

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

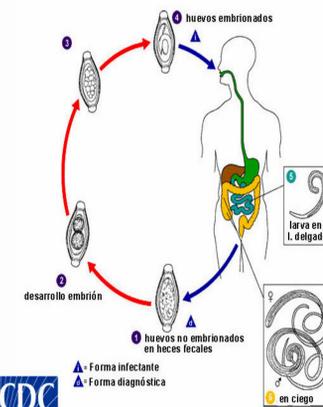
faguilar@inspi.gob.ec
gmorey@inspi.gob.ec

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.

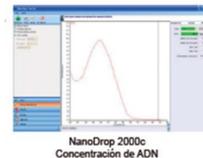
En el Ecuador la prevalencia en niños de *Trichuris trichiura* está entre 6.5% y 46.4%^{4,5,6,7}, estos valores fueron hallados en estudios realizados en provincias y grupos específicos de la población, por tanto es necesario un estudio global en Ecuador. La infección por esta parasitosis causa problemas 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*

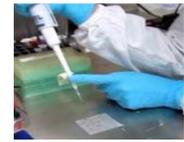


CDC
Fuente: Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Trichuriasis. (2013). Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/whipworm/biology.html>

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' TCCATGCCACCAGGTTCAAGC 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



Talleres

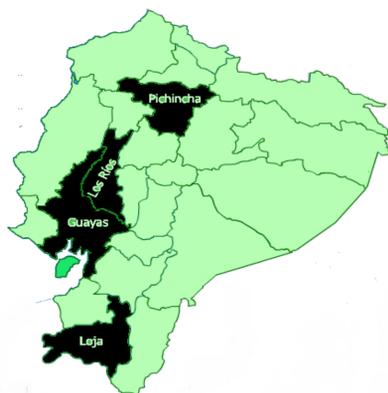
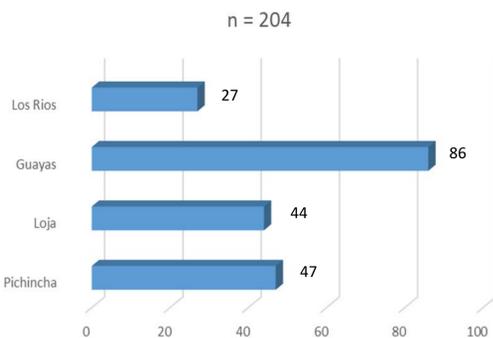


Toma de Muestras



Toma de Medidas

2. Población

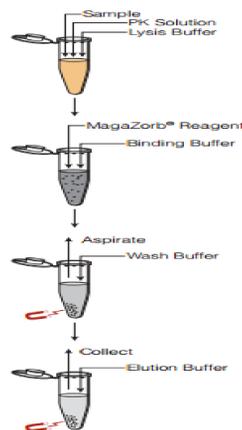


3. Extracción de ADN

CONSERVANTES:

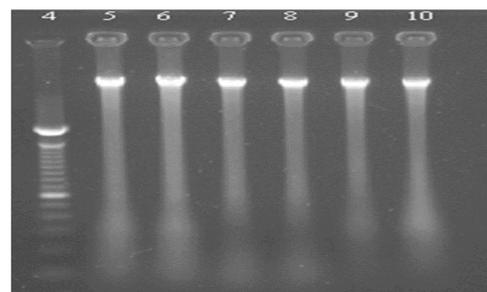
Etanol 70%

Dicromato de Potasio 2.5%

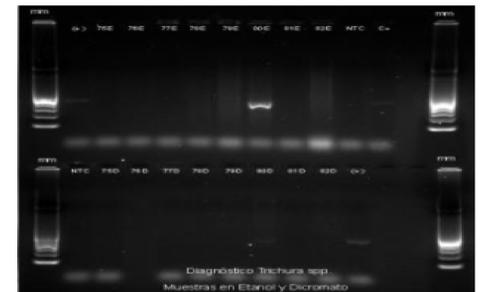


MagaZorb® DNA Mini-Prep Kit – Promega utilizando perlas magnéticas

RESULTADOS

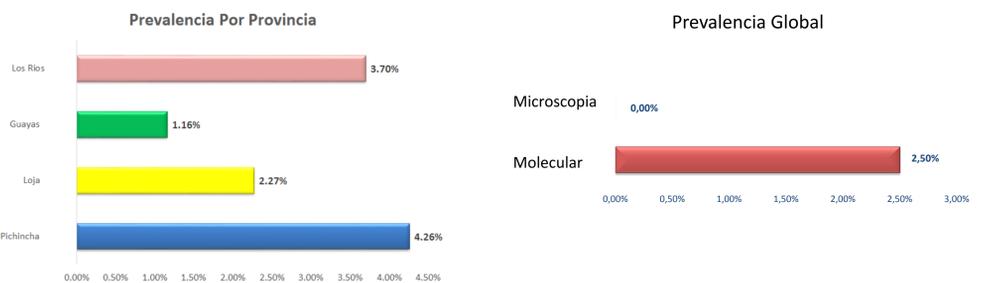


Electroforesis de extracción de ADN total corridos en gel de agarosa al 2% teñido con SYBR SAFE (1uL/10uL Gel). 4: Marcador de peso molecular (100pb) 5-10: Muestras biológicas



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, Jamoletti, 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>