 Marzo de 2021];36(4): 525-534. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/843/84348515006.pdf> DOI: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2914>
47. Da Silva M, Madruga de Freitas K, Loureiro de Bonis G, Da Silva Rivas A, De Souza C, De Souza Lemos C, Oliveira Camera P. Evaluación de diferentes metodologías para la correcta higiene de verduras vendidas en la zona oeste de Río de Janeiro, Soc Brasil Infect [Internet]. 2018 [citado 26 Marzo 2021];22(1):120. Disponible en: <https://www.bjid.org.br/pt-avaliacao-de-diferentes-metodologias-para-articulo-S141386701830919X?ref=busqueda&sig=S0325754115000061>
48. Salcedo D, Castillo C, Jara C. Contaminación parasítica de hortalizas de consumo humano expendidas en mercados de Trujillo, Perú. REBIOL. 2019; 39(1).
49. Bayona M. Prevalence of *Salmonella* and enteroparasites in food and food stalls handlers and restaurants in an area of the north of Bogotá, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. [Internet] 2012 [citado 27 Marzo 2021]; 15(2): 267 – 274. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000200003
50. Puig Y, Leyva V, Álvarez D. Parásitos de transmisión alimentaria en cuba. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición. [Internet] 2013 [citado 26 Marzo.2021]; 23 (1):130-138. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubalnut/can-2013/can131j.pdf>
51. Puig Y, Carrera Vara J, Leyva Castillo V, Hernández Castro I Establecimiento de una técnica para la determinación de enteroparásitos en vegetales mediante inmunofluorescencia. Rev Cub Hig Epidemiol [Internet]. 2011 [citado 2021 Mar 27]; 49(1): 24-32. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032011000100004&lng=es.
52. Gallego L. Identificación de parásitos intestinales en agua de pozos profundos de cuatro municipios. Estado Aragua, Venezuela. 2011-2012. Rev Cubana Med Trop [Internet] 2014 [citado 27 Marzo 2021];66 (2): 164-173. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000200002&lng=es
53. Guillen A, González M, Gallego L, Suárez B, Luz Heredia H, Hernández T., Hernández T, Naranjo M, Salazar J C. Presencia de protozoarios intestinales en agua de consumo en la comunidad 18 de Mayo. Estado Aragua-Venezuela, 2011. Bol.Mal.Salud.Amb [Internet].

- 2013 [citado 2021 Mar 27]; 53(1):29-36. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482013000100004&lng=es
54. González K, Rivas R, Sandoval N. Aguas, suelos y hortalizas como fuente potencial de enteroparásitos en niños de la escuela Majara, Capira. *tecnociencias* [Internet] .2018 ;20(1):5-6. Disponible en: <https://revistas.up.ac.pa/index.php/tecnociencia/article/view/73>
55. Devera R, Tutaya R, Devera Velásquez R. Aislamiento de huevos y larvas de *Toxocara* spp. y otros geohelminthos en suelos de parques de un colegio de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. *Saber* [Internet]. 2015 [citado 2021 Mar 28] ; 27(2): 341-346. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-
56. Mera-Olivares, AE, Ganoza-Granados L, Arce-Gil Z, Alarcón-Benavides E, Moreno-Echeandía GM, León Jiménez FE. Distribución de las enteroparasitosis en un pueblo joven de Lambayeque. *Rev. Cuerpo Méd* [internet] 2013 [citado 29 Marzo 2021]; 6(3): 14-20 Disponible en: [Dialnet-DistribucionDeLasEnteroparasitosisEnUnPuebloJovenD-4687197\(1\).pdf](Dialnet-DistribucionDeLasEnteroparasitosisEnUnPuebloJovenD-4687197(1).pdf)
57. Benavides C, Vallejo D, Astaiza J, Bastidas Y, Portilla J. Identificación de huevos de *Toxocara* spp en zonas verdes de conjuntos cerrados del municipio de Pasto – Colombia. *Revista Biosalud* [online] 2017 [citado 29 Marzo 2021]; 16(2): 44-52 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v16n2/1657-9550-biosa-16-02-00044.pdf> DOI: 10.17151/biosa.2017.16.2.5
58. Romero Núñez C, Mendoza Martínez G D, Bustamante L P, Crosby Galván M M, Ramírez Durán, N. Presencia y viabilidad de *Toxocara* spp en suelos de parques públicos, jardines de casas y heces de perros en Nezahualcóyotl, México *Revista Científica*, [Internet] 2011 [citado 30 Marzo 2021]; XXI(3), pp. 195-201. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95918239002>
59. Apóstol P, Pasceri P, Javitt-Jiménez M. Detección de huevos de *Toxocara* sp. en suelos de tres parques públicos de la zona este de Barquisimeto, estado Lara. *Revista del Colegio de Médicos Veterinarios del Estado Lara* [Internet] 2013 [citado 30 Marzo 2021]; 3(5). Disponible en: <https://revistacmvl.jimdofree.com/suscripci%C3%B3n/volumen-5/toxocara/>

ANEXOS

Figura 1: Inserto *Strongyloides stercoralis*

STRONGYLOIDES RATTI

Prueba inmunoenzimática para el diagnóstico de la estrogilosis humana

96 pruebas inmunoenzimáticas en pocillos individuales destinadas para el uso diagnóstico in vitro y para el uso profesional en el laboratorio

Instructivo de uso para el artículo N° 9450
N° CE: H-CH/CA01/IVD/10285



Utilización destinada del producto:

El kit Bordier Strongyloides ratti ELISA está destinado a la detección cuantitativa de anticuerpos IgG contra los nematodos *Strongyloides* en suero humano. La serología constituye una ayuda para el diagnóstico y no se puede utilizar como el único método de diagnóstico.

Antecedentes:

La estrogilosis está causada por el nematodo *Strongyloides stercoralis*. Los seres humanos pueden infectarse al entrar en contacto con el suelo contaminado con larvas de *Strongyloides*, que pueden penetrar por vía percutánea en el organismo a través de la piel expuesta, como los pies descalzos. La mayoría de las personas infectadas no presentan ningún síntoma o exhiben signos inespecíficos como dolor de estómago, náuseas, diarrea, tos o erupción cutánea. Sin embargo, en algunos casos, el síndrome de hiperinfección y la estrogilosis diseminada pueden ocurrir en personas en tratamiento con corticosteroides, otros tratamientos con inmunodepresores o que padecen SIDA u otras inmunodeficiencias. El diagnóstico se basa en la detección de larvas de parásitos en las heces y un resultado positivo mediante pruebas serológicas.

Principio de la prueba y presentación:

El kit contiene todo el material necesario para efectuar 96 pruebas inmunoenzimáticas de adsorción (Prueba ELISA). Se realiza en pocillos separables de microtitulación sensibilizados con antígenos somáticos de larvas de *Strongyloides ratti*. Los anticuerpos específicos en la muestra se unirán a estos antígenos y el lavado eliminará los anticuerpos inespecíficos. La presencia de anticuerpos específicos contra el antígeno parasitario es detectada mediante un conjugado proteína A - fosfatasa alcalina. Una segunda etapa de lavado eliminará el conjugado no unido. El revelado de los anticuerpos unidos se realiza mediante la adición de sustrato pNPP que se torna amarillo en presencia de fosfatasa alcalina. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos de *Strongyloides ratti* en la muestra. El fosfato potásico se añade para parar la reacción. La densidad óptica a 405 nm se lee con un lector de microplacas ELISA.

La prueba se puede realizar con sistemas automáticos, pero esto debe ser validado por el usuario.

Material que contiene el kit (96 pruebas):

WELL	9450-01	Pocillos sensibilizados con antígenos somáticos de larvas de <i>Strongyloides ratti</i>	96	pocillos
DILB	9450-02	Tampón de dilución (concentrado 10 x), de color morado	50	ml
WASH	9450-03	Solución de lavado (concentrado 10 x)	50	ml
ENZB	9450-04	Tampón de la enzima	50	ml
STOP	9450-05	Solución de parada (K ₃ PO ₄ 0,5M)	25	ml
CONTROL -	9450-06	Suero de control negativo (20 x), tapón verde	200	µl
CONTROL -/+	9450-07	Suero de control débilmente positivo (Cut off, 20 x), tapón amarillo	200	µl
CONTROL +	9450-08	Suero de control positivo (20 x), tapón rojo	200	µl
CONJ	9450-09	Conjugado proteína A - fosfatasa alcalina (50 x), tapón morado	300	µl

Figura 1.2: Inserto de *Strongyloides stercoralis*

Periodo de validez y conservación:

Conservar el kit entre 2° y 8°C (transportar a temperatura ambiente), evitar la exposición a largo plazo de los componentes a la luz directa. La fecha de caducidad y el número de lote del kit están impresos en un lado de la caja. Después de la apertura inicial, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad siempre y cuando se almacenen a 2-8°C.

Material necesario no incluido en el kit:

Pipetas (µl y ml). Recipientes. Tubos de dilución. Lámina adhesiva para cubrir los pocillos durante la incubación. Agua destilada. Incubadora a 37°C. Lector ELISA ajustado a una longitud de onda de 405 nm. Equipo manual o automático para enjuagar los pocillos. Mezclador Vortex. Temporizador.

Preparación de reactivos antes de la utilización:

Ponga todos los reactivos a temperatura ambiente y agítelos antes de usar.

Pocillos sensibilizados: abrir el lado de la bolsa de aluminio 9450-01 y tomar la cantidad necesaria de pocillos (uno para el blanco, tres para los controles más el número de muestras). Poner los pocillos sensibilizados en el soporte de 8 pocillos. Si es necesario, completar las posiciones no utilizadas en el soporte con pocillos ya utilizados. Disponer el/los soporte/s en el cuadro respetando la orientación. Mantenga los pocillos no utilizados sellados en la bolsa con el desecante.

Tampón de dilución: diluir el tampón de dilución concentrado 10 x 9450-02, 1/10 en agua destilada. Esto se usa para la dilución de los controles, las muestras y el conjugado. El tampón de dilución es estable durante 2 meses a 2-8°C.

Solución de lavado: diluir la solución de lavado concentrado 10 x 9450-03, 1/10 en agua destilada. Si usted desea utilizar su propia solución de lavado, evite tampones que contienen fosfato, lo cual podría inhibir la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina. La solución de lavado diluida es estable durante 2 meses a 2-8°C.

Sueros de control: diluir 10 µl de cada suero de control 9450-06 a -08 en 190 µl de tampón de dilución (dilución final: 1/20). Los sueros de control diluidos son estables durante 2 meses a 2-8°C.

Conjugado: diluir el conjugado 9450-09, 1/50 utilizando el tampón de dilución. Diluya el conjugado el día de la prueba. No almacene el conjugado diluido.

Solución de sustrato: disolver la cantidad necesaria de tabletas de sustrato 9450-10 en el tampón de la enzima 9450-04 no diluida (una tableta en 2.5 ml de tampón). Mezclar bien hasta que la tableta se haya disuelto. Diluya el sustrato el día de la prueba y proteja el tubo de la luz directa. Las tabletas y soluciones de sustrato deben ser incoloras o deben tener solo un ligero matiz amarillo. Si una tableta o una solución de sustrato se vuelve amarilla, es posible que se haya hidrolizado parcialmente y se deba desechar. No almacene la solución de sustrato.

Solución de parada: utilizar el reactivo 9450-05 no diluido.

Recogida y preparación de muestras:

Use suero humano. El suero debe almacenarse a 2-8°C si se analiza en unos pocos días; de lo contrario, consérvelo a -20°C o menor. Evite congelar y descongelar repetidamente las muestras. Agite las muestras en el vórtex y diluya a 1/201 en solución de tampón de dilución (por ejemplo 5 µl de muestra en 1,0 ml).

Precauciones de uso:

Los compuestos tóxicos se encuentran en las siguientes concentraciones:

Componente	Referencia	Acida sódica (Na ₂ N ₂)	Tiomersal
Tampón de dilución (10 x)	9450-02	0,1 %	0,02 %
Solución de lavado (10 x)	9450-03	0,05 %	/

Figura 1.3: Inserto de *Strongyloides stercoralis*

Precauciones de uso:

Los compuestos tóxicos se encuentran en las siguientes concentraciones:

Componente	Referencia	Acida sódica (N ₂ N ₃)	Tiomersal
Tampón de dilución (10 x)	9450-02	0,1 %	0,02 %
Solución de lavado (10 x)	9450-03	0,05 %	/
Tampón de la enzima	9450-04	0,01 %	/
Sueros de control (20 x)	9450-06 a -08	0,1 %	0,02 %
Conjugado (50 x)	9450-09	0,1 %	/

50737_02 9450 Esp 01.2018

En las concentraciones utilizadas, la acida sódica y el tiomersal no presentan ningún riesgo toxicológico en contacto con la piel y las mucosas.

- La solución de parada 9450-05 (0.5 M K₃PO₄) es irritante
- Los sueros de control negativo, cut off y positivo (9450-06 a -08) son sueros de conejo.
- Trate todos los reactivos y las muestras como material potencialmente infeccioso.
- No intercambie reactivos de diferentes lotes o kits Bordier ELISA.
- No use reactivos de otros fabricantes con reactivos de este kit.
- No use reactivos después de su fecha de caducidad.
- Cierre los viales de reactivo firmemente después de su uso y no intercambie los tapones de rosca para evitar la contaminación.
- Use puntas de pipetas diferentes y limpias para cada muestra.
- No reutilice los micropocillos.

Consideración relativa a la eliminación

Todos los materiales utilizados para esta prueba generalmente se consideran residuos peligrosos. Consulte las leyes y las reglamentaciones nacionales para la eliminación de residuos peligrosos.

Procedimiento:

Durante el análisis, evite la formación de burbujas en los pocillos.

Etapas 1: Bloqueo:

Llenar completamente los pocillos con la solución de tampón de dilución.

Incubar 5 a 15 minutos a temperatura ambiente (bloqueo de los pocillos).

Eliminar el tampón de dilución por aspiración o sacudiendo el soporte con los pocillos en el lavabo.

Etapas 2: Incubación con las muestras a analizar:

Llenar el primer pocillo de la tira con 100 µl de tampón de dilución (Blanco sin suero).

Llenar los 3 pocillos siguientes con 100 µl de suero negativo, débilmente positivo (cut off) y suero positivo respectivamente. Para el análisis de más de 25 muestras, recomendamos llenar los tres últimos pocillos con suero de control como duplicado.

Llenar los otros pocillos con las muestras diluidas (100 µl).

Cubrir los pocillos con un film adhesivo e incubar 30 minutos a 37°C.

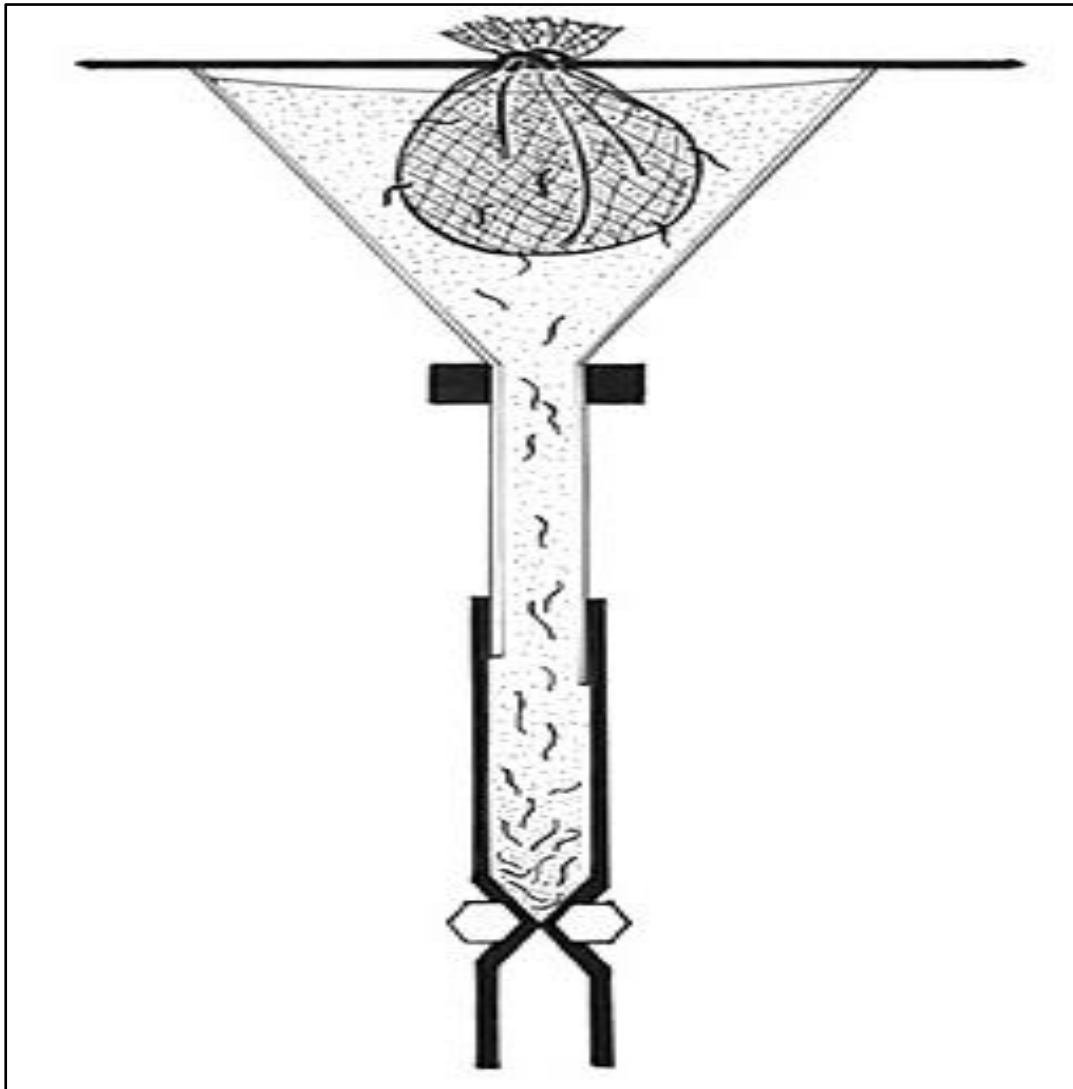
Eliminar los sueros y lavar 4 veces con ~ 250 µl de la solución de lavado.

Etapas 3: Incubación con el conjugado:

Distribuir 100 µl de conjugado diluido en cada pocillo (incluido el pocillo blanco, sin suero).

Cubrir los pocillos con una lámina adhesiva e incubar 30 minutos a 37°C.

Figura 2: Ilustración de técnica de Baermann



Fuente: Devera et al⁵⁴.

Figura 3: Procedimiento de TF-Test

PROCEDIMIENTO El TF-Test®

- Abra el tubo con cuidado de no derramar el líquido conservante. Recoger (con la pala recolectora), solo la cantidad que la llena, como en la ilustración (No poner heces en exceso).
 - Coloque las heces en el tubo de recolección, sin exceder el rango de tolerancia para la recolección. En el caso de heces diarreicas, colóquelas en un frasco limpio y transfíralas al tubo, hasta alcanzar el rango de tolerancia
 - **IMPORTANTE:** Cerrar el tubo colector y **AGITAR** vigorosamente hasta que las heces se disuelvan por completo.
 - Agite el tubo de recolección para homogeneizar la materia fecal recolectada.
 - Abrir el tubo colector con cuidado, tirando y simulando el movimiento del hilo, para no derramar el líquido.
 - Coloque los tubos colectores en la gradilla, con las tapas entreabiertas.
 - Agregue una gota de detergente neutro e incoloro a cada tubo de recolección.
 - Añada 3 ml de acetato de etilo pa por tubo y cierre los tubos.
 - Con ayuda de la regla homogeneizadora, fijar los tubos colectores insertados en la gradilla y agitarlos para homogeneizar el material.
 - Coloque los 3 tubos de recogida en el conjunto de filtro y centrífuga.
 - Gire el sistema colector-procesador de modo que los tubos colector-usuario queden hacia arriba y monte este sistema en la caja de la centrífuga universal de 100 ml.
 - Centrifugue el sistema a 500 xg durante 2 min.
 - Separe con cuidado el tubo de centrífuga del conjunto del procesador.
 - Desechar el sobrenadante en un recipiente apropiado, de acuerdo con las reglas de bioseguridad.
 - Coloque el tubo de centrífuga en la gradilla.
- En constante innovación, **TF-Test®** presenta **tecnología de cuchilla limpia** que facilita la lectura e identificación de parásitos intestinales. █

Fuente: <http://www.labdel.com.br/shop/tf-test-o-mais-sensivel-do-mercado/>