

# Rendimiento diagnóstico de la prueba rápida fasciorap basada en la técnica de inmunocromatografía o flujo lateral para la detección de anticuerpos en pacientes con Fasciolosis humana

Diagnostic performance of the rapid fasciorap test based on the immunochromatography or lateral flow technique for the detection of antibodies in patients with human fasciolosis

Kelly Roxana Davelois Atac<sup>1</sup>, Cesar Augusto Jara Campos<sup>1</sup>, Andrea Victoria Coronado Figarella<sup>1</sup>, Omar Julio Escalante Gavidia<sup>1</sup>, Hermes Mario Escalante Añorga<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ESCACORP SAC. Trujillo, Perú.

Recibido: 01/06/2022 - Aprobado: 27/06/2022

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el rendimiento diagnóstico de la técnica de inmunocromatografía o flujo lateral para la detección de anticuerpos en pacientes con Fasciolosis humana. **Materiales y métodos:** Estudio observacional, prospectivo y de corte transversal. Hemos desarrollado una prueba de flujo lateral (Fasciorap) para el diagnóstico serológico de las Fasciolosis humana por *Fasciola hepatica*, compuesta por antígenos de excreción-secreción de formas adultas conjugadas con orocoloidal de 40 nm y una proteína A e IgG de conejo anti *Fasciola hepatica* como reactivos detectores en la línea de prueba y control, flanqueados por almohadillas en un cassette. Se evaluaron 240 sueros, 120 positivos, 50 sueros de pacientes con otras parasitosis, 20 de pacientes con enfermedades infecciosas y 50 sueros de personas no parasitadas, la interpretación de resultados se realizó por inspección visual a los 15 minutos de aplicada las muestras. **Resultados:** La prueba detectó la presencia de anticuerpos en el suero de pacientes con fasciolosis, alcanzando una sensibilidad de 92,5%, una especificidad de 94,17%, un valor predictivo positivo de 94,07% y negativo de 92,62%; con 100% de concordancia en la repetibilidad y reproducibilidad. **Conclusiones:** Fasciorap detecta casos de fasciolosis, por lo tanto, es una potencial prueba diagnóstica en zonas endémicas donde se requiere pruebas de punto de atención

**Palabras clave:** *Fasciola hepatica*; Antígenos; Oro coloidal; Sensibilidad y especificidad (fuente: DeCS BIREME).

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the diagnostic performance of the immunochromatography technique or lateral flow for the detection of antibodies in patients with human fasciolosis. **Materials and methods:** Observational, prospective and cross-sectional study. We have developed a lateral flow test (Fasciorap) for the serological diagnosis of fasciolosis due to *F. hepatica*, composed of excretion-secretion antigens of adult forms conjugated with orocolloid of 40 nm and a protein A and IgG of rabbit anti *F. hepatica* as detector reagents in the test and control line, flanked by pads in a cassette. 240 sera were evaluated, 120 positive, 50 sera from patients with other parasites, 20 from patients with infectious diseases and 50 sera from non-parasitized people, the interpretation of results was performed by visual inspection 15 minutes after applying the samples. **Results:** The test detected the presence of antibodies in the serum of patients with fasciolosis, reaching a sensitivity of 92.5%, a specificity of 94.17%, a positive predictive value of 94.07% and a negative predictive value of 92.62%; with 100% agreement on repeatability and reproducibility. **Conclusions:** Fasciorap detects cases of fascioliasis, therefore, it is a potential diagnostic test in endemic areas where point-of-care testing is required

**Keywords:** *Fasciola hepatica*; Antigens; Gold colloid; Sensitivity and specificity (source: MeSH NLM).

## INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una enfermedad zoonótica importante causada por los parásitos *Fasciola hepatica* y *F. gigantica*. Siendo *F. hepatica* la causante de las altas prevalencias en América Latina, África, Oceanía, Europa y Asia, tanto en humanos como en animales<sup>(1)</sup>.

La fasciolosis constituye en la actualidad un problema importante de salud pública, considerada una enfermedad tropical desatendida a nivel mundial por la OMS, por su distribución y su potencial patogenicidad extrema con estimaciones de infección que llega a afectar entre 2,4 y 17 millones de personas en el mundo y más de 180 millones pueden estar en

Citar como: Davelois Atac KR, Jara Campos CA, Coronado Figarella AV, Escalante Gavidia OJ, Escalante Añorga HM. Rendimiento diagnóstico de la prueba rápida fasciorap basada en la técnica de inmunocromatografía o flujo lateral para la detección de anticuerpos en pacientes con Fasciolosis humana. Rev Gastroenterol Peru. 2022;42(2):92-8. doi: 10.47892/rgp.2022.422.1374

riesgo<sup>(2)</sup>. Los informes de prevalencia indican que esta enfermedad está latente y en proceso de expansión debido al cambio climático, el calentamiento global, las modificaciones antropogénicas del medio ambiente, el aumento de los viajes de corta y larga distancia y las instalaciones de importación/exportación, llegando hasta un 71,4% en zonas endémicas<sup>(3)</sup>. Sin embargo, la verdadera prevalencia puede ser mayor porque la mayoría de los casos en las zonas endémicas permanecen sin diagnosticar.

En Latinoamérica, la distribución de casos se ubica en zonas de la región andina de Perú, Bolivia, Ecuador, Colombia, Venezuela y Argentina<sup>(2)</sup>. En el Perú es un gran problema de salud con reportes de prevalencia entre 6,3 y 62%<sup>(4)</sup>, se estima que puede haber hasta 742 000 personas afectadas con reportes de casos en 18 de las 24 regiones del país, siendo las de mayor prevalencia Junín, Puno, Cajamarca, Cusco y Arequipa<sup>(5)</sup>.

La magnitud del impacto de la fasciolosis en las comunidades de áreas endémicas está dirigida principalmente a niños y mujeres, con una patogenidad considerada hasta hace poco solo a la fase aguda, pero recientemente se ha demostrado ser un problema de salud durante una fase crónica muy larga<sup>(3)</sup>. En la actualidad, la prevalencia no ha disminuido y está en peligro de expansión, no obstante, la carga de la enfermedad es subestimada debido a la escasa sensibilidad de las pruebas de diagnóstico, limitados datos epidemiológicos disponibles y una mala comprensión del impacto de la enfermedad subclínica. Todos pueden ser infectados por *F. hepatica* produciendo anemia, afecciones neurológicas y oftalmológicas, pérdida de peso y daño hepático; además, del riesgo de reinfección en zonas hiperendémicas y la cronicidad está presente en los infectados debido a la enorme longevidad de la fasciola en humanos (hasta 13,5 años)<sup>(6,7)</sup>. Por ello, El Gobierno Peruano está realizando iniciativas para abordar el problema de la fasciolosis, a través de la Resolución 266-2019/Minsa, ha aprobado la Norma NTS 148-MINSA/2019/DG/ESP.

El diagnóstico de la fasciolosis por métodos sensibles y específicos es una etapa clave para el tratamiento de pacientes sospechosos. Clínicamente, el diagnóstico es difícil porque los síntomas son diversos y se asemejan a los de una variedad de otras enfermedades. El método de diagnóstico coprológico convencional se utiliza como estándar de oro para la Fasciolosis humana. Sin embargo, este método no suele ser confiable y carece de sensibilidad y reproducibilidad porque los huevos no se pueden detectar durante el período inicial de la infección solo cuando ya se ha producido daño hepático por trematodos inmaduros. Mientras que los anticuerpos pueden detectarse después de 2 a 7 semanas después de la infección, es por ello, que las

pruebas serológicas pueden desempeñar un papel clave en el diagnóstico de fasciolosis humana aguda cuando los huevos aún no son obvios en las heces<sup>(2)</sup>.

Las pruebas serológicas más utilizadas en el diagnóstico de la fasciolosis humana son la de Elisa y Western blot; sin embargo, estas técnicas usualmente requieren de equipamiento, procesos complicados y personal capacitado, por lo que es difícil su aplicación en zonas endémicas alejadas del país, donde se requiere una rápida detección de anticuerpos in situ. Esta es una fortaleza de las pruebas rápidas por la técnica de inmunocromatografía o flujo lateral (LFIA), considerados los biosensores más simples y más utilizados para la detección analítica<sup>(8)</sup> y ya se vienen usando en el diagnóstico de algunas parasitosis como Chagas<sup>(9)</sup>, hidatidosis<sup>(10)</sup>, esquistosomiasis<sup>(11)</sup>, malaria y dengue<sup>(12)</sup>.

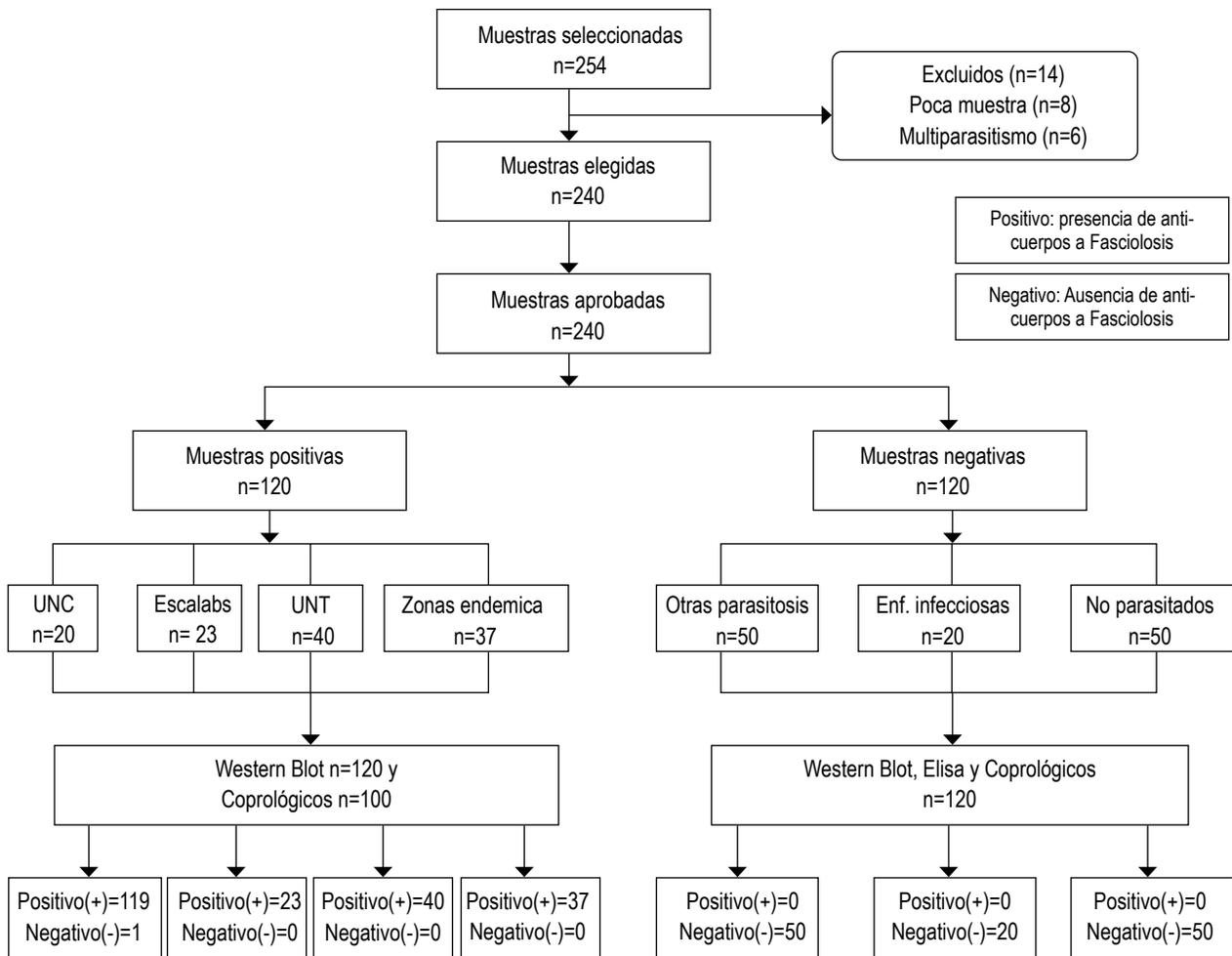
Siendo la fasciolosis una de las enfermedades tropicales desatendidas incluidas en el Plan de Control 2021-2030<sup>(13)</sup>, es necesario mejorar su diagnóstico. Por ello, se busca desarrollar una prueba basada en flujo lateral que por su simplicidad beneficie la gestión de control de enfermedad en diferentes áreas endémicas, para el manejo adecuado de casos y un tratamiento oportuno en zonas de alta endemicidad.

El objetivo del presente estudio fue estimar el rendimiento diagnóstico de la prueba de inmunocromatografía o flujo lateral (Fasciorap) para la detección de anticuerpos en pacientes con Fasciolosis humana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, prospectivo y de corte transversal. Un total de 254 muestras de sueros humanos fueron seleccionadas para la elegibilidad del estudio, cuyas edades están entre 4 y 50 años, ambos sexos y sin tratamiento previo, del total de muestras, se excluyeron 14, ocho por contener muy poco volumen y luego en la evaluación se excluyó a seis por presentar multiparasitismo (Figura 1, diagrama de flujo de muestras participantes en el estudio por STARD).

Se evaluaron 240 muestras, siendo 120 sueros positivos y 120 negativos a fasciolosis obtenidos entre los años 2019 y 2020, las cuales fueron seleccionadas por conveniencia y proporcionadas por la seroteca de la Universidad Nacional de Trujillo, Universidad Nacional de Cajamarca, Laboratorio Escalabs y por participantes del estudio de las ciudades de Combayo en Cajamarca y Pachacayo en Jauja, tomadas con el apoyo de Centro de salud a aquellos que accedieron al examen, llegando al centro voluntariamente y firmando un consentimiento informado.

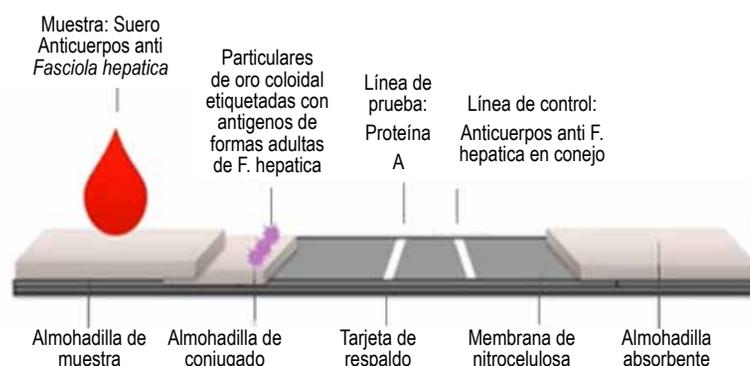


**Figura 1.** Diagrama de flujo de muestras positivas y negativas incorporadas en el estudio.

Las muestras obtenidas se confirmaron por la técnica de sedimentación rápida descrita por Maco <sup>(14)</sup>, y la prueba serológica Western blot descrita por Escalante <sup>(15)</sup>.

Se desarrolló una prueba rápida que permite el diagnóstico serológico cualitativo de la Fasciolosis humana (Fasciorap) mediante la técnica de flujo lateral cuyo diseño incluye una membrana de nitrocelulosa con una línea de prueba que contiene proteína A y

una línea control con anticuerpos anti *F. hepatica*, flanqueada en un extremo por una almohadilla de muestra y una almohadilla de conjugado formado por antígenos de excreción-secreción de formas adulta del parásito con oro coloidal de 40 nm y por el otro extremo una almohadilla absorbente, todos sobre un respaldo de plástico ensambladas en un cassette de polipropileno (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema de la prueba rápida Fasciorap.



**Figura 3.** Resultados del análisis con la prueba rápida Fasciorap: Positivo (+) y Negativo (-).

La prueba se realizó agregando 10 uL de suero sobre la almohadilla de la muestra con 70 uL de buffer de muestra; la interpretación de los resultados se realizó por inspección visual a los 15 min de aplicada la muestra. La aparición de dos líneas rojas en las zonas de prueba y control indican una reacción positiva y una sola en la línea control indica reacción negativa (Figura 3).

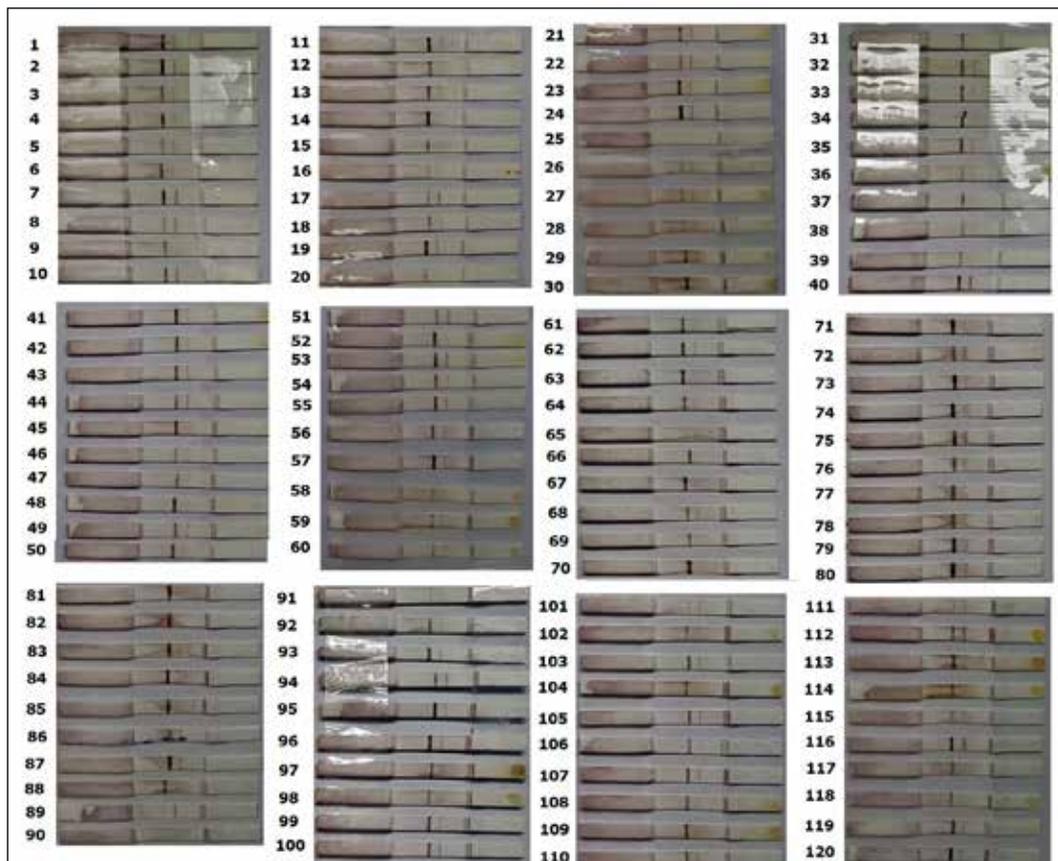
El rendimiento diagnóstico de la prueba fue evaluado con los siguientes parámetros: sensibilidad, especificidad, valores predictivos, razones de verosimilitud (LR), índice de validez, prevalencia, índice

de Youden y Kappa considerando un nivel de confianza de 95%. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa Epidat v3.1 y Excell. Para determinar la repetibilidad se evaluaron seis sueros por un mismo analista, repitiendo tres veces en tres días diferentes y la reproducibilidad fue evaluada por tres analistas en tres repeticiones, pertenecientes a diferentes laboratorios de la empresa bajo sus condiciones.

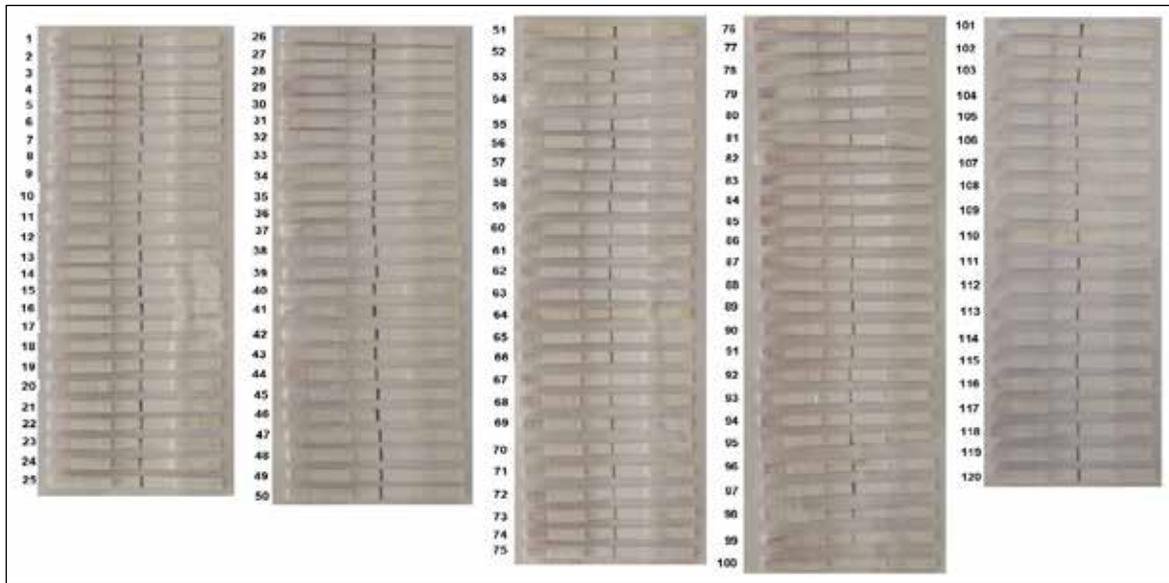
Este estudio fue aprobado por Comité Institucional de Ética en Investigación (acta de reunión N° 004 reúne las consideraciones éticas establecidas en el Reglamento del Comité de Ética en Investigación de la Universidad Nacional de Trujillo por RCU N° 268-2012/UNT). Realizado de acuerdo con los estándares para la presentación de informes de estudios de precisión diagnóstica (STARD)<sup>(16)</sup> y las muestras fueron obtenidos bajo procedimientos de consentimiento informado y procesados en condiciones de completa anonimización.

## RESULTADOS

De los 120 sueros positivos a fasciolosis por la prueba rápida, 111 dieron reacción positiva y nueve salieron negativos (Figura 4). De los 120 sueros negativos, 113



**Figura 4.** Patrón de reactividad de la prueba Fasciorap con sueros positivos a *Fasciolosis humana*.



**Figura 5.** Patrón de reactividad de la prueba Fasciorap con sueros positivos a otras parasitosis a otras parasitosis, enfermedades infecciosas y sin presencia de huevos y anticuerpos a *F. hepatica*.

dieron reacción negativa y siete reacción positiva (Figura 5).

La sensibilidad de la prueba Fasciorap para detectar anticuerpos anti *F. hepatica* fue de 92,50% (IC95%: 87,37-97,63%), una especificidad del 94,17% (IC95%: 89,56-98,78%). El valor predictivo positivo fue de 94,07% (IC95%: 89,38-98,75%), valor predictivo negativo 92,62% (IC95%: 87,57-97,67%), razón de verosimilitud positiva 15,86 (IC95%: 7,71-32,60) y razón de verosimilitud negativa (LR-) de 0,08 (IC95%: 0,04-0,15), índice de validez 93,33%, prevalencia 50% e índice de Youden 0,87 (Tabla 1).

La repetibilidad y reproducibilidad fue del 100%, encontrando los mismos resultados en las diferentes evaluaciones.

**Tabla 1.** Sensibilidad, especificidad, valores predictivos, razón de verosimilitud, índice de validez, prevalencia e índice de Youden de la prueba de rápida por flujo lateral para la detección de anticuerpos en pacientes con *Fasciolosis humana*.

	Valor (IC 95%)
Sensibilidad (%)	92,50 (87,37 - 97,63)
Especificidad (%)	94,17 (89,56 - 98,78)
Índice de validez (%)	93,33 (89,97 - 96,70)
Valor predictivo + (%)	94,07 (89,38 - 98,75)
Valor predictivo - (%)	92,62 (87,57 - 97,67)
Prevalencia (%)	50,00 (43,47 - 56,53)
Índice de Youden	0,87 (0,80 - 0,93)
Razón de verosimilitud +	15,86 (7,71 - 32,60)
Razón de verosimilitud -	0,08 (0,04 - 0,15)

Los resultados demostraron que Fasciorap presenta una concordancia sustancial ( $k = 0,867$ ) con los resultados obtenidos con la técnica de Western blot.

## DISCUSIÓN

Este estudio observacional, prospectivo y de corte transversal tuvo como objetivo evaluar el rendimiento diagnóstico de la prueba rápida Fasciorap diseñada para detectar anticuerpo IgG contra *F. hepatica*, a partir de muestras de suero humano.

Los resultados mostraron una sensibilidad de la prueba rápida igual al Western blot, pudo deberse a que se usó el mismo antígeno de E/S de *F. hepatica*, o al uso de la Proteína A en la línea de prueba que tiene la capacidad de unirse en forma específica al fragmento Fc de las IgG y ninguna o muy baja por las IgM, similar acción realizada por el conjugado enzimático en el Western blot. Aunque se conoce que las pruebas rápidas a menudo son menos sensibles que las pruebas de Elisa o Western blot, el uso de estos antígenos proporciona esa sensibilidad ya que son una mezcla de moléculas proteicas como catepsina L cisteína proteasas en > 80% o del glutatión S-transferasa secretadas tanto por los parásitos inmaduros y maduros responsables de evocar una respuesta de anticuerpos potente y duradera<sup>(17)</sup>. Los falsos negativos encontrados podrían deberse a una baja intensidad de infección, ya que los sujetos humanos que viven en áreas endémicas a menudo podrían ingerir dosis bajas de metacercarias, y una dosis de infección tan baja podría afectar el desarrollo de niveles detectables de anticuerpos contra un antígeno en particular<sup>(18)</sup>.

Mientras que la especificidad encontrada nos indica que hay reacciones cruzadas con sueros positivos a cisticercosis, hidatidosis e himenolepiosis, no podemos afirmar que sean verdaderos seropositivos porque desconocemos si las muestras proporcionadas no contengan anticuerpos a *F. hepatica* debido a la existencia de multiparasitismo en el Perú; sin embargo, también es muy posible que estos sueros sean verdaderas reacciones cruzadas debido a la existencia de epítomos comunes entre *F. hepatica* y proteínas de otros parásitos. La reactividad cruzada entre antígenos de helmintos es común debido a que existe una gran cantidad de proteínas que se conservan durante la evolución y comparten epítomos comunes y también porque usamos el antígeno total a pesar de ser purificado por diversas técnicas aún pudiese conservar proteínas homologas; mientras que en el Western blot solo se diagnosticó en base a las dos bandas específicas de 23 y 17 KDa; similares resultados se reportaron en otras investigaciones <sup>(2,18,19)</sup>.

La mayoría de los kits serológicos comerciales disponibles, se basan en productos excretorios/secretorios (E/S) como antígeno. Este antígeno complejo ha demostrado una alta sensibilidad para el diagnóstico de infección, sin embargo, a menudo presenta una menor especificidad debido a los diversos niveles de reactividad cruzada entre los antígenos comunes de *F. hepatica* en otros helmintos. Además, la falta de un método estándar eficiente para la preparación del antígeno E/S con una calidad constante conduce a la variabilidad inter ensayo de las pruebas serológicas. Un paso adelante para mejorar las pruebas de detección es sustituir los antígenos nativos por proteínas recombinantes, proceso limitado actualmente por su alto costo <sup>(20)</sup>.

Los altos valores predictivos encontrados proporcionan la seguridad de que un resultado de la prueba tiene una alta probabilidad de que un individuo con un resultado positivo, sea efectivamente un enfermo; como también la probabilidad de que un individuo con un resultado negativo esté efectivamente libre de la enfermedad. Así como, con el índice de validez que le otorga una alta proporción de individuos clasificados correctamente, la razón de verosimilitud refleja que la RV+ es sustancialmente mayor que la RV-, lo que le confiere probabilidad elevada de que el individuo tenga la enfermedad, con una razón de verosimilitud negativa menor de 1 disminuirá la probabilidad de que el individuo tenga la enfermedad en estudio; por lo que según el estudio de Donis H <sup>(21)</sup> la prueba tiene un valor que determina su eficiencia como suficiente basado en que un buen test debe tener una RV- cercana a 0 y una RV+ alta; y el índice de Youden cercano a 1 que hay pocos falsos negativos y positivos.

Los resultados indican que la prueba es repetible y reproducible en un 100% al obtener el mismo resultado

en las diferentes pruebas esto se debe a una buena estandarización en las diferentes etapas del desarrollo de la prueba y su optimización.

Los resultados encontrados son similares a los reportados por Marcos et al. <sup>(22)</sup> quienes encontraron que ELISA Fas2 (catepsina L1) tiene una sensibilidad del 92,4% y especificidad del 83,6%; mientras que Muñoz et al. <sup>(23)</sup> analizar las pruebas serológicas para el diagnóstico de la fasciolosis encontró sensibilidades de 91,90%, 94,30%, 96,5%, 99,9%, 96,5% (Ferritina), 91,4%, (TP) 87%, Fas2 ELISA: 96,77%, Arco 2: 47,61% y Western blot: 74,19% y sus especificidades de 97,30%, 80,20%, 97,6%, 99,9%, 95,7%, (Ferritina) 92,4%, (TP) 99%, Fas2 ELISA: 91,22%, Arco 2: 98,24%, Western blot: 88,59%. Solo encontramos un reporte de Martínez et al. <sup>(24)</sup> que elaboró una prueba rápida por flujo lateral de migración vertical para el diagnóstico de la fasciolosis que realizó una evaluación de 39 sueros positivos y 164 negativos, de los cuales solo un suero positivo no reaccionó y ninguno de los negativos.

Recalcando la importancia de las pruebas LFIA para los programas de control de las enfermedades porque pueden contribuir a tratar a los pacientes con precisión y asegurar que se prevenga la transmisión de esta enfermedad crónica lenta. Fasciorap cumple con las características de la prueba Assured para que pueda utilizarse en todos los niveles del sistema de salud (asequible, sensible, específico, fácil de usar, robusto, rápido, equipo mínimo o sin equipo y entregable a quien lo necesita) <sup>(25)</sup>. Su aceptación como prueba que otorga resultados confiables se logrará mediante una validación profunda del dispositivo LFIA y un control de calidad meticuloso <sup>(18,26)</sup>.

Este proyecto tuvo algunas limitaciones, solo se contó con datos demográficos y epidemiológicos de algunas muestras y para evaluar la especificidad solo conto con sueros de pacientes con Hidatidosis para el grupo de sueros positivos a otros trematodos que infectan el hígado. Además, no encontramos en el Perú kits comerciales para hacer las comparaciones y confirmaciones de la enfermedad, es así que tomamos la estandarizadas en el laboratorio.

Se concluye que la prueba rápida Fasciorap puede ser de utilidad para el diagnóstico serológico de la Fasciolosis humana.

### Agradecimientos

Al Blgo. Ana Vásquez y Adderly Benites por su colaboración en obtención de muestras, Miguel Iglesias y Q.F. Katy Cerna por su apoyo en los ensayos de laboratorio y aspectos técnicos, Dr. Pedro Ortiz de la Universidad de Cajamarca por proporcionarnos material biológico, Centro de salud Combayo y Dr. Glicerio Montes en las coordinaciones para la obtención de muestras.

**Contribución de autoría:** EH y DK conceptualizaron, diseñaron la metodología y condujeron la investigación, analizaron los datos, DK redactó el borrador inicial, y la versión final. JC y EO contribuyeron en la recolección, análisis e interpretación de datos, validación y revisión del manuscrito. DK Y CA gestionaron las actividades de la investigación y revisión. Todos los autores asumen la responsabilidad del contenido del artículo.

**Financiamiento:** El proyecto fue financiado por el Programa Pro Innovate a través del concurso de Innovación empresarial a cargo de la empresa Escacorp SAC mediante el Convenio N° 333 INNOVATE PERÚ-PIEC1-2019.

**Conflictos de Interés:** Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Valero MA, Periago MV, Pérez-Crespo I, Angles R, Villegas F, Aguirre C, et al. Field evaluation of a coproantigen detection test for fascioliasis diagnosis and surveillance in human hyperendemic areas of Andean countries. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(9):e1812. doi: 10.1371/journal.pntd.0001812.
- Muñoz ME, Placencia MM, Del Pozo JA, Sevilla AC, Huiza A. Diagnóstico serológico de la infección por *Fasciola hepática*: una revisión sistemática. *Rev Gastroenterol Peru*. 2020;40(2):155-161.
- Bargues MD, Malandrini JB, Artigas P, Soria CC, Velasquez JN, Carnevale S, et al. Human fascioliasis endemic areas in Argentina: multigene characterisation of the lymnaeid vectors and climatic-environmental assessment of the transmission pattern. *Parasit Vectors*. 2016;9(1):306. doi: 10.1186/s13071-016-1589-z.
- Giraldo CA. Necesidad de contar con un sistema de vigilancia epidemiológica de fasciolosis humana en el Perú. *Boletín epidemiológico del Perú* 2020. 2020;29(45):490-492.
- Rodríguez-Ulloa C, Rivera-Jacinto M, Chilón YS, Ortiz OP, Del Valle-Mendoza J. Infección por *Fasciola hepática* en escolares del distrito de Condebamba, Cajamarca. *Rev investig vet Perú*. 2018;29(4):1411-1420. doi: 10.15381/riprep.v29i4.15191.
- Valero MA, Perez-Crespo I, Chillón-Marinas C, Khoubbane M, Quesada C, Reguera-Gomez M, et al. *Fasciola hepática* reinfection potentiates a mixed Th1/Th2/Th17/Treg response and correlates with the clinical phenotypes of anemia. *PLoS ONE*. 2017;12(3):e0173456. doi: 10.1371/journal.pone.0173456.
- Mas-Coma, S, Bargues M, Valero M. Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures. *Parasitology*. 2018;145(13):1665-1699. doi: 10.1017/S0031182018000914.
- Jiang XA, Lillehoj PB. Lateral flow immunochromatographic assay on a single piece of paper. *Analyst*. 2021;146:1084-1090. doi: 10.1039/d0an02073g.
- Lorca M, Contreras MC, Salinas P, Guerra A, Raychaudhuri S. Evaluación de una prueba rápida para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en suero. *Parasitol Latinoam*. 2008;63(1):29-33. doi: 10.4067/S0717-77122008000100005.
- Astudillo OG, Bava AJ. Evaluación de la prueba rápida VIRAPID® Hidatidosis. *Acta bioquím clín latinoam*. 2018;52(3):355-360.
- Van Grootveld R, van Dam GJ, de Dood C, de Vries JJC, Visser LG, Corstjens PLAM, et al. Improved diagnosis of active *Schistosoma* infection in travellers and migrants using the ultra-sensitive in-house lateral flow test for detection of circulating anodic antigen (CAA) in serum. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(9):1709-1716. doi: 10.1007/s10096-018-3303-x.
- Yen CW, de Puig H, Tam JO, Gómez-Márquez J, Bosch I, Hamad-Schifferli K, et al. Multicolored silver nanoparticles for multiplexed disease diagnostics: distinguishing dengue, yellow fever, and Ebola viruses. *Lab Chip*. 2015;15(7):1638-1641. doi: 10.1039/c5lc00055f.
- Organización Mundial para la Salud. Poner fin a la desatención para alcanzar los Objetivos de Desarrollo Sostenible Una hoja de ruta para las enfermedades tropicales desatendidas 2021-2030 [Internet]. Ginebra: OMS; 2020 [citado 13 de mayo del 2022]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332421>
- Maco V, Marcos L, Terashima A, Samalvides F, Miranda E, Espinoza J, et al. Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por Lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepática*. *Rev Med Hered*. 2002;13(2):49-57.
- Escalante H, Davelois K, Ortíz P, Rodríguez H, Díaz J, Jara C. Estandarización de la técnica de Western blot para el diagnóstico de la fasciolosis humana utilizando antígenos de excreción-secreción de *Fasciola hepática*. *Rev Perú Med Exp Salud Publica*. 2011;28(3):454-61.
- Cohen JF, Korevaar DA, Altman DG, Bruns DE, Gatsonis CA, Hooft L, et al. STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: explanation and elaboration *BMJ Open*. 2016;6:e012799. doi: 10.1136/bmjopen-2016-012799.
- Lowther J, Robinson MW, Donnelly SM, Xu W, Stack CM, Matthews JM, et al. The Importance of pH in Regulating the Function of the *Fasciola hepática* Cathepsin L1 Cysteine Protease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(1):e369. doi: 10.1371/journal.pntd.0000369.
- Aguayo V, Valdes B, Espino AM. Assessment of *Fasciola hepática* glutathione S-transferase as an antigen for serodiagnosis of human chronic fascioliasis. *Acta Trop*. 2018;186:41-49. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.07.002.
- Antitupa I, Quispe W, Mayo J, Valverde F, Sanchez E. Purificación de la fracción antigénica 27-28 kDa a partir del antígeno metabólico secretado excretado de *Fasciola hepática*. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2014;31(2):288-91.
- Mirzadeh A, Yoosefy A, Kazemirad E, Barati Z, Golkar M, Babaie J, Jafarhaghghi F, Valadkhani Z. Evaluation of a set of refolded recombinant antigens for serodiagnosis of human fascioliasis. *PLoS One*. 2018 Oct 3;13(10):e0203490. doi: 10.1371/journal.pone.0203490.
- Donis HJ. Evaluación de la validez y confiabilidad de una prueba diagnóstica. *Avan Biomed*. 2012;2(1):73-81.
- Marcos LA, Terashima A. Update on human fascioliasis in Peru: diagnosis, treatment and clinical classification proposal. *Neotrop Helminthol*. 2007;1(2):85-103. doi: 10.24039/rnh2007121156.
- Muñoz ME, Placencia MM, Del Pozo MJA, Sevilla AC, Huiza FA. Diagnóstico serológico de la infección por *Fasciola hepática*: una revisión sistemática. *Rev Gastroenterol Peru*. 2020;40(2):155-61.
- Martínez V, Muiño L, Perteguer MJ, Gárate T, Mezo M, González M, et al. Development and Evaluation of a New Lateral Flow Immunoassay for Serodiagnosis of Human Fasciolosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(11): e1376. doi: 10.1371/journal.pntd.0001376.
- Peeling RW, Mabey D. Point-of-care tests for diagnosing infections in the developing world. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(8):1062-9. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03279.x.x
- Di Nardo F, Chiarello M, Cavalera S, Baggiani C, Anfossi L. Ten Years of Lateral Flow Immunoassay Technique Applications: Trends, Challenges and Future Perspectives. *Sensors*. 2021;21(15):5185. doi: 10.3390/s21155185.

### Correspondencia:

Kelly Roxana Davelois Atac

E-mail: [produccion@escalabs.com](mailto:produccion@escalabs.com)