



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SEDE RODRIGO FACIO

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIATURA  
EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA

**Análisis de geohelmintos en una comunidad rural en Costa Rica por medio de técnicas  
microscópicas**

Fabián Jorge Umaña Blanco  
B87986

Junio, 2023

Los que aquí firmamos damos fe que este trabajo posee todas las correcciones indicadas el día de la presentación oral de este Trabajo Final de Graduación



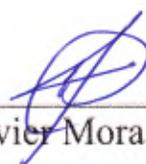
---

Dra. Ana Alicia Rojas Araya  
Tutora



---

Dr. Alberto Solano Barquero  
Lector



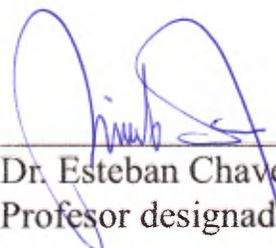
---

Dr. Javier Mora Rodríguez  
Lector



---

Dr. Gilbert David Loría  
Presidente del tribunal



---

Dr. Esteban Chaves  
Profesor designado

## **Agradecimientos**

A mi familia por su apoyo incondicional. A mis profesores Alicia, Alberto y Javier por su ayuda, disposición y guía. A todas aquellas personas que de una forma u otra colaboraron en el procesamiento manual de las muestras.

# Índice

1. Antecedentes.....	1
1.1. Definición de geohelminos y geohelmintiasis.....	1
1.2. Biología básica de los principales geohelminos.....	1
1.3. Epidemiología de las geohelmintiasis en Costa Rica.....	3
1.4. Detección de huevos de helmintos en muestras de suelo.....	4
1.5. Uso del análisis de suelo para valorar los riesgos de parasitosis.....	5
2. Objetivos.....	6
2.1. Objetivo general.....	6
2.2. Objetivos específicos.....	6
3. Justificación.....	7
4. Materiales y métodos.....	9
4.1. Descripción de la comunidad.....	9
4.2. Análisis de las muestras de heces de las personas de Tanagra.....	9
4.3. Muestreo de suelo.....	10
4.4. Procesamiento de muestras de suelo.....	11
4.5. Análisis espacial de las muestras de suelo y las muestras de heces de las personas de Tanagra.....	11
4.6. Análisis del desempeño del método de flotación.....	12
4.7. Análisis de datos para determinar el desempeño de la técnica de Jaroz <i>et al.</i> 2021.....	12
5. Resultados.....	13
5.1. Descripción de las infecciones por geohelminos en habitantes de diferentes sectores de la comunidad de Tanagra, Sixaola, en marzo de 2022.....	13
5.2. Presencia de geohelminos en muestras de suelo de diferentes sectores de la comunidad de Tanagra, Sixaola, en marzo de 2022.....	16
5.3. Mapeo conjunto de la presencia de geohelminos en muestras de suelo y en muestras de heces de personas de diferentes sectores de la comunidad de Tanagra, Sixaola en marzo de 2022.....	18
5.4. Desempeño de la técnica de Jaroz <i>et al.</i> 2021 para la detección de huevos en muestras de suelo.....	19
6. Discusión.....	22
6.1. Análisis descriptivo de las geohelmintiasis en la comunidad de Tanagra, Sixaola en marzo de 2022.....	22
6.2.1. Presencia de huevos en muestras de suelo obtenidas en cada sector.....	23
6.2.2. Relación entre los datos de geohelmintiasis en la población y presencia de huevos en el suelo.....	24

6.2.3. Sobre la capacidad de la técnica para detectar huevos de geohelminintos en muestras de suelo y cómo esta afecta la interpretación de los resultados de este estudio.....	25
7. Conclusiones .....	27
Bibliografía.....	28

## **1. Antecedentes**

### **1.1. Definición de geohelminchos y geohelmintiasis**

Los geohelminchos son parásitos cuyos ciclos de vida requieren que algunas de sus formas evolutivas permanezcan en suelo bajo ciertas condiciones ambientales para convertirse en infectantes al ser humano (Calderón, 2018). Dichos parásitos incluyen a *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara canis*, uncinarias (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*) y *Strongyloides stercoralis*. Estos parásitos infectan a los seres humanos vía oral a través de la ingesta de agua o alimentos contaminados con huevos, causando infecciones conocidas como geohelmintiasis. Los adultos de los parásitos pueden vivir alojados en el tracto gastrointestinal del hospedador por años (Bethony *et al.*, 2006).

Las geohelmintiasis tienen un gran impacto en el desarrollo social y económico de las comunidades con altas prevalencia debido a que afectan la capacidad del trabajo en adultos y retardan significativamente el desarrollo cognitivo de niños en edad escolar llevando a ausentismo escolar (PAHO, 2023). Además, dichas infecciones podrían incrementar la susceptibilidad del hospedero a otras enfermedades (Bethony *et al.*, 2006).

### **1.2. Biología básica de los principales geohelminchos**

Los ciclos de vida de los geohelminchos siguen un patrón general, donde el adulto habita en alguna porción del intestino. Ahí, los adultos se reproducen y producen huevos que luego son excretados por heces terminando en el suelo donde bajo condiciones específicas se desarrollan huevos larvados que serán infectantes para el ser humano (Brooker *et al.*, 2006)

*Ascaris lumbricoides* es un nematodo de gran importancia epidemiológica, ya que afecta a un 25 a 35% de la población mundial. Se presenta con mayor frecuencia en zonas de bajo índice socioeconómico, donde se reúnen varios factores como la carencia de letrinas o sistemas de alcantarillado, defecación al aire libre o carencia de agua potable. Todos estos factores inciden en la transmisión aumentada de estos y otras especies de parásitos. El ser humano es el hospedador definitivo, cuando los huevos ingeridos alcanzan el intestino, eclosionan las larvas L3, la cual realiza

ciclo de Looss, y migra por vasos mesentéricos hasta el hígado, donde se aloja de 3-5 días para posteriormente migrar hasta pulmón, donde se genera una reacción que ocasiona fiebre, tos, alergias y podría ocasionar el síndrome de Loeffler. Luego, la larva asciende desde los bronquiolos hasta la laringe, donde es deglutida y alcanza el intestino delgado, donde los parásitos adultos machos y la hembras se establecen, secuestran nutrientes del hospedador y copulan, específicamente en la luz intestinal. Las hembras liberan miles de huevos por día en la materia fecal, los cuales cuando salen por heces aún no son infectantes, ya que requieren de 15 a 21 días en suelo arcilloso-arenoso, elevada humedad y temperatura ambiental media de 25 °C (entre 21 y 35 °C), para que se desarrolle la larva en su interior. En la tierra el embrión dentro del huevo sufre varias transformaciones, donde se forma una larva de primer estadio (L1); luego de 5 a 10 días la larva muda y se transforma en larva de segundo estadio (L2). Finalmente, la L2 se desarrolla a L3 dentro del huevo, la cual ya puede ser infectante para el humano (Becerril Flores, 2019)

*Trichuris trichiura* es un geohelminto que infecta el intestino grueso de seres humanos. Para completar su ciclo biológico y alcanzar el estadio de huevo larvado (forma infectante), los huevos requieren estar en suelo arcillo-arenoso entre 10 y 14 días, a una temperatura entre 10 y 31 °C con más de 50% de humedad relativa ambiental y los sitios sombreados favorecen el desarrollo del huevo. La infección ocurre al ingerir los huevos, los cuales al llegar a intestino delgado eclosionan en la larva L1. En este parásito no ocurre ciclo de Loos, ya que la larva comienza a crecer y a mudar penetrando las células intestinales cercanas hasta eventualmente desarrollarse a adultos y copular en la luz intestinal. (Becerril Flores, 2019). A causa de la penetración intestinal, la trichuriasis puede provocar anemia, dolor abdominal y sangrado intestinal.

*Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus* son nemátodos de la familia Ancylostomatidae conocidos como uncinarias y son agentes causales de cuadros gastrointestinales que se acompañan de pérdida de sangre crónica. Los adultos se adhieren en la mucosa intestinal y copulan. A causa de dicha adhesión, produce sangrado y pérdida de nutrientes, que puede llegar a generar anemia ferropriva. La oviposición puede durar varios años, y si estos son depositados en suelos sombreados, húmedos, cálidos y con temperatura adecuada, eclosionan en 24 a 48 horas y dan origen a una larva rhabditiforme L1 (Becerril Flores, 2019). Estas larvas mudan hasta L3 que tienen la capacidad de penetrar la piel humana e iniciar un nuevo ciclo de infección.

*Toxocara* es un género con dos especies muy frecuentes y ampliamente distribuidas, *Toxocara canis* y *Toxocara cati*, los cuales son geohelminthos zoonóticos cuyos hospedadores definitivos son cánidos

y felinos, respectivamente. Estos helmintos infectan al ser humano (hospedero accidental), al igual que los otros geohelmintos, mediante la ingesta de los huevos en tierra. En el hospedero definitivo natural los parásitos realizan el ciclo de Looss hasta alcanzar la fase adulta en el intestino delgado, lugar en donde se da la cópula de los adultos. Los huevos salen por heces a la cuarta semana de infección, y deben pasar de 3-4 semanas en el suelo para desarrollar la fase infectantes, los huevos larvados (segundo estadio) (Becerril Flores, 2019). En el ser humano, las L3 no se desarrollan hasta los estadios adultos, ya que su desarrollo queda arrestado por una fuerte respuesta inmune en los órganos donde suelen migrar, como cerebro, músculo, hígado o pulmón. En estos lugares, se induce una respuesta inflamatoria severa mediada por eosinófilos, formando un granuloma alrededor del parásito y causando la patología denominada larva migrans visceral.

### **1.3. Epidemiología de las geohelmintiasis en Costa Rica**

Se estima que 1500 millones de personas (24% de la población mundial) están infectadas con alguna especie de geohelminto. En el continente americano, las geohelmintiasis están presentes en toda la región y se estima que una de cada tres personas está infectada y alrededor de 46 millones de niños entre 1-14 años presentan riesgo de infectarse por estos parásitos (PAHO, 2023). De estos, 13.3 millones son pre-escolares y 337 millones escolares (Vázquez *et al.*, 2018), siendo *A. lumbricoides* el agente más común (Celis & Martínez, 2017).

A inicios del siglo XX, el 65% de las defunciones eran atribuidas a enfermedades infecciosas y parasitarias, donde se destacaban las parasitosis intestinales, la malaria y la tuberculosis (Alfaro *et al.*, 2003). En 1935 se realizaron exámenes coproparasitológicos en 198 escolares de San Antonio de Belén, en donde se encontraron 88 personas infectadas por uncinarias, 91 por *T. trichiura*, y 117 por *A. lumbricoides*, en donde se vio mayor frecuencia en los niños entre 7-10 años, sin ninguna diferencia por sexo (Organización Panamericana de la Salud, 1932). Cinco décadas más tarde, se realizó una comparación en la prevalencia de geohelmintos entre áreas rurales y urbanas de 1966 y 1982. Los resultados obtenidos demostraron que la prevalencia de todos los helmintos durante el lapso entre ambas encuestas disminuyó significativamente, siendo más notable en población pediátrica. En áreas rurales la prevalencia de *A. lumbricoides* en niños de 5-9 años disminuyó de 44.9% hasta un 3% entre ambos estudios, mientras que para las zonas urbanas de prevalencia de la misma especie en el mismo grupo de edades disminuyó de un 32.3% a un 5%. Además, se observó que ocurrió una reducción en la intensidad de dichas infecciones entre ambas encuestas, donde las infecciones moderadas y severas

causadas por *A. lumbricoides* y por *T. trichiura* casi desaparecieron en poblaciones pediátricas. (Mata *et al.*, 1985). Posteriormente en un estudio del año 2001 realizado en 5250 niños de San Ramón de Alajuela estudiados durante un año, se reveló que 2123 niños (40.4%) tenían una infección parasitaria, de los cuales 645 pacientes estaban infectados por helmintos (30.38%) y 1478 por protozoarios (69.62%) (Serrano Frago & Cantillo Arrieta, 2001).

En la Encuesta Nacional de Nutrición publicada en el 2013, se hace referencia al estudio coproparasitológico entre los años 2008-2009, de 782 muestras de heces de población pre-escolar, escolar y adultos mayores, de las cuales el 49% de todas las personas estudiadas tenían parásitos intestinales, en su mayoría comensales. Los porcentajes de infección fueron mayores en escolares y adultos mayores, con porcentajes superiores al 54.1% y 58.2%, respectivamente. Los parásitos detectados con mayor frecuencia fueron *Blastocystis* sp., *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* y el geohelminto más detectado fue *T. trichiura* (García *et al.*, 2013).

En la última década se han realizado pocos estudios relacionados con la epidemiología de las parasitosis intestinales (Solano & León, 2018). Estos análisis han revelado un alto porcentaje de parasitismo por helmintos y protozoarios en comunidades de bajo índice de desarrollo socioeconómico, principalmente aquellos territorios fronterizos o comunidades indígenas. A pesar de demostrar la presencia sostenida de parásitos, estos análisis no son representativos a lo que ocurre en otras áreas del país, ya que se han concentrado en regiones vulnerables socioeconómicamente. Esto trae consigo vacíos en el conocimiento de la epidemiología de las infecciones en nuestro país.

#### **1.4. Detección de huevos de helmintos en muestras de suelo**

El diagnóstico de las geohelminCIAS por lo general se realiza tras la observación de huevos de estos parásitos en muestras de heces de los pacientes. Además, se pueden analizar otras matrices como el suelo para el hallazgo de huevos de estos parásito. Esta matriz resulta vital estudiarla debido a la existencia de infecciones zoonóticas por geohelmintos, cuyos hospedadores definitivos son animales (perros y gatos generalmente) pero que igualmente pueden infectar al ser humano como un hospedero accidental, como es el caso de *Toxocara canis*, *Toxocara cati* y *Ancylostoma caninum* (Amoah *et al.*, 2017).

Se han utilizado varias estrategias para la detección de huevos de geohelminos en el suelo. Los métodos convencionales utilizan técnicas de recuperación basadas en la sedimentación, extracción y flotación de los huevos, en conjunto con la detección y cuantificación microscópica. La muestra debe secarse por 1-2 días (Mizgajska-Wiktor, 2005). Generalmente se debe realizar la separación de los huevos de las partículas orgánicas, ya que estas podrían atrapar los huevos o unirse a estos generando una recuperación menor, para lo que se emplean soluciones específicas, como los detergentes aniónicos, para romper enlaces entre los huevos y las partículas. Luego se utilizan técnicas de sedimentación para la separación del medio líquido. Finalmente, el paso crítico del método es la flotación, en donde se genera el gradiente de densidad para la separación de los huevos utilizando soluciones con una gravedad específica mayor a 1.25 (Amoah *et al.*, 2017). Por ejemplo, soluciones sulfato de zinc o soluciones de sacarosa.

También existen los métodos basados en ácidos nucleicos, en donde se debe realizar un procedimiento de extracción de ADN para la posterior reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El mayor inconveniente para la detección molecular de huevos de geohelminos es la extracción de ácidos nucleicos en buena cantidad y calidad, debido a que el suelo al ser una matriz muy compleja y presenta gran cantidad de inhibidores de PCR (Khurana *et al.*, 2021).

### **1.5. Uso del análisis de suelo para valorar los riesgos de parasitosis**

El análisis de muestras de suelo para determinar la presencia de geohelminos es útil para la valoración del riesgo de una comunidad en contraer estas parasitosis. De acuerdo con varios estudios realizados, la presencia de huevos de geohelminos en niveles elevados en lodo utilizado para agricultura han demostrado un riesgo elevado de parasitosis en agricultores de Senegal y Sudáfrica, lo que concuerda con la prevalencia de las parasitosis en las zonas de estudio (Amoah *et al.*, 2018). En otro estudio se recolectaron muestras de heces de perros y muestras de cajas de arena (sandpits) de niños en áreas con tránsito frecuente de perros para analizar la presencia de huevos de geohelminos, encontrándose un porcentaje notable de contaminación en dichas muestras. Esto señala una amenaza significativa para la salud pública y un riesgo de transmisión muy alto (Bystrianska *et al.*, 2019)

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo general**

Realizar un análisis descriptivo de las geohelmintiasis en una comunidad rural con alta prevalencia de geohelmintiasis intestinales

### **2.2. Objetivos específicos**

1. Analizar los datos epidemiológicos más recientes de la comunidad de Tanagra, Sixaola, utilizando la información recopilada por el TCU 552.
2. Determinar la presencia de formas transmisibles de geohelminos en muestras ambientales de suelo en la comunidad de Tanagra, Sixaola, mediante el uso de una metodología publicada para la detección de huevos de geohelminos en el suelo.
3. Analizar si existe una relación entre la distribución espacial de formas transmisibles de geohelminos en el suelo y la frecuencia de casos positivos por geohelminos en personas de la comunidad estudiada, utilizando sistemas de información geográfica.
4. Analizar el límite de detección de huevos de dos especies de geohelminos en muestras de suelo utilizando un método publicado.

### 3. Justificación

Las parasitosis intestinales son infecciones altamente prevalentes a nivel mundial. Más de la mitad de la población mundial vive en zonas endémicas para geohelminthos (del inglés *soil-transmitted helminths*), y se estima que más 1.45 billones de personas de regiones tropicales y subtropicales están infectadas (Freeman *et al.*, 2019). Estas infecciones son causadas por diversos tipos de parásitos, de los cuales se estima que alrededor de 1.2 billones de personas están infectadas a nivel mundial por *Ascaris lumbricoides*. En los últimos años se han hecho pocos estudios relacionados a la epidemiología de las parasitosis intestinales en Costa Rica (Solano & León, 2018), los cuales han sido espacialmente dispersos y poco sistemáticos, lo que genera vacíos de conocimiento de dicha información.

A nivel clínico las parasitosis intestinales son responsables de gran morbilidad y mortalidad en países tropicales, subtropicales y/o con bajo índice socioeconómico. Estos parásitos producen daño crónico en los afectados con manifestaciones que van desde diarrea, anemia, pérdida de peso, náuseas y vómitos, prurito, mialgia, dolor abdominal, fiebre y leves ulceraciones o varices, hasta complicaciones más severas como obstrucción intestinal, disentería, hemorragia por varices, convulsiones, retraso en el crecimiento o deterioro neurocognitivo. Por lo tanto, conocer las especies más abundantes, su distribución geográfica y frecuencia resultan vitales para su manejo y prevención (Chifunda & Kelly, 2019).

En las últimas décadas, estas infecciones han sido controladas en muchos lugares del mundo con el uso de tratamientos masivos con antihelmínticos, el uso de letrinas, la construcción de alcantarillado de aguas negras y la adecuada disposición de las excretas. Aun así, las geohelminthiasis se catalogan como enfermedades desatendidas debido a que afectan regiones con bajo índice de desarrollo social. Se han destinado pocos fondos económicos y recursos humanos dirigidos hacia su prevención, abordaje y tratamiento. Esto ha llevado consigo a la preparación inadecuada de profesionales que diagnostiquen y traten las infecciones, lo que da paso a enfermedades sostenidas con consecuencias notables a largo plazo, como ocurre en muchas comunidades rurales aisladas.

Se tienen registros de altas frecuencias de parasitosis en la provincia de Limón, específicamente en la comunidad rural de Tanagra ubicada en el distrito de Sixaola, cantón de Talamanca, con prevalencias de parasitosis que han llegado al 70%, destacándose *A. lumbricoides* y *T. trichiura*. Debido a que estas especies de geohelminthos se transmiten al ser humano por contaminación del

suelo, la determinación de huevos en esta matriz puede brindar información sustancial respecto a la epidemiología de la zona, vías de transmisión en la comunidad de estudio e incluso hábitos presentes en la comunidad que producen infecciones sostenidas o reinfecciones, lo que permite que esta región sea un buen caso de análisis. Además, los estudios en Costa Rica relacionados con los factores ambientales relacionados a las parasitosis, como el suelo, agua o infraestructuras son escasos, por lo que su análisis en la comunidad de Tanagra brindaría información muy valiosa desde el punto de vista ecológico y epidemiológico.

Al establecer una correlación de los resultados observados en muestras de suelo con lo obtenido en heces se podrá interpretar el papel que juega el suelo en relación con la transmisión de los geohelminos en esta comunidad. Además, se podrán conocer cuáles sectores de la comunidad son más vulnerables a la infección y así se podrán determinar los cambios estructurales que podrían disminuir la transmisión.

## **4. Materiales y métodos**

### **4.1. Descripción de la comunidad**

El estudio se realizó en la comunidad de Tanagra, localizada en el cantón de Talamanca, distrito de Sixaola, ubicada en las coordenadas 9.539413, -82.6818, inmersa en una finca bananera. En esta comunidad habitan alrededor de 125 personas, y la población está constituida por una mezcla aproximadamente de un 60% de personas indígenas Ngäbe-Buglé, y un 40% de personas no indígenas entre las que se encuentran personas que llegaron a Costa Rica procedentes de Nicaragua, Honduras, y personas cuyos ancestros han vivido en la misma localidad desde hace más tiempo.

Los miembros de esta comunidad no tienen un "título de propiedad" de sus viviendas y trabajan en condiciones poco favorables para la empresa que explota banano en esta finca, sin acceso a seguro social en su gran mayoría. Por el tipo de ocupación "ilegítima" de esta finca, no existen en la comunidad servicios básicos de electricidad o agua. Por ejemplo, las personas obtienen el agua a partir de pozos y electricidad de conexiones riesgosas instauradas por empresas de servicios eléctricos no oficiales. Sin embargo, existen viviendas en las cuales no existe electricidad del todo.

La comunidad está en cercanía con el río Sixaola y pequeños riachuelos y canales aledaños que se usan para riego agrícola. Algunos de estos riachuelos son utilizados por algunos de los habitantes para la defecación al aire libre. No obstante, algunas casas tienen letrinas de hueco, pero ninguna tiene un sistema de alcantarillado sanitario ni de tanque séptico. La ubicación de los pozos de agua está cerca de las letrinas en muchos casos.

En la comunidad suceden con frecuencia inundaciones durante la época lluviosa. El acceso a saneamiento ambiental es pobre y la posibilidad y costumbres de hábitos de higiene personal en muchos de los habitantes no ha sido bien caracterizada, pero en apariencia, es también deficiente.

### **4.2 Análisis de las muestras de heces de las personas de Tanagra**

Se calcularon las frecuencias generales y para cada tipo de parásito con los datos de presencia-ausencia de parásitos en heces de personas de la comunidad cuando se analizaron por la técnica de Kato. También se describió esta información por sexo, grupo de edad y sector de muestreo. Se tabuló la información sobre número de huevos de cada especie de helminto encontradas en las muestras de suelo en cada cuadrícula y los totales y porcentajes por sector. Se determinó si existían diferencias significativas para las frecuencias antes mencionadas entre los sectores analizando diferencias de

proporciones mediante pruebas de chi-cuadrado. De acuerdo con el Comité Ético Científico, no fue necesario obtener un consentimiento informado de cada individuos ya que las muestras de heces estuvieron anonimizadas y el análisis se enmarcó en el proyecto de Acción Social 552: “Prevención de las parasitosis en escolares de zonas vulnerables de Costa Rica”.

### 4.3. Muestreo de suelo

Se dividió la comunidad en tres sectores de igual tamaño (155\*95 metros) marcados como A, B, y C. Estos se subdividieron en cuadrículas de aproximadamente 10x10 metros numeradas del uno al ciento cuarenta y seis (1-146). Se eligieron 15 cuadrículas del sector A, 12 del sector B y 12 del C usando la función de aleatorización de Excel. De cada cuadrícula se tomaron tres muestras de aproximadamente 200 g de 3 a 5 cm de la capa superficial de suelo seco (Jarosz *et al.*, 2021) (Amoah *et al.*, 2017) y se almacenaron a 4 °C en una bolsa de plástico con zipper (Umhang *et al.*, 2017). Al día siguiente, las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Helmintología de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica donde se siguieron almacenando a 4°C hasta ser procesadas.

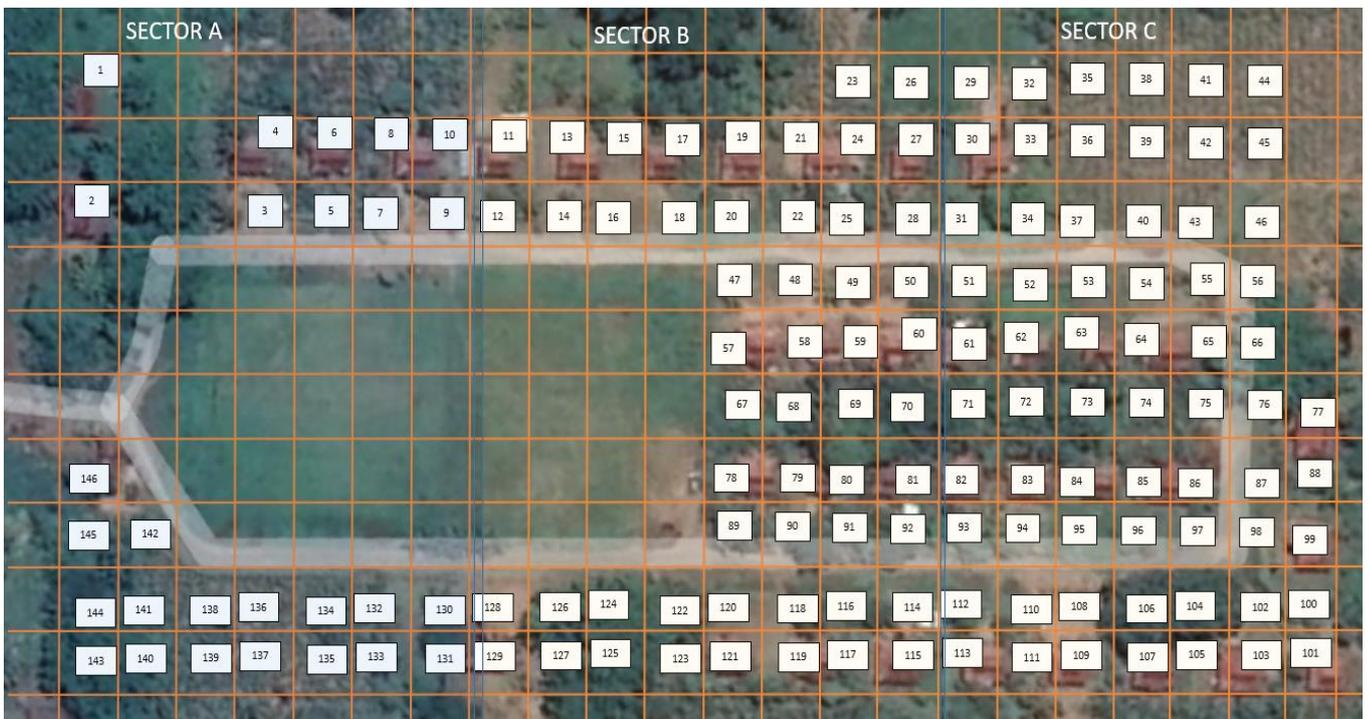


Fig 1. Mapa de la comunidad Tanagra dividido por los sectores propuestos con la numeración por cuadrículas

#### **4.4. Procesamiento de muestras de suelo**

Para el procesamiento de las muestras se siguió la metodología propuesta por Jarosz *et al.* 2021. Se secaron las muestras durante aproximadamente cinco días en un horno a 40°C. Luego, las muestras se homogenizaron y filtraron por un tamiz con un poro de 2 mm para eliminar objetos sólidos o porciones gruesas de tierra. Posteriormente se pesaron 40 g de tierra en un Erlenmeyer de 250 mL, se añadieron 60 mL de NaOH al 5%, y se dejó reposar por 1 hora para separar los huevos de partículas sólidas remanentes. Al concluir esta incubación el erlenmeyer se colocó en un agitador por 20 minutos a 100 rpm. El contenido del Erlenmeyer se transfirió a dos tubos de 50 mL, se les añadió agua destilada hasta completar el volumen y se centrifugaron a 1500 rpm durante 3 minutos. Luego, se descartó el sobrenadante y se añadieron 30 mL de solución de Sheather con gravedad específica de 1.27 (Jarosz *et al.*, 2021) y se volvió a centrifugar a 1500 rpm durante 3 minutos. Utilizando un palillo de madera se agitó el precipitado para asegurar que los huevos no quedaran atrapados y posteriormente se aforó con el mismo reactivo de Sheather hasta formar un menisco. Se colocó un portaobjetos sobre la boca del tubo y se dejó reposar por 10 minutos (Mizgajska-Wiktor, 2005). Por último, se observaron los dos portaobjetos por muestra, aproximadamente 200 uL por muestra al microscopio para la búsqueda y el conteo de los huevos de geohelminetos.

#### **4.5 Análisis espacial de las muestras de suelo y las muestras de heces de las personas de Tanagra**

Se generaron mapas con las cuadrículas donde se recolectaron muestras de tierra, las casas donde se detectaron parásitos en las muestras de heces de los individuos y las cuadrículas donde se detectaron huevos en suelo utilizando las herramientas Google Earth PRO y QGIS 3.0 mediante la creación de capas en formato .shp (shapefiles). Mediante QGIS3.8, se realizó un análisis de autocorrelación espacial con el estimador “I de Morán” formulando una matriz de pesos espaciales basada en la distribución total de los casos positivos tanto en el suelo como de las casas en las que se encontraron parásitos en las heces de las personas. De esta manera se determinó si existía correlación entre la positividad de geohelminetos en el suelo y la positividad de geohelminetos en heces y si dicha distribución era agrupada o aleatoria. Un valor menor a cero indica autocorrelación negativa, valores cercanos a 0 indican ausencia de relación, y valores mayores a cero indican autocorrelación espacial positiva siempre que la probabilidad asociada a la prueba sea  $<0.05$ . En este último caso se sustentaría una correlación entre los sitios de suelo donde se encuentran huevos de geohelminetos y la presencia de casos positivos en las personas.

#### **4.6 Análisis del desempeño del método de flotación**

El método de Jarosz *et al.* 2021 no es un método validado experimentalmente para el análisis cuantitativo de huevos de helmintos en muestras de suelo. Por lo tanto, se evaluó el límite de detección de huevos de este método. Se prepararon suspensiones de huevos fecundados de *A. lumbricoides* y *T. canis* con concentraciones conocidas. Para la preparación de estas suspensiones, se tomó sedimento con huevos de *A. lumbricoides* o *T. canis*, se filtró con un tamiz de 100  $\mu\text{m}$  de poro, se centrifugó dos veces a 2000 rpm y se conservó el sedimento restante. Posteriormente, se contó el número de huevos de *A. lumbricoides* o *T. canis* por cada 100  $\mu\text{L}$  presentes en el sedimento concentrado por quintuplicado utilizando un contador manual de células y se calculó el promedio de huevos/100  $\mu\text{L}$ . Estos bioensayos se repitieron tres veces y se utilizó este para la preparación de las suspensiones de concentración conocida. Luego, se prepararon suspensiones con 25 000, 20 000, 15 000, 10 000, 7500, 5000, 2500 y 1000 huevos/suspensión de *A. lumbricoides*. y suspensiones de 15 000, 10000, 5000, 2500 y 1000 huevos/suspensión de *T. canis*.

Estas suspensiones de concentración de huevos conocida se mezclaron durante 5 minutos con 40 g de suelo de vivero, preparado sin uso de excrementos de animales de ningún tipo. Luego de esto, se repitió el procedimiento descrito por Jarosz *et al.* 2021 por quintuplicado para cada suspensión estándar de huevo y se utilizó suelo sin inocular como control. Para cada réplica se anotó el total de huevos y se calculó un promedio y desviación estándar de la cantidad de huevos observados en el método de Sheather para cada una de las suspensiones estándar

#### **4.7 Análisis de datos para determinar el desempeño de la técnica de Jaroz *et al.* 2021**

Se realizó un análisis de regresión lineal entre las variables “tamaño del inóculo” y “número de huevos recuperados” y correlación de Pearson para ambas variables para los datos de los bioensayos con inóculos de huevos. Adicionalmente, se realizó un ANOVA para determinar si había diferencias significativas entre el número de huevos según el tamaño del inóculo, con un análisis post-hoc de las diferencias entre tamaños de inóculo mediante una comparación por pares de Tukey. Este mismo análisis se realizó para las muestras inoculadas con *A. lumbricoides* o con *T. canis*.

## 5. Resultados

### 5.1. Descripción de las infecciones por geohelminthos en habitantes de diferentes sectores de la comunidad de Tanagra, Sixaola, en marzo de 2022.

En un total de 26 casas, al menos una persona brindó una muestra de heces para analizar, sumando un total de 89 muestras o un 71.2% de la población total. De las 89 personas muestreadas, un 35% presentaron infección por una especie de geohelmintho y en un 22% hubo coinfección con presencia de dos especies diferentes de geohelminthos. La frecuencia de helmintos fue de un 54% (41.45%-61.78%, IC 95%).

Cuadro I. Distribución de geohelminthiasis por número de casa

Número de casa	Número de personas muestreadas por casa	Infección por helmintos	Número de especies de helmintos
1	1	No	0
3	1	No	0
6	3	Sí	2
8	5	No	0
9	2	Sí	1
11	1	Sí	1
13	3	Sí	1
16	3	No	0
17	7	Sí	2
18	1	No	0
19	12	Sí	2
20	1	No	0
21	2	No	0
23	1	Sí	1
24	2	Sí	2
25	3	Sí	1
27	1	Sí	1
28	5	Sí	2
30	4	Sí	2
31	3	Sí	2
32	5	Sí	2
33	6	Sí	1
34	4	Sí	1
35	4	No	0
36	7	Sí	1
37	2	No	0

De acuerdo con la figura 2, el sector C fue el área con mayor frecuencia de geohelminthiasis de la comunidad. Se obtuvo un 70% de positividad (21/30 personas) en el sector C, seguido por el sector

B con 55% (26/42 personas) y el sector A con 29% (4/14 personas), siendo los sectores B y C en donde se agrupan de manera significativa la mayoría de los casos ( $X^2=7,02$ ,  $p<0.001$ ). Además, *A. lumbricoides* fue el parásito más prevalente (50 %) en los tres sectores (figura 3) con 4 casos en el sector A, 20 en el sector B y 19 en el sector C. *T. trichiura* se detectó en el 26% de las muestras, con 16 casos en el sector B, 6 en el sector C y ningún caso en el sector A. El grupo de parásitos menos prevalente fueron las uncinarias, con una frecuencia del 2%. Únicamente hubo dos casos, y ambos en el sector C.

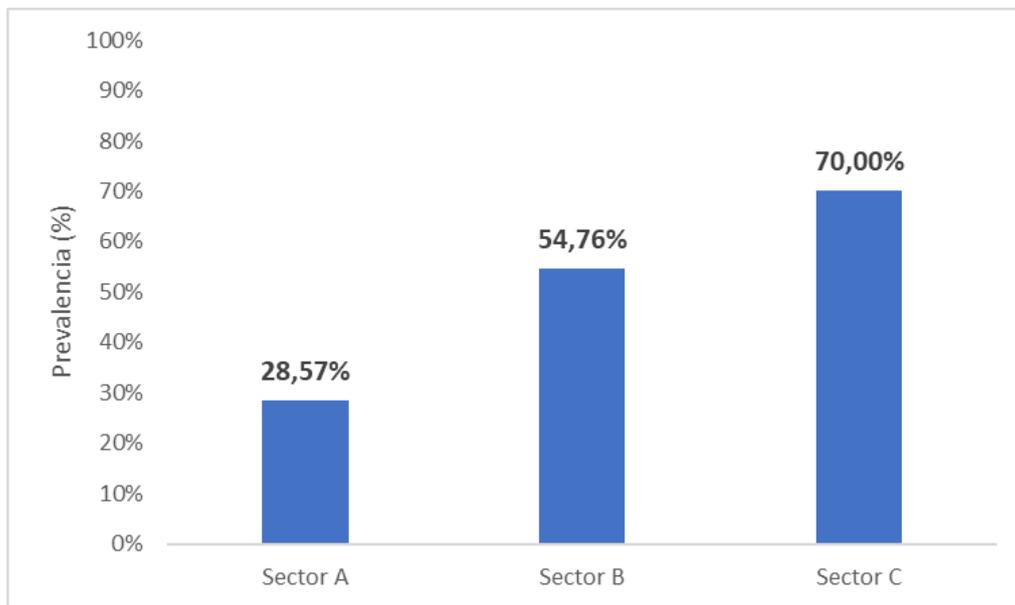


Fig 2. Gráfico de frecuencia de geohelmintiasis por sectores

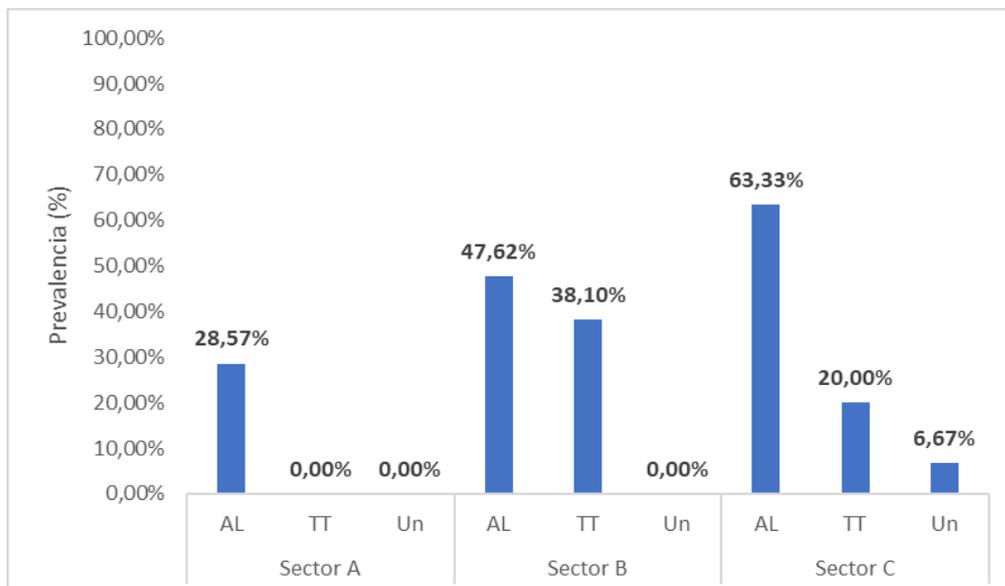


Fig 3. Gráfico de frecuencia de diferentes especies de geohelminths por sectores

Las geohelmintiasis fueron más frecuentes en niños menores de 12 años ( $X^2=4.14, p=0.04$ ). La mayor prevalencia se observó en niños con edades entre 7 a 9 años (70%), seguido por niños de 4 a 6 años (57%). Al igual que el patrón general, *A. lumbricoides* fue el parásito más prevalente en todas las edades, seguido por *T.trichiura*, como se observa en la figura 5. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a geohelmintiasis según sexo ( $X^2=0.04, p=0.8$ ).

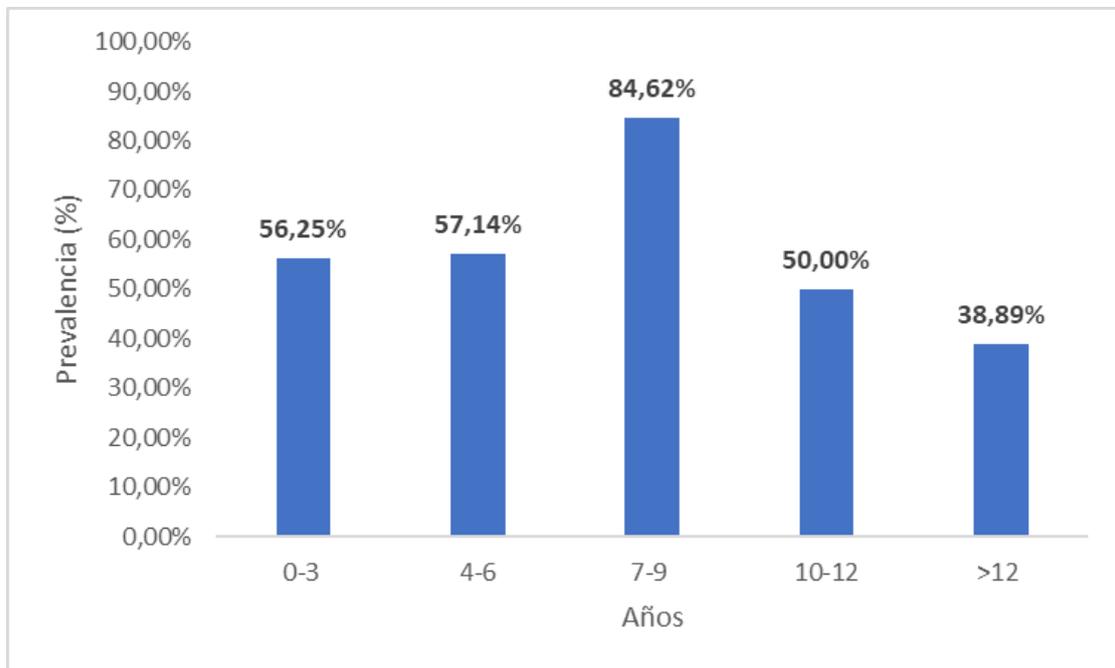


Fig 4. Gráfico de frecuencia de geohelmintiasis por edades

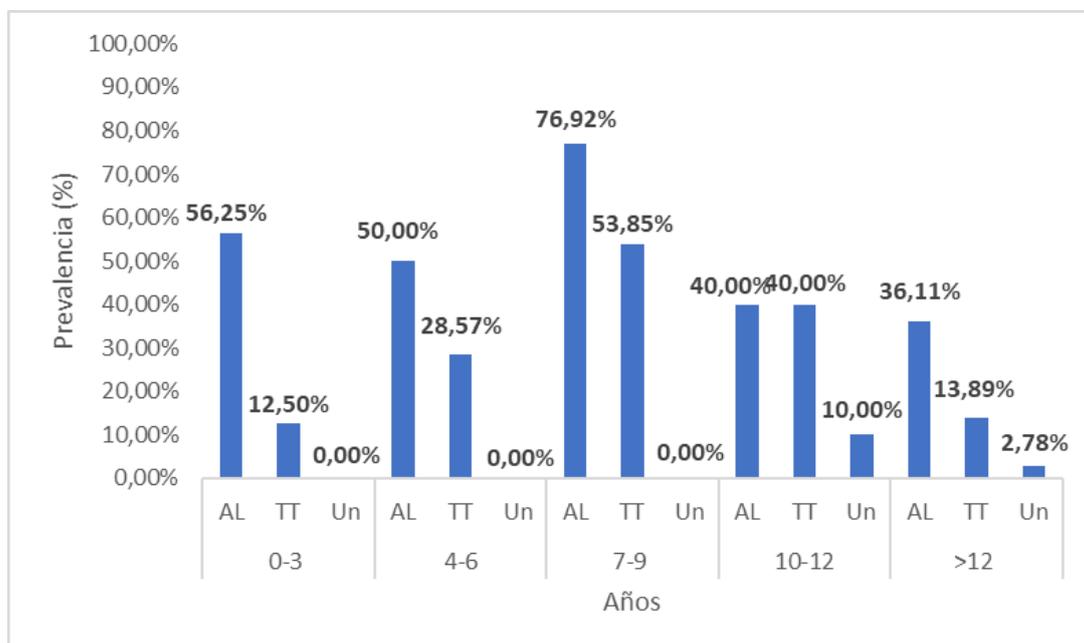


Fig 5. Gráfico de frecuencia de diferentes especies de geohelminths por edades

## 5.2. Presencia de geohelminos en muestras de suelo de diferentes sectores de la comunidad de Tanagra, Sixaola, en marzo de 2022

Se observaron 36 huevos de geohelminos en total en 28% (11/39) de las cuadrículas. Se detectaron huevos de *A. lumbricoides*, de la familia Taeniidae, *T. canis* y del género *Parascaris* (Cuadro II), siendo *A. lumbricoides* el que se observó con mayor frecuencia. El sector A tuvo la mayor cantidad de cuadrículas positivas, seguido por el Sector B, no obstante, las diferencias en positividad por sectores no fueron estadísticamente significativas (Test exacto de Fisher,  $p=0.39$ ).

El análisis geoespacial de vecinos más próximos realizado al conjunto de puntos positivos por geohelminos en el suelo arrojó valores positivos altos en el indicador (NN index=145.9), y valor Z score ( $Z=756809.9$ ) con una distancia observada muy por encima de la distancia esperada, lo que demuestra la poca agrupación espacial de los datos y más bien una distribución aleatoria.

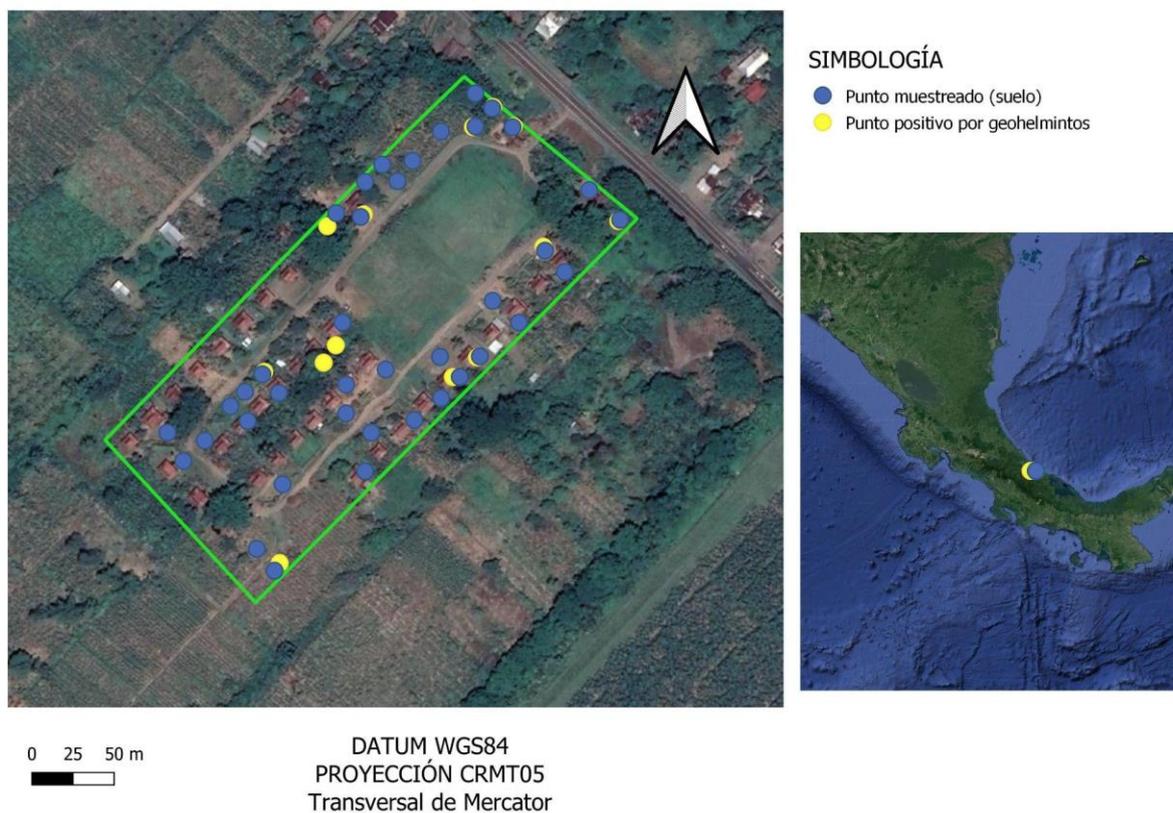


Fig 6. Distribución espacial de zonas muestreadas y zonas positivas por huevos de geohelminos

Cuadro II. Distribución de huevos observados en muestras de suelo por cuadrículas, especie y cantidad

Cuadrícula	Huevecillos observados	Especies observadas	Cantidad de huevecillos
1	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	3
		<i>Parascaris</i> sp.	6
2	No		
3	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	2
4	No		
9	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	1
		<i>Parascaris</i> sp.	1
10	No		
13	Sí	<i>Parascaris</i> sp.	1
		Taniidae	1
15	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	1
		<i>Parascaris</i> sp.	7
16	No		
17	No		
21	No		
28	No		
30	No		
45	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	2
46	No		
47	No		
50	No		
54	No		
59	No		
78	No		
82	No		
84	No		
93	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	1
94	No		
95	No		
97	No		
98	No		
102	No		
127	No		
128	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	1
		<i>Toxocara</i> sp.	1
		<i>Parascaris</i> sp.	5
131	No		
132	No		
133	No		
134	No		
138	No		

142	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	1
144	No		
145	Sí	<i>A. lumbricoides</i>	1
146	Sí	Taeniidae	1

### 5.3. Mapeo conjunto de la presencia de geohelmintos en muestras de suelo y en muestras de heces de personas de diferentes sectores de la comunidad de Tanagra, Sixaola en marzo de 2022.

En el análisis geoespacial combinando las capas de puntos positivos en el suelo con las capas de puntos positivos por geohelmintos en heces (Figura 7), mediante la I de Moran, también se descarta que para estos resultados, exista una asociación entre las casas con muestras positivas por parásitos y cuadrículas con hallazgo de huevos de geohelmintos. En el test de Moran, para que exista esta asociación positiva, se espera un valor de  $I > 1$ , y entre más alto es el valor es mayor dicha asociación. El valor de I obtenido fue muy cercano a 0, consistente con una “no asociación” entre ambas variables. Por lo tanto, no existe correlación entre la presencia de huevos de geohelmintos en el suelo y los casos positivos por geohelmintos en las personas, al menos con los datos disponibles ( $I = -0.00496, p = 0.26$ ).

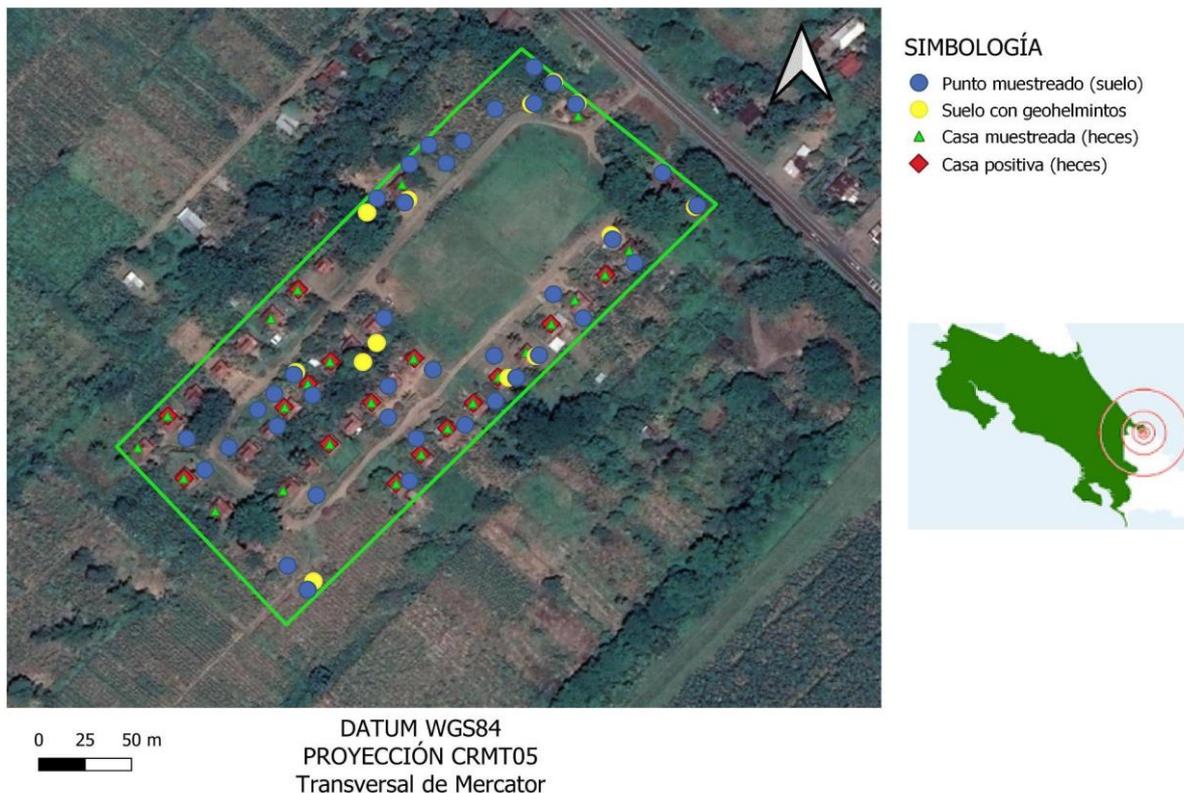


Fig 7. Mapa conjunto con distribución espacial de las casas muestreadas y zonas positivas por huevos de geohelmintos

#### 5.4. Desempeño de la técnica de Jaroz *et al.* 2021 para la detección de huevos en muestras de suelo.

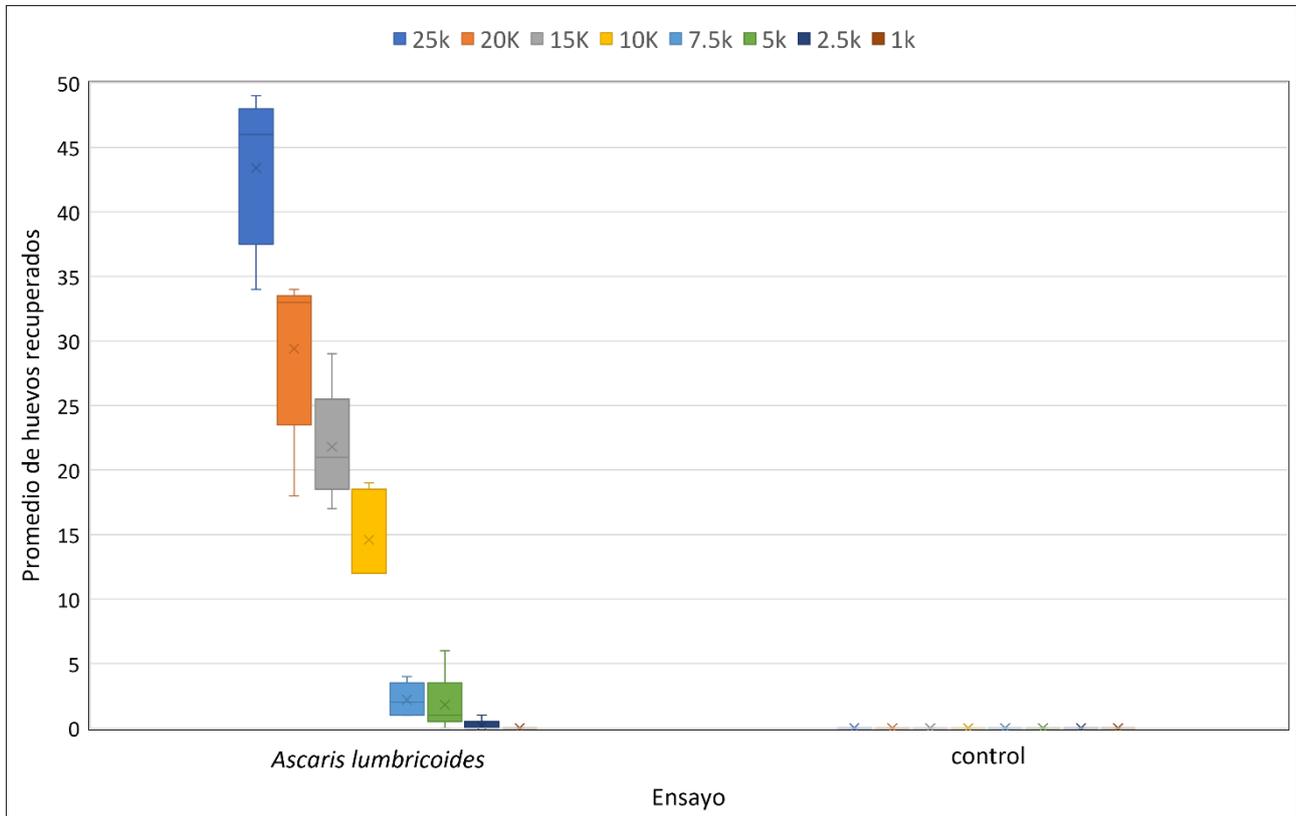


Fig 8. Representación gráfica del promedio de huevos recuperados provenientes de distintos inóculos de *Ascaris lumbricoides* mediante el método de Jarozs *et al.*, 2021. Cada color representa un inóculo de distinta concentración de huevecillos, donde K = 1000 huevos.

Los análisis realizados demostraron que los huevos fueron detectables y recuperables a partir de una concentración de 10 000 por inóculo, donde se tiene una relación lineal entre el inóculo y la cantidad de huevos recuperados (Figura 8). Por debajo de dicho valor, la recuperación disminuye drásticamente y no se existe una relación lineal predecible, lo que implica que, para la recuperación de muestras ambientales, el método es funcional cuando existe una alta cantidad de huevos.

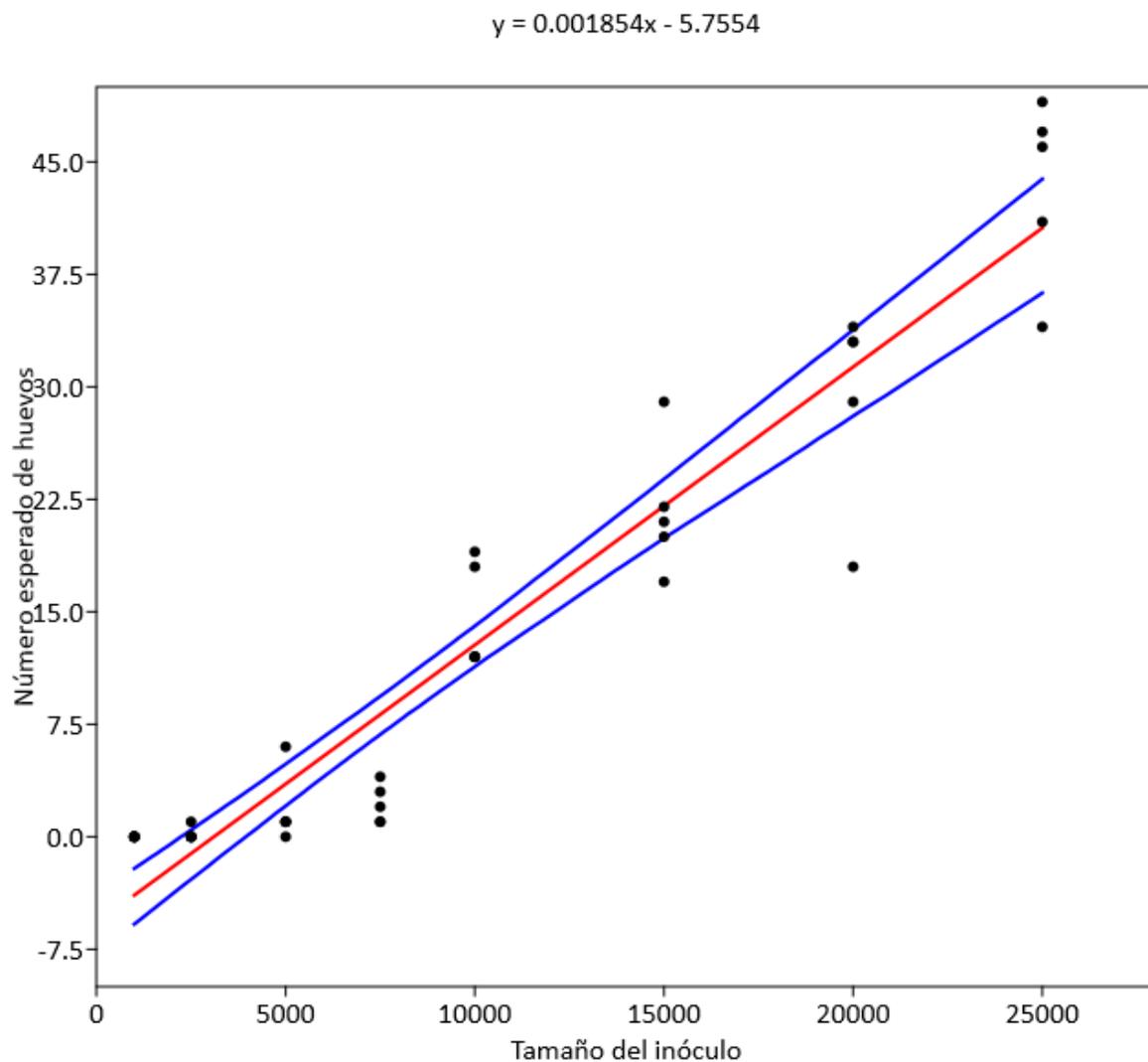


Fig 9. Representación del modelo lineal (regresión lineal y ANOVA) con intervalos de confianza de 95%, para la relación entre la concentración del inóculo de huevos de *A. lumbricoides* y el número de huevos recuperados, para inóculos mayores a 5000.

Hay una correlación lineal positiva entre ambas variables en donde el tamaño del inóculo, a partir de 5000 huevos, explica bien el cambio en el número promedio de huevos observados en dependencia del tamaño del inóculo ( $r^2=0.91$ ,  $p<0.0001$ ). El modelo predictivo se puede escribir como “# de huevos= $0.00185 \cdot$  tamaño del inóculo  $-5.75$ . La variabilidad, como puede apreciarse a partir de los intervalos de confianza del 95% en el modelo, parece aumentar conforme el inóculo es bajo y conforme el inóculo aumenta de tamaño, al menos hasta el inóculo de 25000 huevos en que se realizó el ensayo. Esta variedad podría ser muy alta con cantidades mayores de huevos, pero, a nivel solo de detección de huevos, nunca es cero a partir de los 10000 huevos presentes en la muestra.

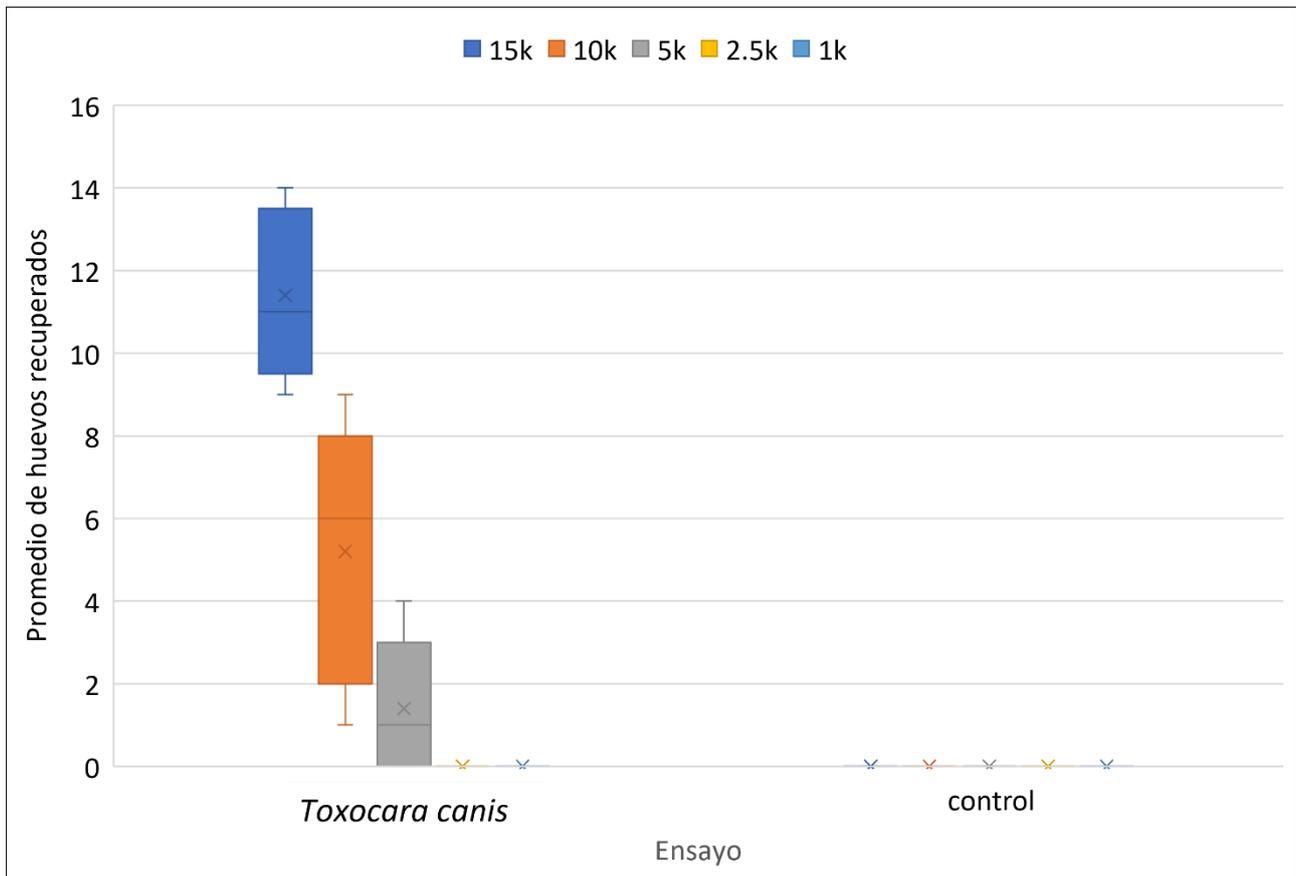


Fig 10. Representación gráfica del promedio de huevos recuperados provenientes de distintos inóculos de *Toxocara canis* mediante el método de Jarozs *et al.*, 2021. Cada color representa un inóculo de distinta concentración de huevecillos, donde K = 1000 huevos.

Para el ensayo con huevos de *T. canis*, el modelo de regresión lineal explica menos la variable “promedio de huevos detectados” que en el caso del modelo ensayado con inóculos de huevos de *Ascaris lumbricoides* ( $R^2=0.77$ ,  $p<0.01$ ), y solo hay diferencias significativas entre los inóculos de 10,000 y 15,000 huevos, sin diferencias significativas entre los 5,000 y 10,000 huevos ( $p=0.06$ ). La variación en la detección cuando se tienen inóculos de 5,000 y 10,000 huevos de *T. canis* es consistente, y en el caso de 5,000 huevos no se diferencia significativamente del control (=0 huevos) ( $p>0.05$ ). Los huevos son consistentemente detectables a partir de una concentración de 10,000.

## 6. Discusión

### 6.1. Análisis descriptivo de las geohelmintiasis en la comunidad de Tanagra, Sixaola en marzo de 2022

La prevalencia de helmintos obtenida en el estudio fue del 54%, siendo mayor en comparación con los datos obtenidos de otros estudios, como el realizado por Solano-Barquero *et al.*, 2018 en la región Central Sur del país. En el último análisis se obtuvo una prevalencia de parásitos patógenos del 2.8% y una prevalencia de helmintos de 0.7%. El inadecuado sistema de desagüe de excretas, el consumo de agua no potable o de pozo, así como tener piso de tierra en las viviendas son factores de riesgo que contribuyen a la infección con geohelmintos y a una alta prevalencia de parasitosis (Vázquez *et al.*, 2018). Concretamente, en la comunidad Tanagra, se mantiene el hábito de la defecación al aire libre en conjunto con una mala disposición de las heces y la mala calidad del agua que beben (Solano Barquero *et al.*, 2018). El agua es obtenida de pozos ubicados en la misma comunidad sin un sistema de saneamiento apropiado. Además, por el tipo de relieve de la comunidad, en época lluviosa tienden a ocurrir inundaciones, lo que podría llevar a que el material ubicado dentro de las letrinas se desborde, llene el pozo y lo contamine con materia fecal.

La mayor prevalencia de las parasitosis por helmintos se presentó en niños menores a 12 años principalmente en aquellos con una edad entre 7 y 9 años. Las parasitosis generalmente afectan en mayor proporción a la población infantil a causa de la poca madurez inmunológica y a los hábitos de higiene menos desarrollados (Echagüe *et al.*, 2015). Los niños además de los factores de riesgo mencionados anteriormente poseen factores de riesgo adicionales como manipular tierra e ingresar sus dedos en la boca sin lavado previo de las manos, completando el ciclo de vida de los geohelmintos (Becerril Flores, 2019). En el año 2005 se realizó un estudio parasitológico en una población de menores de 19 años en Venezuela, donde se obtuvo una prevalencia del 45.7% de parasitosis intestinales, similar al valor obtenido en el presente estudio. Al igual que nuestro análisis, la población infantil de edades entre 5-9 años presentaron un porcentaje de infección del 35.4%. (Devera *et al.*, 2007). Un estudio epidemiológico realizados en India reveló un 9% de prevalencia de geohelmintos especialmente en niños de entre 8-10 años (Parija *et al.*, 2017).

*A. lumbricoides* fue el parásito más frecuente en la comunidad de Tanagra seguido de *T. trichiura*. Estos datos concuerdan con la epidemiología mundial, puesto que son los dos helmintos más prevalentes (Brooker *et al.*, 2006). Ambas especies poseen características que les permite permanecer

viables en el ambiente durante más tiempo y por lo tanto, ser más infectantes. Por ejemplo, los huevos de *A. lumbricoides* son más resistentes a la desecación, el encalado y las altas temperaturas. Además, debido a que su huevo posee tres capas de proteínas, es altamente resistente a varios compuestos químicos como ácidos fuertes, bases fuertes oxidantes y detergentes sintéticos (Blaszkowska *et al.*, 2011). Por último, las hembras de *A. lumbricoides* pueden producir hasta 200,000 huevos por día (Brown & Cort, 1927), lo que contribuye a la dispersión del parásito. La ausencia de otros helmintos como *S. stercoralis* se debe a los huevos de estos parásitos no son excretados por heces, por lo no pueden ser detectados en esta matriz.

### **6.2.1. Presencia de huevos en muestras de suelo obtenidas en cada sector**

Se detectaron huevos de geohelmintos en un 28% de las cuadrículas analizadas. De los tres grupos de geohelmintos de mayor importancia médica humana y animal, *A. lumbricoides* fue la especie más detectada en suelo seguido de especies de la familia Taeniidae y por último *T. canis*. Además, se observaron huevos del género *Parascaris*, un ascarídeo parásito de caballos.

Ahora bien, *T. trichiura* fue el segundo geohelminto más prevalente en la comunidad, sin embargo, no se observó ningún huevo en las muestras de tierra. Esto podría atribuirse a las condiciones ambientales o a características asociados a su ciclo biológico. El potencial reproductivo de *T. trichiura* es significativamente menor en relación con el de *A. lumbricoides*, ya que las hembras de la primera especie producen entre 3,000-5,000 huevos por día y la segunda especie produce 200,000 huevos por hembra por día (Bethony *et al.*, 2006), por lo que la probabilidad de recuperar los primeros es menor. Los huevos de los geohelmintos pueden permanecer viables e íntegros por algunos meses (Brooker *et al.*, 2006), por lo que existe la posibilidad que ya hubieran sido degradados considerando el tiempo que pasó.

La prevalencia de las uncinarias en la comunidad fue apenas notable, lo cual correlaciona con no haber observado ningún huevo en suelo. Además, la probabilidad de observar un huevo de uncinarias en suelo es baja debido a que los mismos eclosionan entre 24 y 48 horas después de su estancia en suelo (Becerril Flores, 2019). Por ende, existe una alta probabilidad de que para la fecha de análisis de las muestras dichos huevos ya no estaban presentes.

Los huevecillos de algunas especies pudieron haberse degradado en el tiempo transcurrido entre la colecta de la muestra del suelo y su análisis en el laboratorio. Existen estudios en donde se analizan las interacciones de huevos de un geohelmintos con especies fúngicas saprofitas, en donde se ha

demostrado que en presencia de micelio ocurre un retraso en el desarrollo embrionario de los huevos, además de la producción de cambios morfológicos. Asimismo, se ha visto que en presencia de las especies *Aspergillus terreus*, *Penicillium expansum* y *Fusarium oxysporum* hay una inhibición completa de la actividad del huevo (Błaszowska *et al.*, 2013).

En el estudio realizado por Jaroz *et al.* 2021, de las 40 muestras analizadas mediante microscopía para la identificación de *Toxocara* sp., se observaron huevos de *T. canis* en un 10% de las muestras. En otro estudio se realiza la detección de los huevos de *A. lumbricoides*, se ejecutan pruebas y experimentos para determinar las condiciones óptimas que permiten un mayor porcentaje de recuperación de huevos. Al comparar estas especificaciones con los utilizados en este trabajo existen múltiples diferencias, se utiliza como surfactante la solución de limpieza 7X al 1% en lugar de NaOH, se reduce el tiempo de asentamiento a 30 minutos y se reduce el volumen de muestra utilizado, además se realizan dos protocolos de flotación de 5 minutos cada uno en lugar de uno solo de 10 minutos. Al realizar estos cambios, en el estudio en cuestión se obtuvieron porcentajes de recuperación del 73% (Steinbaum *et al.*, 2017), el cual es significativamente más elevado en comparación con el obtenido. La diferencia de detección entre ambas metodologías puede explicarse a una mayor contaminación en los suelos analizados por Steinbaum *et al.* que en el de Tanagra, o una mayor eficiencia del método del método de Steinbaum *et al.*

### **6.2.2. Relación entre los datos de geohelmintiasis en la población y presencia de huevos en el suelo**

La figura 7 mapea los datos obtenidos de muestras de suelo en conjunto con los datos de las muestras de heces, se refleja que solo en unos pocos puntos hay concordancia entre los casos positivos detectados en muestras de heces en relación con los datos positivos por huevos en las muestras de tierra. Hay pocos resultados positivos por muestras de suelos en comparación con los resultados que fueron obtenidos en las muestras de heces. Los resultados de los análisis geoespaciales confirman que no hay una relación estadísticamente significativa entre la positividad por geohelminthos en el suelo y la positividad por geohelminthos en las muestras de heces de las personas de acuerdo a la metodología aplicada para detectar esos huevos en el suelo. La baja recuperación de huevos en este estudio puede deberse al bajo límite de detección que presenta el método, ya que el mismo detectó de manera confiable muestras con una alta carga parasitaria y muestras con menos de 5,000 huevos/40g no fueron detectadas. Probablemente estos resultados se atribuyen a las limitaciones del método y en las condiciones en las que se desarrolló el estudio.

El primer factor para considerar es la época en que se realizó el muestreo de los suelos. El muestreo de suelos fue realizado el 5 de marzo del 2022, mes en el que el país normalmente se encuentra en época seca por tres meses aproximadamente. Para el desarrollo de los estadios larvales dentro de los huevos de los geohelminos, se deben tener condiciones específicas, dentro de las importantes bajo este contexto se encuentran: humedad, temperatura adecuada y localizaciones sombreadas. Al realizarse el muestreo en una época donde las lluvias ya eran ausentes y las temperaturas muy elevadas, la humedad de la zona era inferior al promedio y la temperatura era demasiado elevada. Estos factores pueden alterar la detección de los huevos en la matriz, sumado a que, debido a la estructura de la comunidad, la mayoría de las zonas donde se tomaron las muestras tenían contacto directo con la luz solar, por lo que la temperatura alcanzada era más elevada, y con esto se produce la desecación de los huevos. Se dice que en regiones con temperaturas de la superficie terrestre superiores a los 38-40 °C, se posee una prevalencia menor de *A.lumbricoides* y *T.trichiura* (Brooker *et al.*, 2006).

Para un futuro estudio de detección de huevos de geohelminos se recomienda realizar un diseño experimental más representativo, donde se tomen muestras de suelo y heces de cada casa, de manera que permita comparar de forma más robusta los resultados obtenidos en ambas muestras. De igual forma es preferible hacer el muestreo en época lluviosa en donde las condiciones son ideales para el desarrollo y esparcimiento de los huevos. Con relación a la técnica utilizada, se podrían realizar pruebas con concentraciones de huevos para la determinación de las mejores condiciones para la obtención de un método de extracción y recuperación mejorado y optimizado, como se hizo en el estudio de Steinbaum *et al.*, 2017.

### **6.2.3. Sobre la capacidad de la técnica para detectar huevos de geohelminos en muestras de suelo y cómo esta afecta la interpretación de los resultados de este estudio**

La detección de geohelminos a partir de muestras de suelos por microscopía es barato y pueden funcionar como un tamizaje, no obstante, es calificada como una técnica laboriosa, lenta y con sensibilidad cuestionable. Este tipo de técnicas pueden presentar una alta variabilidad debido a los pasos de sedimentación y flotación (Amoah *et al.*, 2017). Además, un transporte o almacenamiento inadecuado de la muestra puede llevar a la lisis del parásito o a la alteración de su morfología clásica (Khurana *et al.*, 2021). Sin embargo, en el estudio de Steinbaum *et al.*, 2017 anteriormente mencionado, se pudo contrarrestar dicha variabilidad mediante la optimización de la técnica utilizando condiciones específicas en donde se consiguen mejores resultados.

El método empleado presentaba algunas limitaciones que pudieron afectar. En el procedimiento cuando se separa la muestra de suelo en dos tubos de 50 mL de manera equitativa, se observa una cantidad de muestra muy gruesa en el tubo, por lo que, al realizar la flotación, se presume que los huevos quedan atrapados en la matriz sin posibilidad de flotar. En la evaluación de la detección de la técnica se obtuvieron resultados que señalan una baja precisión en la técnica. Para inóculos menores a 5000 huevos, el método no logra detectarlos de manera consistente ya que no existe una relación lineal entre la concentración del inóculo con la recuperación. Esto sugiere que el método no es funcional para estudios sobre el suelo como factor de riesgo de infección por estos geohelminos en humanos, ya que un solo huevo viable podría causar infección, por ende, el inóculo necesario es menor. El método para ser usado en análisis de riesgo ambiental para transmisión de geohelminos no sería adecuado, se obtendría resultados falsamente disminuidos por problemas en la capacidad de recuperación.

Como una alternativa más reciente al análisis microscópico se tienen los métodos moleculares. Estos pueden ser útiles en diversas matrices (agua, suelo) para una detección y cuantificación rápida, precisa, específica y sensible del material genético de los huevos de geohelminos. Como principal inconveniente del buen funcionamiento de las técnicas moleculares es el proceso de extracción de ADN, debido a que el suelo es una matriz muy compleja (Khurana *et al.*, 2021) y la calidad de la muestra puede afectar en la integridad del ADN presente. Además, los huevos de los geohelminos tienen capas resistentes a agentes físicos y químicos, por lo que obtener una cantidad y calidad adecuada de ADN es difícil. La mayoría de los métodos de extracción de suelo son kits comerciales que utilizan una proteinasa para la lisis del huevo, ya que de esta forma se obtienen cantidades superiores de ADN. A pesar las limitaciones asociadas, son métodos más sensibles en la detección de baja cantidad de huevos en comparación con la microscopia y presentan mayor especificidad en la detección de especies (Amoah *et al.*, 2017).

## 7. Conclusiones

1. La comunidad de Tanagra ubicada en Sixaola presenta una alta frecuencia de geohelmintiasis con un mayor foco en niños de entre 7 y 9 años.
2. El geohelminto con mayor porcentaje de aislamientos en muestras de suelo fue *A. lumbricoides*, lo cual es concordante con los resultados obtenidos en las muestras de heces.
3. La baja sensibilidad para la detección de huevos de geohelminos en muestras de suelo fue una limitante importante para el estudio.
4. Es importante analizar con más detalle otras variables que pueden afectar el desempeño de esta y otras metodologías que se han desarrollado para la detección de huevos de geohelminos en muestras ambientales, utilizando pruebas moleculares más sensibles y así determinar la capacidad de estas metodologías y la influencia de otras variables en su desempeño.

## Bibliografía

- Alfaro, B., Blanco, H., Blanco-Rigoberto, Carballo, J., & Cabezas, E. (2003). *100 años de Salud- Costa Rica*. <https://www.bvs.sa.cr/php/situacion/100salud.pdf>
- Amoah, I. D., Reddy, P., Seidu, R., & Stenström, T. A. (2018). Concentration of soil-transmitted helminth eggs in sludge from South Africa and Senegal: A probabilistic estimation of infection risks associated with agricultural application. *Journal of Environmental Management*, *206*, 1020–1027. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.003>
- Amoah, I. D., Singh, G., Stenström, T. A., & Reddy, P. (2017). Detection and quantification of soil-transmitted helminths in environmental samples: A review of current state-of-the-art and future perspectives. *Acta Tropica*, *169*, 187–201. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.02.014>
- Becerril Flores, M. A. (2019). *Parasitología médica* (5th ed.). McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.
- Bethony, J., Brooker, S., Albonico, M., Geiger, S. M., Loukas, A., Diemert, D., & Hotez, P. J. (2006). Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*, *367*(9521), 1521–1532. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68653-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68653-4)
- Blaszkowska, J., Kurnatowski, P., & Damięcka, P. (2011). Contamination of the soil by eggs of geohelminths in rural areas of Lodz district (Poland). *Helminthologia*, *48*(2), 67–76. <https://doi.org/10.2478/s11687-011-0012-8>
- Blaszkowska, Joanna, Wojcik, A., Kurnatowski, P., & Szwabe, K. (2013). Biological interactions between soil saprotrophic fungi and *Ascaris suum* eggs. *Veterinary Parasitology*, *196*(3–4), 401–408. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.02.029>
- Brooker, S., Clements, A. C. A., & Bundy, D. A. P. (2006). Global Epidemiology, Ecology and Control of Soil-Transmitted Helminth Infections. *Advances in Parasitology*, *62*(05), 221–261. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)62007-6](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)62007-6)
- Brown, H. W., & Cort, W. W. (1927). The Egg Production of *Ascaris lumbricoides*. *The Journal of Parasitology*, *14*(2), 88–90.
- Bystrianska, J., Papajová, I., Šoltys, J., & Sasáková, N. (2019). Contamination of Sandpits with Soil-Transmitted Helminths Eggs in an Urban Environment. *Folia Veterinaria*, *63*(1), 60–63. <https://doi.org/10.2478/fv-2019-0009>

Calderón, O. (2018). *Parasitología general: elementos y actividades* (2nd ed.). Editorial UCR.

Celis, A. F., & Martínez, Y. D. (2017). Comportamiento Parasitario, En Niños Menores De 5 Años Del Hogar Carrusel De Mis Sueños En El Segundo Periodo Del 2017. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).

Chifunda, K., & Kelly, P. (2019). Parasitic infections of the gut in children. *Paediatrics and International Child Health*, 39(1), 65–72. <https://doi.org/10.1080/20469047.2018.1479055>

Devera, R., Ortega, N., & Suárez, M. (2007). Parásitos intestinales en la población del Instituto Nacional del Menor, Ciudad Bolívar, Venezuela TT - Intestinal parasites in population of Instituto Nacional del Menor, Ciudad Bolívar, Venezuela. *Rev. Soc. Venez. Microbiol*, 27(1), 349–363. [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562007000100008](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562007000100008)

Echagüe, G., Sosa, L., Díaz, V., Ruiz, I., Rivas, L., Granado, D., Funes, P., Zenteno, J., Pistilli, N., & Ramírez, M. (2015). Enteroparasitosis en niños bajo 5 años de edad, indígenas y no indígenas, de comunidades rurales del Paraguay. *Revista Chilena de Infectología*, 32(6), 649–657. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000700006>

Freeman, M. C., Akogun, O., Belizario, V., Brooker, S. J., Gyorkos, T. W., Imtiaz, R., Krolewiecki, A., Lee, S., Matendechero, S. H., Pullan, R. L., & Utzinger, J. (2019). Challenges and opportunities for control and elimination of soil-transmitted helminth infection beyond 2020. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(4), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007201>

García, R., Tacsan, L., Ascencio, M., Sancho, A. E., Rodríguez, S., Cunningham, L., Alfaro, T., Chavarría, P., Calvo, N., Climent, R., Herrera, A., Rojas, J. M., Carvajal, V., Sánchez, M., Argüello, G., Medrano, D. L., & Lee, L. S. (2013). *ENCUESTA NACIONAL DE NUTRICIÓN 2008 - 2009*.

Jarosz, W., Durant, J. F., Ireng, L. M. W. B., Fogt-Wyrwas, R., Mizgajska-Wiktor, H., & Gala, J. L. (2021). Optimized DNA-based identification of *Toxocara* spp. eggs in soil and sand samples. *Parasites and Vectors*, 14(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04904-1>

Khurana, S., Singh, S., & Mewara, A. (2021). Diagnostic Techniques for Soil-Transmitted Helminths – Recent Advances. *Research and Reports in Tropical Medicine, Volume 12*, 181–196. <https://doi.org/10.2147/rrtm.s278140>

Mata, L., Pardo, V., Hernández, F., Albertazzi, C., Vizconti, M., Mata, A., Fernandez, R., Niniez, E., & Vizcaino, M. (1985). *CAMBIOS EN LA PREVALENCIA DE HELMINTOS INTESTINALES EN COSTA RICA, 1966-1982. 1*, 208–221.

- Mizgajska-Wiktor, H. (2005). Recommended method for recovery of *Toxocara* and other geohelminth eggs from soil. *Wiadomości Parazytologiczne*, 51(1), 21–22.
- OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. (s.f). *Geohelminthiasis*.  
<https://www.paho.org/es/temas/geohelminthiasis>
- Organización Panamericana de la Salud. (1932). Crónicas: Helminthiasis y protozoosis. *Boletín de La Oficina Sanitaria Panamericana*, 11, 159–175.
- Parija, S. C., Chidambaram, M., & Mandal, J. (2017). Epidemiology and clinical features of soil-transmitted helminths. *Tropical parasitology*, 7(2), 81
- Solano, A., & León, D. (2018). Parasitosis debidas a helmintos intestinales: una actualización sobre su abordaje y tratamiento farmacológico en Costa Rica. *Rev. Colegio de Microb. Quim. Clin. de Costa Rica*, 24, 24.
- Solano Barquero, M., Salguero, A. M., Alán, D. L., Ulloa, C. S., Mora, A. M., & Lizano, L. R. (2018). Prevalencia de parasitosis en niños de 1 a 7 años en condición de vulnerabilidad en la Región Central Sur de Costa Rica. *Acta Médica Costarricense*, 60(2), 19–29.  
<https://doi.org/10.51481/amc.v60i2.999>
- Steinbaum, L., Kwong, L. H., Ercumen, A., Negash, M. S., Lovely, A. J., Njenga, S. M., Boehm, A. B., Pickering, A. J., & Nelson, K. L. (2017). Detecting and enumerating soil-transmitted helminth eggs in soil: New method development and results from field testing in Kenya and Bangladesh. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(4), 1–15.
- Umhang, G., Bastien, M., Renault, C., Faisse, M., Caillot, C., Boucher, J. M., Hormaz, V., Poulle, M. L., & Boué, F. (2017). A flotation/sieving method to detect *Echinococcus multilocularis* and *Toxocara* spp. eggs in soil by real-time PCR. *Parasite*, 24.  
<https://doi.org/10.1051/parasite/2017029>
- Vázquez, F. A., Ramírez, D. R., Echague, G., Sosa, L., Cabello, M. Á., Samudio, M., Luciañez, A., & Assis, D. M. de. (2018). Prevalencia e intensidad de infección por geohelminthos, caracterizando los factores socio culturales y ambientales que inciden en la infección de escolares, Paraguay, 2015. *Revista Chilena de Infectología*, 35(5), 501–508. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000500501>