

Aguilar F¹, Herrera V¹, Salazar J¹, Rodríguez M¹, Carrión N¹, Guerrero S², Morey G¹, Ruano AL^{1,3},
1 Programa PROPAD. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública
2 Universidad de las Américas
3 Consejo de Evaluación, Acreditación y Aseguramiento de la Calidad de la Educación Superior

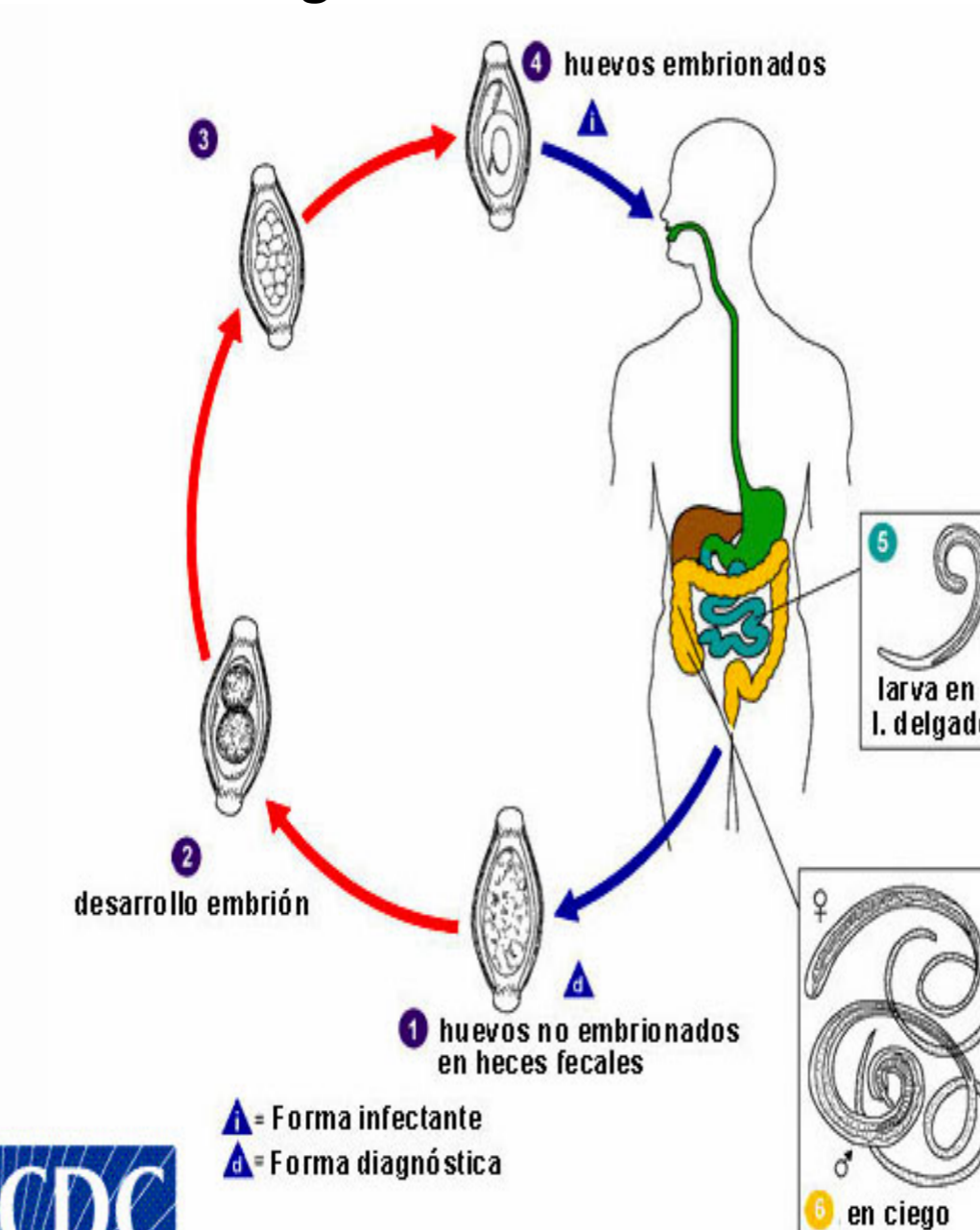
faguilar@inspi.gob.ec
gmorey@inspi.gob.ec

INTRODUCCIÓN

Los helmintos transmitidos por el suelo (STHs) infectan a la población a nivel mundial y particularmente a países en vías de desarrollo donde la sanidad, la higiene y las condiciones socioeconómicas no son las óptimas¹. *Trichuris* spp. se considera un parásito zoonótico, con tres especies que representan un riesgo para el ser humano: *T. trichiura*, *T. suis*, y *T. vulpis*, existe evidencia de 2 genotipos de *Trichuris trichiura*². Se estima que 1049 millones de personas portan el helminto *Trichuris trichiura*, de esta cifra 114 millones son niños de edad preescolar y 223 millones de edad escolar, siendo los niños un grupo especialmente vulnerable³.

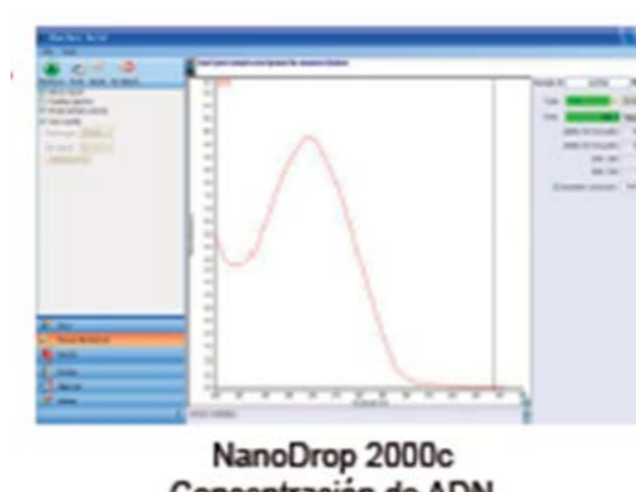
En el Ecuador la prevalencia en niños de *Trichuris trichiura* está entre 6.5% y 46.4%^{4,5,6,7}, estos valores fueron hallados en estudios realizados en provincias y grupos específicos de la población, por tanto es necesario un estudio global en Ecuador. La infección por esta parasitosis causa problemas de salud pública y problemas socioeconómicos, lo cual ha hecho necesario el desarrollo de técnicas de diagnóstico con mayor sensibilidad y especificidad en relación a las técnicas de diagnóstico clásico.

Ciclo Biológico de *Trichuris trichiura*

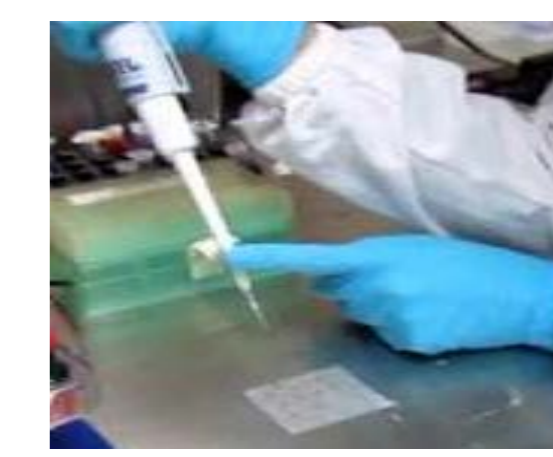


CDC
Fuente: Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Trichuriasis. (2013). Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/whipworm/biology.html>

5. Cuantificación por Espectrofotometría Y Electroforesis



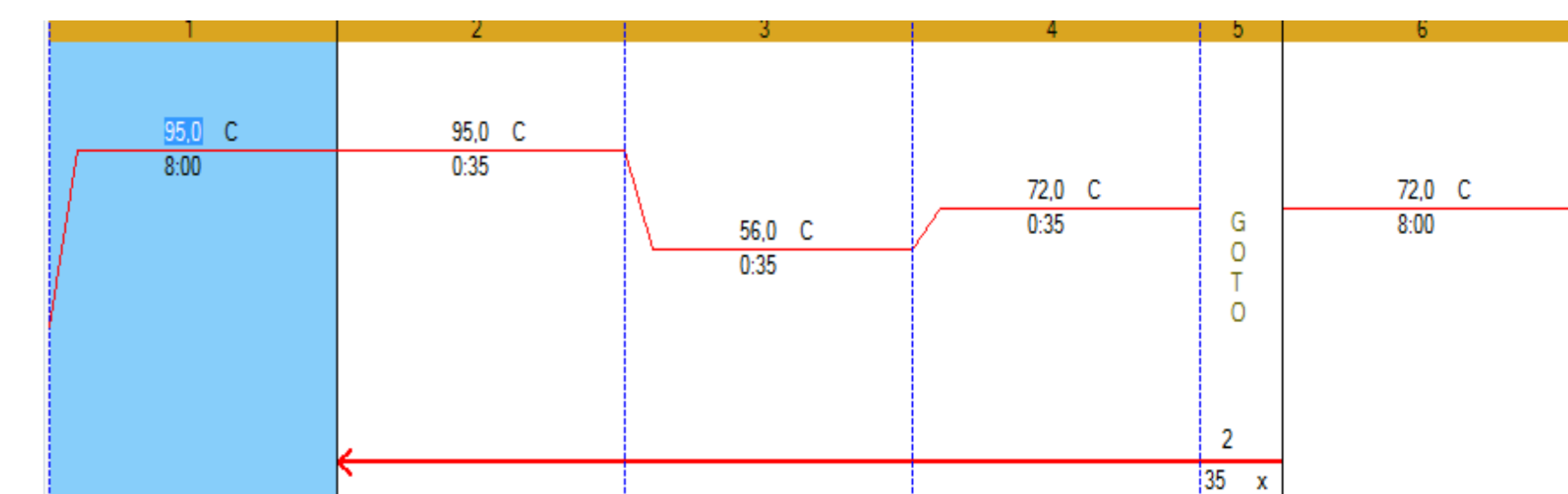
Cuantificación por espectrofotometría de concentración de ADN utilizando equipo NanoDrop2000C



Electroforesis en gels de agarosa al 2%, utilizando Blue juice loading buffer 10x

6. PCR punto final

Primers: SSU rRNA2
FW: 5' GCTCGTAGTTGGATTGCGGATGT 3'
RV: 5' TCCATGCCACCACGGTTCAAGC 3'



Cebadores utilizados que amplifican una porción del gen que codifica para la subunidad ribosomal menor, con un amplicon de 322 pares de bases.

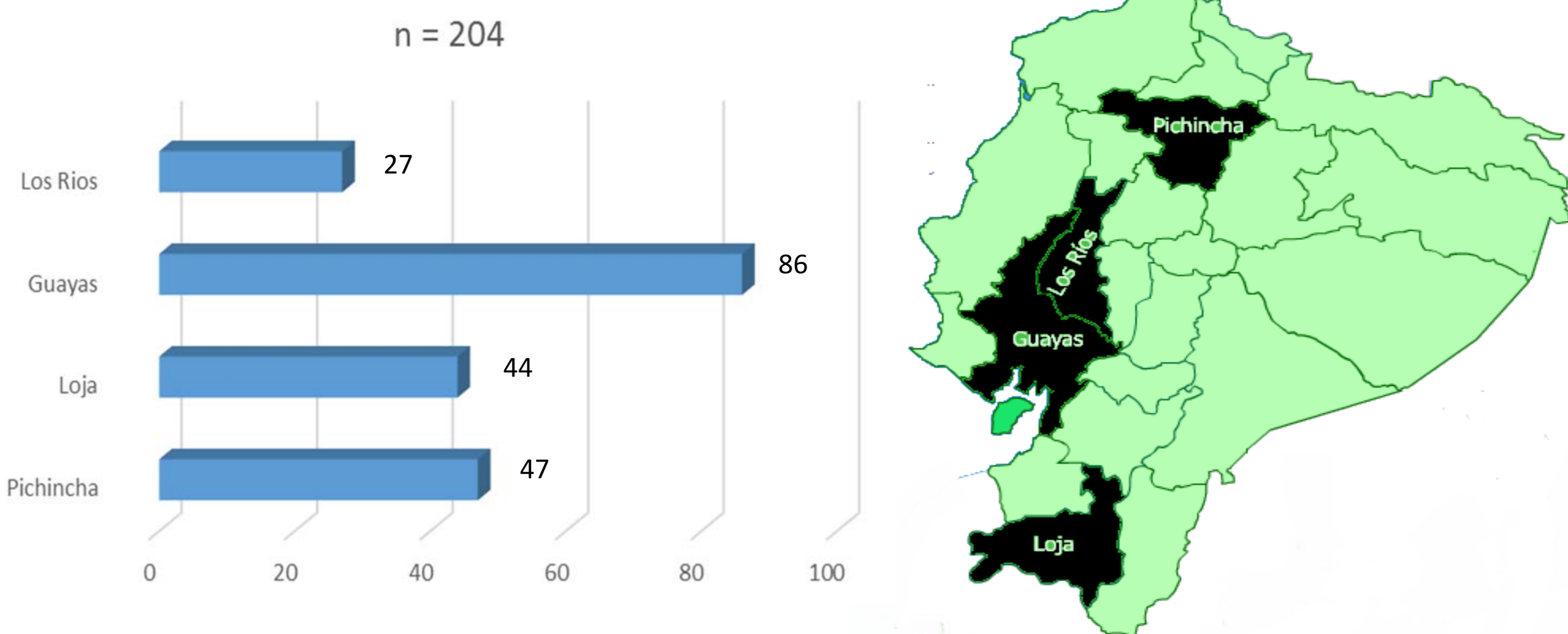
Temperaturas y tiempos de ciclado para amplificación de una región de ADN específica del parásito.

METODOLOGÍA

1. Diseño del Estudio



2. Población

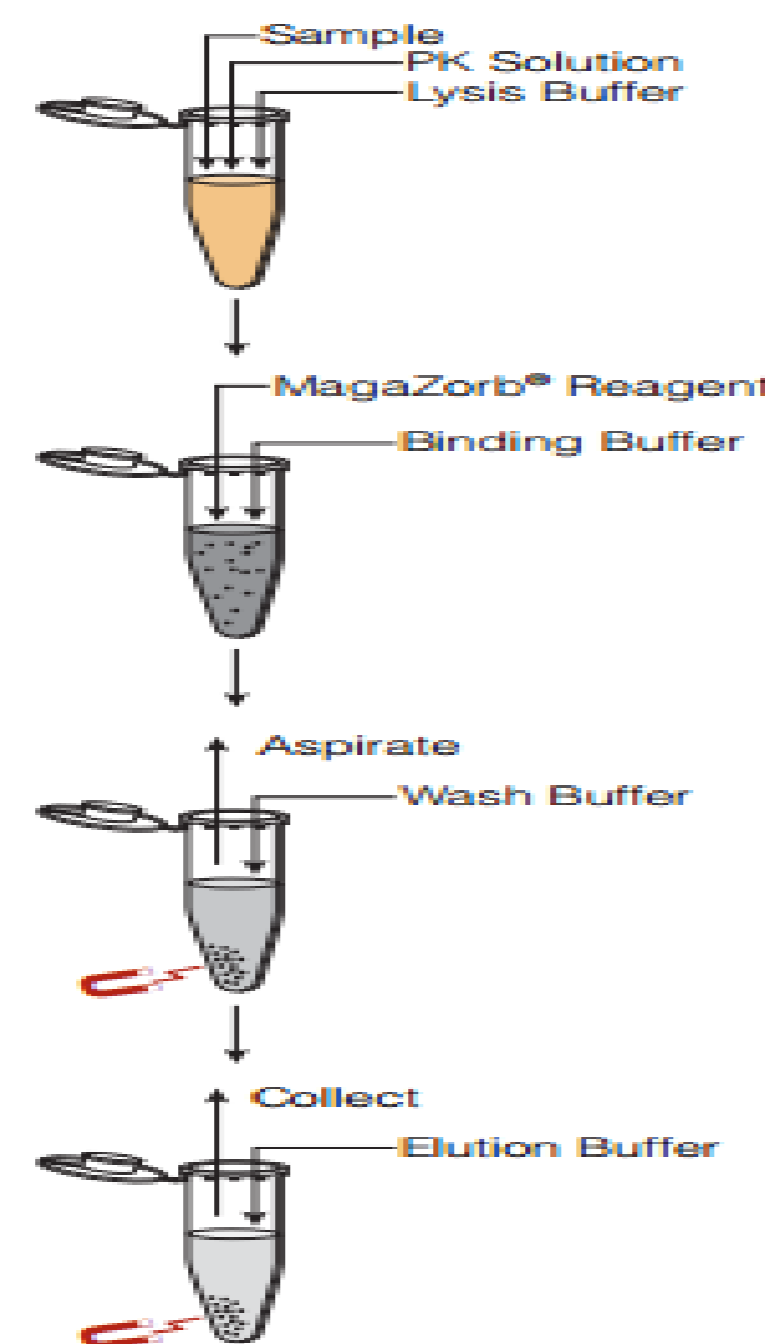


3. Extracción de ADN

CONSERVANTES:

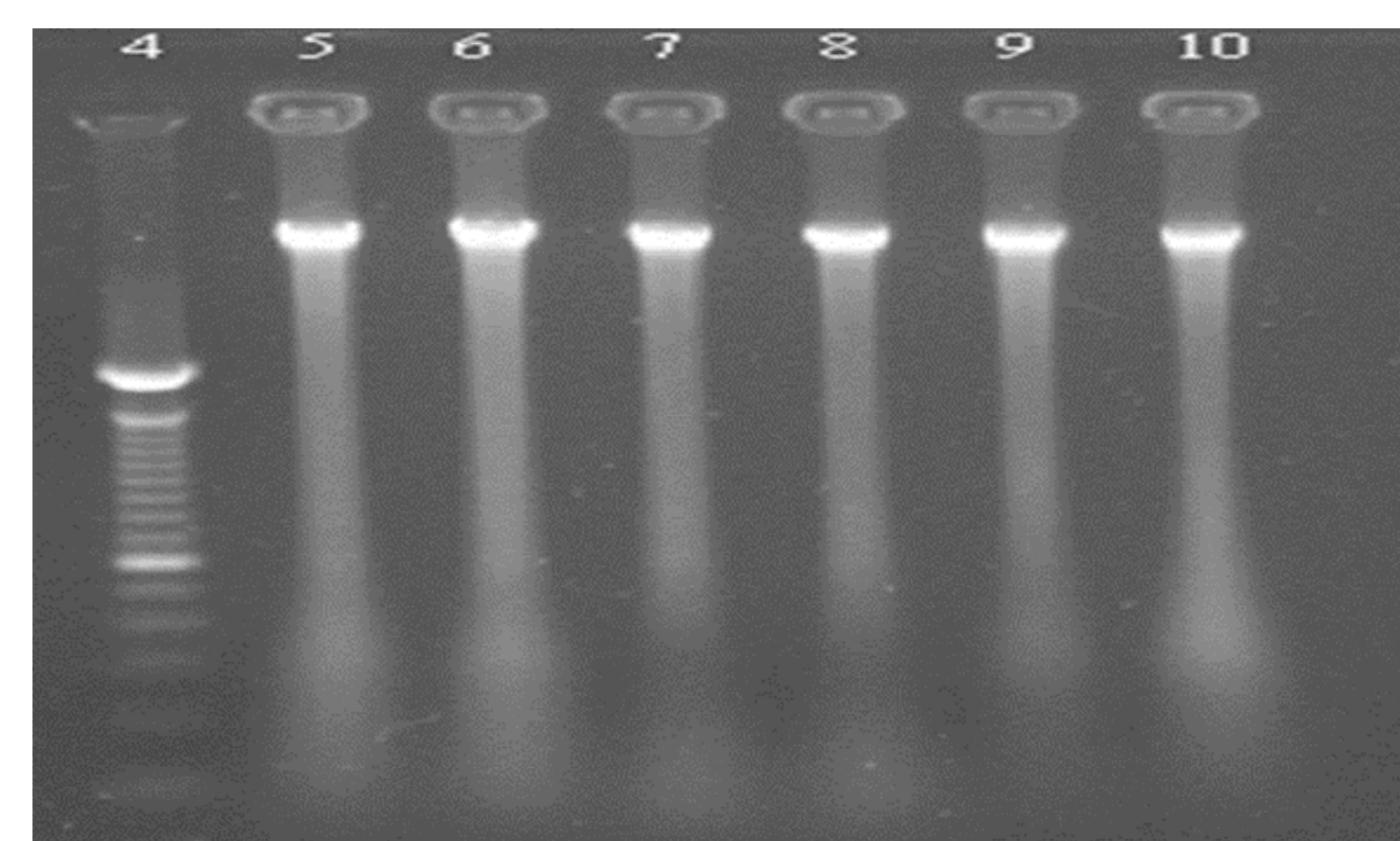
Etanol 70%

Dicromato de Potasio 2.5%

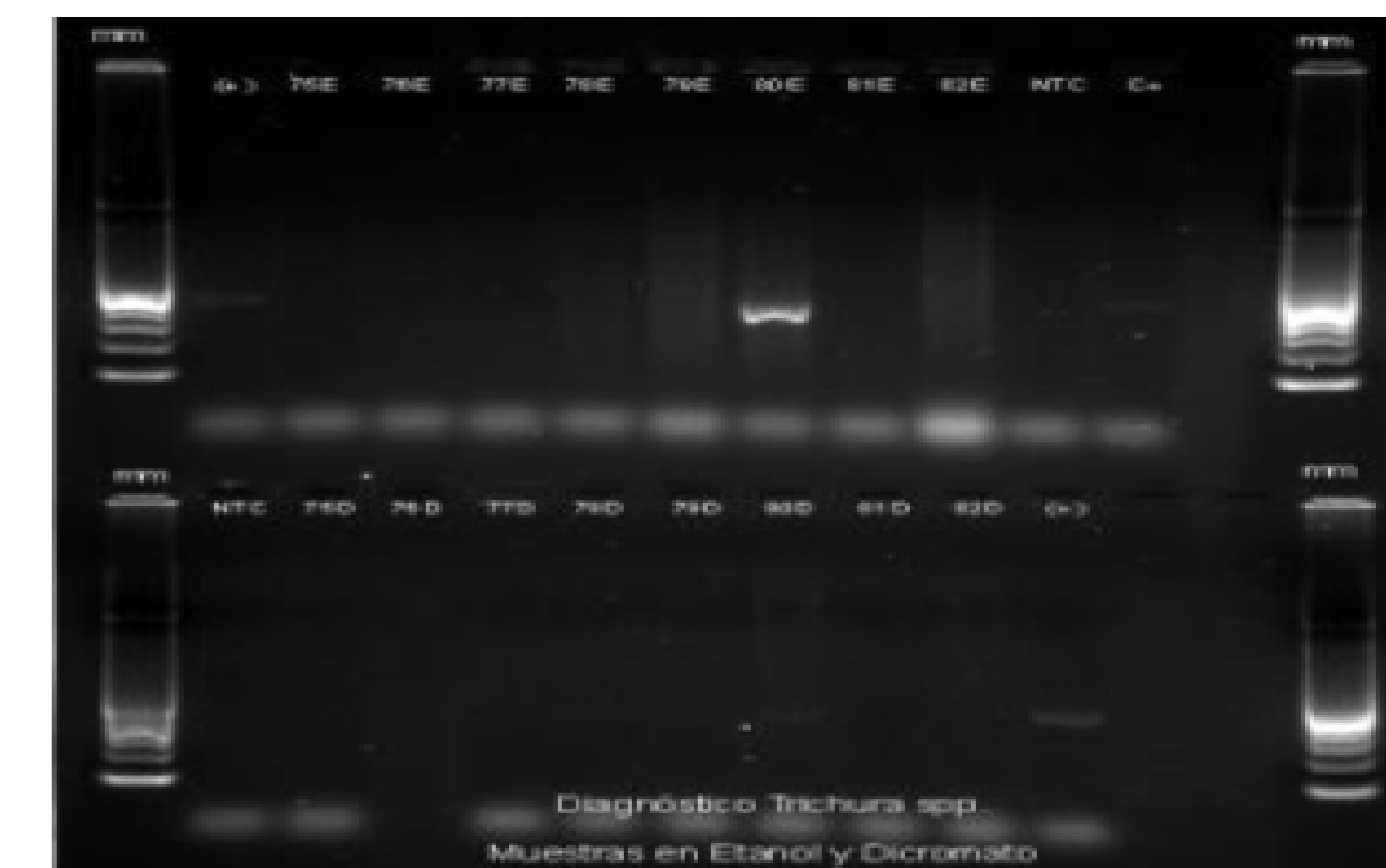


MagaZorb® DNA Mini-Prep Kit – Promega utilizando perlas magnéticas

RESULTADOS

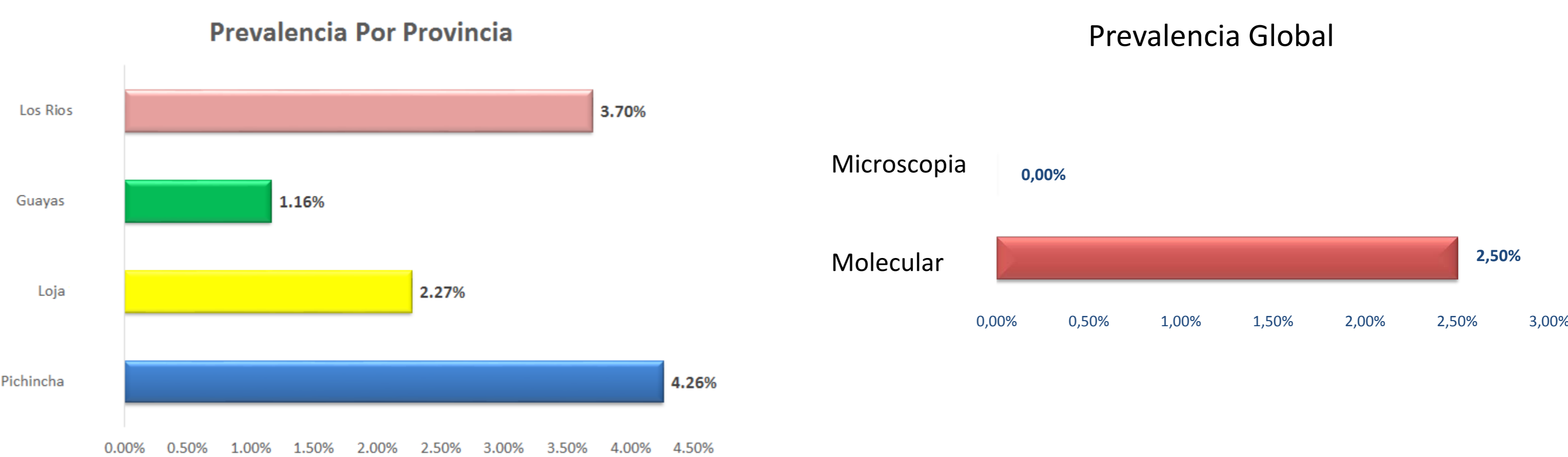


Electroforesis de extracción de ADN total corridos en gel de agarosa al 2% teñido con SYBR SAFE (1uL/10uL Gel). 4: Marcador de peso molecular (100pb) 5-10: Muestras biológicas



Electroforesis de productos de PCR corridos en gel de agarosa al 2% teñido con SYBR SAFE (1uL/10uL Gel). mm: Marcador de peso Molecular (100pb). C+ Control Positivo. 76E - 82E: ADN muestras biológicas conservadas en etanol 70%. 75D - 82D: ADN muestras biológicas conservadas en dicromato de potasio 2.5%. 80: Muestra positiva para infección con *Trichuris trichiura*. NTC: No Template Control.

- El diagnóstico molecular realizado mediante PCR punto final en 204 muestras por duplicado, conservadas en etanol 70% y dicromato de potasio 2.5% muestra 5 casos positivos, 2 positivos en muestras conservadas en etanol, 2 positivos en muestras conservadas en dicromato de potasio y 1 positivo conservado en ambas muestras.



- Los resultados obtenidos muestran una prevalencia global de 2.5% de infección por *Trichuris trichiura*. Siendo la prevalencia por provincias analizadas de: Pichincha 4,26%, Los Ríos 3,7%, Loja 2,27% y Guayas 1,16%.
- Mediante diagnóstico por microscopía no se observó presencia del parásito.

CONCLUSIONES

- El diagnóstico molecular presenta mayor sensibilidad comparado con la técnica clásica por microscopía, evitando falsos negativos.
- Pichincha sería la provincial con mayor prevalencia de infección por *Trichuris trichiura* con base en los resultados de este grupo analizado.
- La implementación del pruebas moleculares representa un gran avance en el diagnóstico de las parasitosis desatendidas en el Ecuador.

BIBLIOGRAFÍA

- Xiao, P.-L., Zhou, Y.-B., Chen, Y., Yang, Y., Shi, Y., Gao, J.-C., Jiang, Q.-W. (2015). Prevalence and risk factors of *Ascaris lumbricoides* (Linnaeus, 1758), *Trichuris trichiura* (Linnaeus, 1771) and HBV infections in Southwestern China: a community-based cross sectional study. *Parasites & Vectors*, 8(1), 661. <http://doi.org/10.1186/s13071-015-1279-2>
- Ravasi DF, O'Riain MJ, Davids F, Illing N. (2012) Phylogenetic evidence that two distinct *Trichuris* genotypes infect both humans and non-human primates. *PLoS One* ;7(8):e44187. doi: 10.1371/journal.pone.0044187.
- Gyorkos, T. W., Gilbert, N. L., Larocque, R., Casapia, M., & Montresor, A. (2012). Re-Visiting *Trichuris trichiura* Intensity Thresholds Based on Anemia during Pregnancy. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(9), 22–25. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001783>.
- Cooper, P. J., Chico, M. E., Bland, M., Griffin, G. E., & Nutman, T. B. (2003). Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 168(3), 313–317. <http://doi.org/10.1164/rccm.200211-1320OC>.
- Cooper, P. J., Chico, M. E., Platts-Mills, T. A. E., Rodrigues, L. C., Strachan, D. P., & Barreto, M. L. (2015). Cohort Profile: The Ecuador Life (ECUAVIDA) study in Esmeraldas Province, Ecuador. *International Journal of Epidemiology*, 44(5), 1517–1527. <http://doi.org/10.1093/ije/dyu128>.
- Andrade, C., Alava, T., Palacio, I. A. De, Poggio, P. Del, Jaramolletti, C., Gulletta, M., & Montresor, A. (2001). Prevalence and Intensity of Soiltransmitted Helminthiasis in the City of Portoviejo (Ecuador), 96(November), 1075–1079.
- Cooper, P. J., Chico, M. E., Rodrigues, L. C., Ordóñez, M., Strachan, D., Griffin, G. E., & Nutman, T. B. (2003). Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(5), 995– 1000. <http://doi.org/10.1067/mai.2003.1348>