



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE ÁSCARIS SPP. EN NIÑOS
ECUATORIANOS EN EDAD ESCOLAR



AUTOR

Gabriela Alejandra Prado Gaibor

AÑO

2017



FACULTAD DE INGENIERÍAS Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *ÁSCARIS* SPP. EN NIÑOS
ECUATORIANOS EN EDAD ESCOLAR

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniera en Biotecnología.

Profesor guía

PhD Alina Aguirre Quevedo

Autora

Gabriela Alejandra Prado Gaibor

Año

2017

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Alina Aguirre Quevedo
Doctora en Ciencias Biológicas
C.I. 1756594600

DECLARACIÓN DEL DOCENTE CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Vinicio Danilo Armijos Jaramillo

Doctor en Agrobiotecnología

CI: 1716829666

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR CIENTIFICO

“Declaro haber dirigido científicamente al estudiante para la realización de su trabajo experimental de titulación en base al método científico, conduciéndole con coherencia en el conjunto de experimentos realizados, y orientando sus conocimientos para lograr los objetivos propuestos”.

Ana Lucia Ruano Nieto

Doctora en Enfermedades Tropicales

CI: 1710090604

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

Gabriela Alejandra Prado Gaibor

C.I. 1721875746

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de las Américas por ser parte de mi formación académica. Agradezco al programa Propad, Alina Aguirre y Vinicio Armijos por alentarme a alcanzar el éxito. Agradezco a mis familiares, a mis padres y hermano por inspirarme y enseñarme los valores de la vida. Finalmente, gracias a Dios por siempre guiarme.

DEDICATORIA

A mis padres por su fidelidad, por inculcar en mí la importancia del estudio, a mi hermano y a mis abuelitos.

Por ser siempre el estímulo y el apoyo incondicional. Finalmente, a gracias a Dios por siempre guiarme y protegerme.

RESUMEN

Ascaris spp. se trata de un género de nemátodos ascaridios de la familia Ascarididae, causante de la ascariasis en humanos y cerdos. En cuanto a su prevalencia, ésta se encuentra estrechamente relacionada a fenómenos demográficos, climáticos y socioeconómicos; teniendo en cuenta que la población que tiene mayor riesgo de padecer la enfermedad es aquella que habita en zonas donde el saneamiento y la higiene son deficientes. La población que se ve más afectada son los niños en edad escolar, debido a que tienden a ser más activos en el ambiente de infección y rara vez emplean buenas conductas sanitarias. El diagnóstico de *Ascaris* spp. se realiza mediante métodos convencionales como la microscopía, aunque estos métodos poseen una baja sensibilidad. Sin embargo, en la actualidad la Biología Molecular ofrece técnicas sensibles y específicas para el diagnóstico de parásitos tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el presente estudio, se analizaron 580 muestras (heces) de niños en edad escolar divididos en tres regiones Costa (n=140), Sierra (n=100) y Oriente (n=340). Con estas muestras se llevó a cabo la amplificación de la subunidad 1 del gen citocromo c oxidasa (COX1) para el diagnóstico de *Ascaris* spp.; considerando como resultado positivo la presencia de una banda de 192 pb y utilizando como control positivo ADN extraído a partir del parásito puro de *Ascaris* spp. Como resultado final del estudio se obtuvieron 29 muestras positivas y 551 muestras negativas, lo que resultó en un porcentaje de prevalencia del 5% de *Ascaris* spp. en las tres regiones estudiadas mientras que el porcentaje de prevalencia encontrado por microscopia fue del 3%. A partir de los resultados obtenidos se puede afirmar que la PCR a punto final es específica y sensible para el diagnóstico de *Ascaris* spp. Finalmente, la región Costa fue la que presentó un mayor nivel de prevalencia del parásito, seguido por el Oriente y la Sierra. Estos resultados pueden deberse a la existencia de factores ambientales, socioeconómicos y hábitos de higiene de la población que incrementan la probabilidad de ser infectado por *Ascaris* spp.

Palabras clave: *Ascaris* spp., Factores de Riesgo, Prevalencia, PCR, COX1

ABSTRACT

Ascaris spp. is a genus of ascaridia nematodes of the Ascarididae family, which causes ascariasis in humans and pigs. As for its prevalence, it is closely related to demographic, climatic and socioeconomic phenomena; taking into account that the population that has the highest risk of suffering from the disease is that which is in areas where sanitation and hygiene are deficient. The population that is most affected are school-age children, because they tend to be more active in the infected environment and rarely engage in good health behaviors. As for the diagnosis of *Ascaris* spp., it is usually detected using conventional methods such as microscopy, but it has low sensitivity and in many cases it is necessary to make a careful preparation for its detection. However Molecular Biology currently offers sensitive and specific techniques for the diagnosis of parasites such as polymerase chain reaction (PCR). In the present study, 580 samples (feces) of school-age children divided into three regions: Costa (n = 140), Sierra (n = 100) and East (n = 340). We analyze the samples through the amplification of the cytochrome c oxidase gene subunit 1 (COX1) for the diagnosis of *Ascaris* spp. Considering as a positive result the presence of a band of 192 bp. For the analysis, DNA extracted from the pure parasite of *Ascaris* spp was used as a positive control. As a final result, 29 positive samples and 551 negative samples were obtained, which resulted in a prevalence rate of 5% of *Ascaris* spp. in the three regions studied, while the prevalence rate found by microscopy was 3%. From the obtained results it can be affirmed that the end-point PCR is specific and sensitive for the diagnosis of *Ascaris* spp. Finally, the Costa region presented the highest prevalence of the parasite, followed by the East and the Sierra. This may be due to the existence of environmental, socioeconomic and hygiene habits of the population in Costa region that increases the probability of being infected by *Ascaris* spp.

Keywords: *Ascaris* spp., Risk Factors, Prevalence, PCR, COX1

ÍNDICE

1. Capítulo I. Introducción	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Planteamiento del problema.....	4
1.4 Objetivos.....	6
1.5 Justificación de la investigación.....	7
2. Capítulo II. Marco Teórico	8
2.1 Descripción del Programa Propad.....	8
2.2 Definición de Parasitología.....	9
2.3 Ascaris.....	10
2.3.1 Clasificación taxonómica de <i>Ascaris lumbricoides</i> y <i>Ascaris suum</i>	10
2.4 Morfología.....	11
2.5 Ciclo de vida.....	12
2.6 Formas de Transmisión.....	14
2.7 Epidemiología.....	15
2.8. Patología.....	15
2.9 Diagnóstico.....	17
2.9.1 Presencia de huevos en las heces.....	17
2.9.2 Biometría hemática.....	18
2.9.3 Inmunodiagnóstico.....	19
2.10 Tratamiento.....	19
3. Capítulo III. Metodología	23
3.1 Diseño del plan experimental.....	23

3. 2 Procedimientos	23
3.2.1 Población y muestra	23
3.2.2 Aspectos Bioéticos y Sociales.....	25
3.3 Materiales y métodos para la obtención de los datos.....	26
3.3.1 Extracción de ADN	26
3.3.1.1 Lisis	26
3.3.1.2 Binding	26
3.3.1.3 Lavados.....	27
3.3.1.4 Elución.....	27
3.3.2 Cuantificación ADN	27
3.3.3 Reacción en cadena de la polimerasa a punto final (PCR)	28
3.3.4 Electroforesis y Visualización de ADN.....	30
3.3.5 Determinación de la prevalencia puntual.....	30
4.Capítulo IV. Resultados	31
4.1 Detección de <i>Ascaris</i> spp en muestras fecales de niños en edad escolar.	31
4.2 Prevalencia puntual de <i>Ascaris</i> spp. en niños de edad escolar en el Ecuador, a partir de resultados obtenidos por diagnóstico molecular.	32
5.Capítulo VI. Discusión	36
6.CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	40
6.1 Conclusiones	40
6.2 Recomendaciones.....	40
Referencias	41

Anexos	50
---------------------	----

1. Capitulo I. Introducción

1.1 Antecedentes

El género de nematodos *Ascaris* spp. comprenden varias especies de parasitarios causantes de enfermedades, tales como la ascariasis en humanos (*Ascaris lumbricoides*) y en cerdos (*Ascaris suum*) (Dold y Holland, 2010).

Los huéspedes humanos o cerdos contraen las infecciones de *Ascaris* spp. mediante la vía fecal oral (Scott, 2008). A partir de la ingestión de los huevos infecciosos, las larvas eclosionan en el intestino y migran al ciego y colon proximal penetrando la mucosa. Posteriormente migran a través de la vena porta hasta llegar al hígado. A continuación, migran hacia los pulmones donde son expulsados en la saliva al toser o son deglutidos. Finalmente, las larvas regresan al intestino donde maduran y logran alcanzar la madurez sexual (Scott, 2008). Una ruta migratoria similar tiene lugar en los cerdos (Dold y Holland, 2010).

Los gusanos adultos pueden residir en el intestino delgado aproximadamente un año, pero la mayoría son expulsados en la semana 23. Las larvas adultas femeninas y masculinas miden entre 20-35 cm y 15-25 cm respectivamente. La producción de huevos en las especies de *Ascaris* spp. se encuentra generalmente en un rango de 200,000 huevos por cada gusano. Los huevos no embrionarios salen de sus huéspedes a través de las heces y pueden permanecer viables en el suelo por aproximadamente 15 años (Dold y Holland, 2010).

Entre los síntomas que suelen presentarse por la infección de *Ascaris* spp. se encuentran: vómitos, tos aguda, sibilancias o dificultad para respirar, pérdidas de peso, deposiciones irregulares, dolor estomacal y la presencia de gusanos en

las heces. Sin embargo, las infecciones severas pueden dar lugar a complicaciones peligrosas (obstrucción intestinal, por ejemplo) cuando los gusanos bloquean el paso al hígado o páncreas. Asimismo, las infecciones pueden llevar a la pérdida del apetito y la absorción deficiente de alimentos, causando retraso en el crecimiento y una mala nutrición (Serpa, Velecela y Balladares, 2014).

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud reconoce a las enfermedades gastrointestinales producidas por los helmintos, como una de las más frecuentes y que mayores daños causan a la salud en la población mundial (Organización Mundial de la Salud, 2016). En particular, las geohelmintiasis, es decir, las helmintiasis transmitidas por el contacto con el suelo como las ascariasis o trichuriasis.

En cuanto a su prevalencia, esta se encuentra estrechamente relacionada a fenómenos demográficos, diferencias climáticas y al desarrollo socioeconómico. Teniendo en cuenta que la población que tiene mayor riesgo de padecer la enfermedad es aquella que habita en zonas donde el saneamiento y la higiene son deficientes (Connell y Nutman, 2016).

Por otra parte, el grupo que se ve más afectado por la infección producida por *Ascaris* spp. son los niños en edad escolar, debido a que tienden a ser más activos en el ambiente de infección y rara vez emplean buenas conductas sanitarias (Meurs, et al, 2015).

El diagnóstico de *Ascaris* spp. involucra una serie de métodos de laboratorio convencionales tales como microscopía óptica, ultrasonido y endoscopía. Específicamente uno de los métodos más usados para el diagnóstico de *Ascaris*

spp. es la técnica de Kato-Katz, un método de frotis grueso. Esta técnica se encuentra limitada por la variación diaria en la excreción de los huevos de los helmintos, la confusión con otros parásitos y la experiencia de los técnicos de laboratorio (Min-Jun, 2012).

Sin embargo, en la actualidad las técnicas de Biología Molecular son convenientes y necesarias para el diagnóstico de enfermedades parasitarias (Min-Jun, 2012). Puesto que estas técnicas ofrecen resultados en función de los componentes antigénicos o de segmentos específicos de ADN. Además, las técnicas basadas en herramientas moleculares no se ven influenciadas por factores ambientales, garantizando un elevado porcentaje de fiabilidad (Tabares, 2011).

Entre las pruebas moleculares más importantes para el diagnóstico de parásitos se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las técnicas basadas en PCR han revolucionado varias áreas de estudio, por la capacidad de amplificar ADN a partir de pequeñas cantidades del material biológico de partida. Por consiguiente, son importantes en la parasitología puesto que con mucha frecuencia resulta imposible obtener una cantidad suficiente de material parasitario en sus diferentes etapas del ciclo de vida para el análisis convencional (Min-Jun, 2012). Por ejemplo, en el estudio de Lamberto y Jourdan (2015) en el cual se efectuó una comparación entre la PCR y la microscopia para el diagnóstico de *Ascaris* spp. se obtuvo como resultado que la PCR cuenta con mayor sensibilidad y especificidad como método diagnóstico.

Estudios epidemiológicos han identificado marcadores polimórficos para la detección de *Ascaris* spp. tales como el primer espacio transcrito interno (ITS1), subunidad 1 del gen citocromo c oxidasa (cox1) y NADH deshidrogenasa subunidad 1 (nad1) (Das, Chowdhury y Ganguly, 2015).

En la investigación efectuada por Betson y colaboradores (2010) determinaron que el haplotipo H1 del gen COX1 es el más abundante, particularmente en gusanos de humanos. De igual forma establecieron a COX1 como uno de los genes más conservados en el genoma mitocondrial de *Ascaris* spp. (Brown, 1985).

1.2 Planteamiento del problema

Las enfermedades parasitarias constituyen un grave problema para la salud pública. La Organización Mundial de la Salud señaló que casi más de un tercio de la población mundial está infectada por uno o más parásitos (El Safadi, et al, 2016).

Actualmente, una de las infecciones parasitarias más comunes y de mayor importancia en el mundo es la ascariasis (Mama y Alernu, 2016). Esta infección se presenta con mayor frecuencia en los continentes que presentan mayores índices de pobreza como es el caso de África y Latinoamérica. En América Latina se ha estimado que las infecciones provocadas por helmintos causan daño en un 30% de la población (Mama y Alernu, 2016).

En nuestro país uno de los problemas que más aqueja la salud de la población son las enfermedades causadas por parásitos (Walton, 2017). Así, uno de los parásitos más frecuentes y que causa mayor daño es *Ascaris* spp., cuya prevalencia es del 3% según las estadísticas del Ministerio de Salud (INSPI, 2016)

Sin embargo, en el Ecuador estas enfermedades parasitarias son mal atendidas y tienen una elevada probabilidad de incrementarse en un futuro cercano si no se toman a tiempo las medidas adecuadas de control. Por lo que la prevalencia de la enfermedad no disminuirá si no que, por el contrario, irá aumentando.

La adquisición de esta enfermedad tiene una relación directa con el consumo de agua, tierra y alimentos contaminados con huevos embrionarios. Asimismo, la probabilidad de contraer la infección aumenta por la presencia de ciertos factores de riesgos como la falta de agua potable, la carencia de saneamiento, las pésimas condiciones de higiene y la precariedad de la vivienda.

Cabe recalcar que el Ecuador es uno de los países que presenta un alto índice de pobreza con un 23,35 % que en la población urbana asciende al 43,96% y un índice de pobreza extrema del 19,53% (Ecuadorencifras, 2016). Es por esto que se considera que la población ecuatoriana tiene una alta probabilidad de padecer enfermedades parasitarias (Ecuadorencifras, 2016).

La población que más se ve afectada por la ascariasis son los niños menores de 14 años, debido a que se encuentran expuestos a factores que aumentan la probabilidad de infección por *Ascaris* spp. (Min-Jun, 2012).

La ascariasis puede generar pérdida del apetito y una absorción deficiente de nutrientes, lo cual provoca pérdida de peso, cansancio, falta de concentración lo que se traduce en problemas en el crecimiento y un bajo rendimiento escolar. Finalmente, si las complicaciones no son tratadas a tiempo pueden causar la muerte del paciente (Phuphisut, et al, 2014).

El diagnóstico de *Ascaris* spp. que se realiza actualmente en nuestro país, es llevado a cabo mediante técnicas convencionales de laboratorio. Una de las más utilizadas es la técnica de Kato- Katz (Tabares, 2011). Esta técnica ofrece resultados con un bajo porcentaje de fiabilidad, debido a que estos dependen de la excreción de los huevos de los helmintos que varía de día en día. Igualmente, suele existir la confusión de un parásitos con otro. Por tanto, es sumamente importante la experiencia de los técnicos de laboratorio para obtener resultados confiables. Finalmente, estos métodos convencionales cuentan con una baja sensibilidad, por lo que no pueden detectar pequeñas cantidades de material, lo cual es de gran relevancia en parasitología (Tabares, 2011).

Es innegable que mientras no se establezca un diagnóstico confiable, sensible y seguro, no existirá una disminución en cuanto a la prevalencia de *Ascaris* spp. en nuestro país (Tabares, 2011). Por lo tanto la información y los resultados obtenidos a partir de este estudio podrían servir como una importante herramienta de diagnóstico para combatir la Ascariasis en el Ecuador.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Establecer el diagnóstico molecular de *Áscaris* spp. mediante el empleo de herramientas moleculares en niños ecuatorianos en edad escolar.

1.4.2 Objetivos específicos

Determinar la presencia de *Áscaris* spp. en muestras fecales de niños en edad escolar del Ecuador mediante PCR a punto fijo.

Determinar la prevalencia de *Áscaris* spp. de niños en edad escolar en el Ecuador, a partir de los resultados obtenidos por el diagnóstico molecular.

1.5 Justificación de la investigación

Ascaris spp. son parásitos de gran importancia para la salud humana en una amplia gama de países. Infecta a 1.400 millones de personas en todo el mundo y entre 100 y 200 millones se ven afectados clínicamente (Cavallero, et al, 2013). Por otro lado, *Ascaris suum* es un nemátodo parasitario generalizado que causa infección en cerdos con altas de tasas de prevalencia.

Se considera que los grupos más afectados por estas infecciones son los niños menores de 14 años, debido a que estos tienden a ser más activos en el ambiente de infección y rara vez emplean buenas conductas sanitarias (Harhay, Horton y Olliaro, 2010). Por ende, los más afectados con diferencia son los niños en edad escolar.

Cabe recalcar que el 62,7% de los hogares en donde residen los niños en edad escolar, se encuentra en condiciones de pobreza. Asimismo las enfermedades gastrointestinales son una de las 10 principales causas de consultas al pediatra en los servicios de salud pública en nuestro país (Serpa, Velecela y Balladares, 2014).

Los síntomas o lesiones que pueden presentarse dependen del número de parásitos que se encuentren presentes en el hospedador (Claudia y Sánchez, 2008). En particular los principales síntomas son dificultad para respirar, pérdida de fluidos por diarreas, vómitos, mala absorción intestinal, anemia en individuos altamente infectados, problemas en el desarrollo y crecimiento (Serpa, Velecela y Balladares, 2014).

Con respecto al diagnóstico de *Ascaris* spp., existen métodos que emplean anticuerpos comerciales, pero los mismos son poco sensibles e incapaces de

diferenciar entre infecciones actuales y pasadas (Basuni, et al, 2010). En comparación, la PCR cuenta con una alta sensibilidad, detecta parásitos independientemente de la inmunocompetencia o antecedentes clínicos previos del paciente, y puede distinguir entre organismos que son morfológicamente similares (Tavares, et al, 2011). De igual forma el diagnóstico de parásitos se basa a menudo en la detección mediante exámenes microscópicos, sin embargo, este método resulta insensible y puede carecer de especificidad (Weis, 2012).

En particular, la PCR a punto fijo ha mostrado ser un método efectivo para la detección de *Ascaris* spp. en comparación con las técnicas de microscopía (Tabares, 2011). Debido a que estas técnicas carecen de la capacidad de diferenciar entre las especies del género *Ascaris*, por su gran similitud morfológica. De igual manera, la microscopía puede resultar sumamente laboriosa y es necesario un analista experimentado para evitar falsos positivos o negativos. En consecuencia existe un alto riesgo de tratamiento retardado o inadecuado, pudiendo generar complicaciones que pongan en peligro a los pacientes. En contraposición, el diagnóstico basado en PCR ha dado lugar a avances epidemiológicos, médicos o de salud pública, ayudando a mejorar la caracterización de los parásitos (Bell y Randford, 2002).

El establecimiento de un método de diagnóstico molecular proporcionará una alternativa efectiva de control para disminuir la incidencia de *Ascaris* spp en el Ecuador.

2.Capítulo II. Marco Teórico

2.1 Descripción del Programa Propad

El Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI, es la unidad ejecutora del Programa Nacional para el Abordaje Multidisciplinario de las

Parasitosis Desatendidas en el Ecuador "PROPAD", programa que comenzó el 1 de julio del 2013 bajo la iniciativa de la Dra. Ana Lucía Ruano. Actualmente se desarrolla el programa exitosamente gracias al financiamiento de la Secretaria de Educación Superior, Ciencia Tecnología e Innovación SENESCYT. Este programa proyecta una línea de investigación en el Ecuador que desarrolla Pruebas Inmunológicas, Pruebas Moleculares, Ciclos biológicos, Resistencia Antiparasitaria y Prevalencia de Parasitosis en general en el país (INSPI ,2017).

2.2 Definición de Parasitología

Desde hace millones de años las plantas y los animales han competido por el alimento y por el espacio. Un parásito es todo aquel organismo que vive y se alimenta de otro ser vivo dentro o fuera de él, pudiéndole causar daños aparentes o inaparentes. La parasitología es la ciencia que estudia a los organismos que viven en el interior o exterior de otro organismo, obteniendo a partir de este abrigo y alimento, siendo esta asociación no siempre nociva para el hospedero (Quiroz, 2005, p.15).

Los parásitos tienen la capacidad de adaptarse a los diferentes hábitats del huésped tales como: la piel, sangre, tejido subcutáneo, cavidades y tejidos. La gran mayoría de los animales albergan una gran cantidad de especies de parásitos, los cuales superan a los que se encuentran en vida libre. Los principales grupos de parásitos son: helmintos, protozoarios, artrópodos y pentastómidos.

La parasitosis intestinal comprende aquellas infecciones intestinales que pueden ocasionarse por la ingestión de quistes, huevos o larvas de gusanos o por la penetración de las larvas mediante la vía transcutánea desde el suelo. Los

parásitos intestinales son producidos por parásitos cuyo hábitat es el aparato digestivo del hombre (Quiroz, 2005, p.117).

2.3 Ascaris

Ascaris spp. comprende un género de nemátodos ascarídidos de la familia Ascarididae. Este género de nemátodos parasitarios se encuentra conformado por *Ascaris lumbricoides*, y *Ascaris suum*, los cuales infectan a humanos y cerdos respectivamente (Doll y Holland, 2010).

Los nemátodos son gusanos cilíndricos y alargados, de simetría bilateral, no segmentados y de sexos separados. Los nemátodos intestinales son transmitidos por vía digestiva, dando lugar a un parasitismo intestinal a partir del gusano adulto, que en la gran mayoría de los casos cursa sin manifestaciones clínicas, lo que explica su gran difusión (Rodríguez, 2013, p. 70).

2.3.1 Clasificación taxonómica de *Ascaris lumbricoides* y *Ascaris suum*

Reino: Animalia

Filo: Nematoda

Clase: Secernentea

Orden: Ascaridida

Familia: Ascarididae

Género: *Ascaris*

Especie: *Ascaris lumbricoides*

Especie: *Ascaris suum*

(James, et al, 1982)

2.4 Morfología

Ascaris lumbricoides y *Ascaris suum* son los nemátodos de mayor tamaño que se encuentran en el tubo digestivo de los seres humanos y cerdos respectivamente. La hembra mide de 20-35 cm, mientras que el macho de 15-30 cm con un ancho aproximadamente de 4 mm. *Ascaris* spp. tiene una forma cilíndrica con un extremo posterior puntiagudo y uno anterior romo, mientras que los cordones laterales son aparentes y tienen el aspecto de estrías de color blanquecino que recorren longitudinalmente el cuerpo de este nemátodo (Doll y Holland, 2010).

Por otro lado, la cabeza se encuentra conformada por tres labios bien diferenciados provistos de diminutos dientes o dentículas. Cada uno de los labios posee diminutas papilas gemelas en los bordes laterales. En el centro se puede hallar una pequeña cavidad bucal cuya forma es triangular, la cual continúa en el esófago e intestino tubular, finalizando en el ano en la hembra y en la cloaca sexual en el macho (Rodríguez, 2013, p. 69).

El macho tiene un extremo posterior que está curvado hacia la posición ventral. Los órganos genitales del macho se encuentran formados por un tubo largo, seguido por los testículos, el vaso deferente y el conducto eyaculador, el cual desemboca en la cloaca seguido del recto y las espículas copuladoras.

Por su parte, la hembra no presenta el enrollamiento que se puede observar en el macho. La vulva se encuentra localizada en la región medio central, abriéndose cerca de los tercios anterior y medio del cuerpo. A continuación, se encuentra la vagina en forma cónica la cual se bifurca para formar un par de tubos genitales, cada uno los cuales se encuentra formado por un útero, un receptáculo seminal, oviducto y ovario. Estos tubos se encuentran enrollados en

la parte posterior y media, pudiendo contener hasta 27 millones de huevos, produciendo 200,000 huevos diarios aproximadamente. Existen dos tipos de huevos: los fecundados y no fecundados. Los primeros tienen una forma ovalada con una cápsula gruesa y transparente conformada por tres capas, la interna o membrana vitelina que es lipoide, la media que se deriva del glucógeno y finalmente la externa albuminoidea que cuenta con múltiples mameloides.

El interior se encuentra conformado por una masa amorfa de citoplasma. Por otra parte, la membrana vitelina es inerte y debido a que es impermeable evita que sustancias tóxicas del medio ingresen y puedan lesionar al embrión (Rodríguez, 2013, pp. 67). Estos huevos miden aproximadamente de 40-80 micras de largo por 25-50 micras de ancho. Los huevos no fecundados son aquellos que son depositados por las hembras que no se han apareado con los machos.

Los huevos de *Ascaris* spp. son mucho más largos y estrechos y son distinguibles de otros géneros. No poseen membrana vitelina, generalmente no tienen mamelones y su cubierta es muy delgada. Los huevos miden entre 85-90 micras de longitud por 30-40 de ancho. Para que estos huevos no fecundados puedan ser infecciosos, se necesita que sean excretados y que permanezcan de 3 a 4 semanas en suelos húmedos y cálidos. Durante este periodo se desarrollan larvas móviles de primer estadio que se convertirán en larvas móviles de segundo estadio. Bajo condiciones adecuadas de humedad y temperatura los huevos ya podrán infectar tanto a los seres humanos como a los cerdos (Doll y Holland, 2010).

2.5 Ciclo de vida

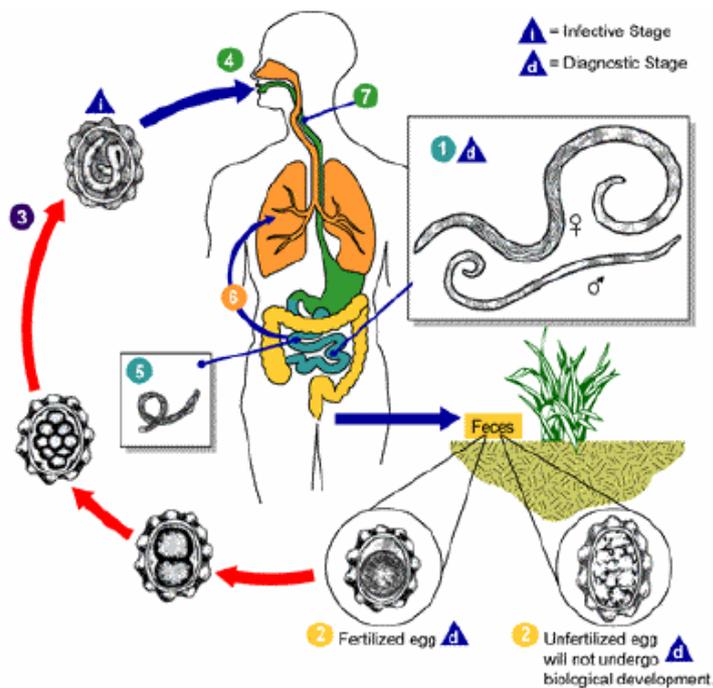


Figura 1 .Ciclo Biológico de *Ascaris* spp

Tomado de Division of Parasitic Disease, 2013

El ciclo es directo, las hembras cuyo hábitat natural es el intestino delgado del hospedero, depositan allí sus huevos fecundados, que son expulsados junto a las heces al medio ambiente. Los huevos no son infectivos de inmediato, deben empezar a desarrollarse antes en el suelo (entre 30 y 40 días), en condiciones favorables tanto de humedad como de temperatura (entre 18 y 25° C). El huevo va a sufrir una división blastomérico desarrollándose a partir de éste el embrión que se transformará en un primer estadio en larva móvil y luego en el segundo estadio el cual ya es infectante (Rodríguez, 2013, p.65).

Los huevos infectantes al ser ingeridos por el hombre o el cerdo, alcanzan la primera porción del duodeno. Luego, dicha larva que mide entre 200 a 300 micras perforará la membrana ovular por uno de sus polos, penetrará la pared intestinal, llegando a los vasos mesentéricos y en 24 horas mediante la vena porta llegará al hígado en donde permanecerá de 3-5 días. Posteriormente,

aumentará de tamaño hasta llegar a medir 900 micras de longitud y alcanzará el tercer estadio. Luego continuará su migración mediante las “*venas suprahepáticas, vena cava inferior, aurícula y ventrículo derecho, arterias pulmonares, y pasará a través de la membrana alvelocapilar*” (Doll y Holland, 2010). De esta forma llegará a los alveolos en donde mudará y se convertirá en larva de cuarto estadio. A la vez que cambia de estadio incrementa su tamaño hasta 1.5 cm, luego sube por los bronquiolos, bronquios, tráquea y es deglutida, pasando por el esófago, estómago y finalmente regresa al intestino delgado. En el intestino se transformará en larva de quinto estadio y se desarrollará hasta lograr alcanzar la madurez sexual 50 días después de ocurrida la infección. Posteriormente ocurre la fecundación y 10 días después se pueden encontrar los huevos en el material fecal (Rodríguez, 2013, p.70).

2.6 Formas de Transmisión

La contaminación biológica producida por los parásitos es una de los más importantes, debido a los efectos nocivos que originan en la salud (Álvarez y Kuri, 2012, p.153).

Los estadios son el conjunto de etapas y transformaciones que experimenta un parásito a través de su desarrollo (Guarnera, 2013). El principal mecanismo de transmisión de *Ascaris* spp., se produce mediante la ingesta de alimentos y agua contaminada con los huevos infectantes de *Ascaris* spp., en el segundo estadio (L2) (Databio, 2016).

Otra forma de transmisión es principalmente durante el trabajo de laboratorio, a través del contacto directo de las mucosas con los huevos embrionarios y por la penetración de las larvas L2 a través de la piel (Databio, 2016).

2.7 Epidemiología

Ascaris spp. es un parásito cosmopolita y el más común de los nemátodos. Se encuentra distribuido en zonas templadas y tropicales del mundo, pero en particular en las zonas rurales en donde las condiciones higiénicas y socioeconómicas son deficientes. Este nemátodo ha infectado a 1.200 millones de personas en todo el mundo, siendo las infecciones más comunes en el África subsahariana, Asia oriental, China, América del Norte y del Sur. En el Ecuador se estima que un 8% de la población se encuentra infecta por *Ascaris* spp., según lo calculado por el Ministerio de Salud (James, et al, 1982).

Los dos factores principales que incrementan la endemia del parásito son las características favorables del suelo y su contaminación con heces. La ascariasis se presenta en todas las edades, pero en una mayor frecuencia en los niños menores de 12 años, debido a sus deficientes hábitos de higiene personal y a que comúnmente tienen mayor contacto con el suelo. Asimismo, la infección se puede producir por la ingestión de verduras regadas con aguas negras, y por el agua y alimentos contaminados con heces. Además, cabe recalcar que el fecalismo al aire libre es una importante fuente de contaminación, debido a que el material fecal que contiene los huevos del parásito puede ser diseminado con facilidad.

2.8. Patología

Ascariasis es el término empleado para describir el espectro de los síntomas de la enfermedad observados tanto en humanos como en los cerdos infectados. Los efectos patógenos de *Ascaris* spp. se deben a la acción mecánica de los gusanos adultos y a los efectos que tienen éstos en la alimentación del hospedero (James, et al, 1982).

Fase larvaria: Las formas larvarias que pasan la membrana alveolar y llegan hasta el parénquima pulmonar provocan lesiones mecánicas acompañadas de procesos congestivos e inflamatorios fugaces con eosinofilia local y sanguínea. De igual manera se produce fiebre elevada, disnea, tos y estertores bronquiales. Este cuadro es conocido con el nombre de síndrome de Loeffler o neumonía eosinofílica y dura aproximadamente una semana.

Fase de estadio: El nemátodo adulto produce diferentes tipos de efectos en el ser humano tales como: toxicidad, expoliatriz, mecánica, inflamatoria, irritativa o traumática. De igual forma, *Ascaris* spp. genera una pequeña equimosis en las mucosas en donde ocurre su implantación se asocia a una infección bacteriana y con el desarrollo de abscesos.

La acción expoliatriz está directamente relacionada con la cantidad de *Ascaris* spp. en el intestino, algunos ocasionan daños mínimos, mientras que algunas docenas de parásitos son responsables de un marcado retardo en el crecimiento. La acción expoliatriz es selectiva y emplea gran cantidad de fósforo, vitamina C y glúcidos. Además, cuando el paciente es sensible o existe una parasitosis masiva se observa una marcada acción irritativa de la mucosa intestinal la cual se manifiesta clínicamente por síndrome diarreico, palidez, anorexia, pérdida de peso y malestar general (Koushik, Punam y Sandipan ,2015).

El consumo por parte de los parásitos de los carbohidratos y de los alimentos que el hospedero ingiere unido a la acción del inhibidor tripsina producido por *Ascaris* spp., interfiere directamente en la digestión y aprovechamiento de los nutrientes y las de proteínas. Por esta razón esta parasitosis contribuye a la desnutrición y trae como consecuencia problemas en el crecimiento normal de los niños.

En ciertas ocasiones, especialmente en aquellos pacientes que presentan parasitosis masiva, se producen ciertas complicaciones con cuadros clínicos que requieren intervención quirúrgica. Estos casos son: oclusión intestinal y subocclusión (debido a la acumulación de parásitos en una porción del tubo digestivo), invaginación, vólvulos, perforación, diverticulitis, apendicitis, obstrucción laríngea y accesos hepáticos.

Migraciones erráticas: ocurren alteraciones graves e incluso fatales cuando *Ascaris spp.* en forma de larva o también de adulto presenta migración errática, pudiendo ser regurgitado y expulsado por la boca , escapar por la nariz , invadir la vesícula , las vías biliares , el apéndice, los riñones , el hígado , el conducto auditivo externo , el conducto lagrimal, la vejiga y la cicatriz umbilical ,entre otras.

2.9 Diagnóstico

El diagnóstico se realiza mediante la observación de los parásitos o sus productos. Por ejemplo, la expulsión espontánea de los gusanos por la boca, el ano, la nariz e inclusive en ciertas ocasiones por el esputo. Mediante el uso de Rayos X se puede detectar las sombras de los gusanos en el intestino, cuando en el estudio por radiografía se utiliza material de contraste como el sulfato de bario (Koushik, Punam y Sandipan ,2015).

2.9.1 Presencia de huevos en las heces

Entre las diversas técnicas existentes para el diagnóstico parasitario destaca la observación de huevos en las muestras fecales. Los huevos son detectados a través de coproparasitoscópico (CPS) directo (Perteguera, et al, 2004).

Los estudios que persiguen una estimación de la intensidad de la infección emplean normalmente la técnica de Kato Katz. Este método fue desarrollado por Kato y Miura en 1954 y antiguamente se lo denominaba como frote grueso. Luego Komiya Kobashi y Martin Beaver modificaron la técnica, haciendo pasar el material fecal a través de una malla para así evitar el paso de fibras y restos alimenticios no digeridos, mejorando la técnica original. En cuanto al reporte de resultados estos nos proporcionan la concentración de huevos por gramos de heces. Cabe recalcar que a menudo se omiten la presencia de huevos no fertilizados cuando se emplea esta técnica.

El examen coproparasitoscopico es el estudio del material fecal para la búsqueda e identificación de formas parasitarias intestinales, el mismo que puede ser cualitativo o cuantitativo. Las muestras son seriadas en un mínimo de tres y deben ser colocadas en frascos de boca ancha y guardada en lugares frescos, para evitar la destrucción de los quistes mientras se analizan.

El examen microscópico directo también se suele emplear para el diagnóstico de *Ascaris spp*. En este estudio, el material fecal recién expulsado por parte de los pacientes es el más utilizado, debido a que en estas condiciones (gracias al uso de lugol) se puede identificar fácilmente los quistes de *Ascaris spp* . Este examen se realiza en fresco, y es rápido, sencillo y económico. Sin embargo, la muestra obtenida es pequeña y poco representativa, lo que puede llevar a confusiones en el diagnóstico (Simsek, et al, 2016).

2.9.2 Biometría hemática

La Biometría hemática completa ayuda al diagnóstico, ya que revela la eosinofilia que se presenta durante la fase de migración de las larvas a los pulmones. Los

eosinófilos incrementan entre un 30 a 50% por encima de los parámetros de referencia.

2.9.3 Inmunodiagnóstico

Los individuos infectados con *Ascaris* spp. generan anticuerpos, los cuales se pueden medir con métodos inmunoenzimáticos (ELISA). En la actualidad se realiza la detección de IgG4 mediante un antígeno somático del parásito, que tiene una excelente especificidad para el serodiagnóstico. Las concentraciones séricas de IgE, IgG4 e IgG1 se encuentran directamente relacionadas con el número de huevecillos y la intensidad de la infección de tal modo que generalmente se encuentran elevadas durante la infección en etapas tempranas.

2.10 Tratamiento

Varios antihelmínticos modernos son más eficaces y menos tóxicos que los remedios naturales como la santonina, los cristaloides de hexilresorcinol, y el aceite de quenopodio.

Los medicamentos más adecuados son: piperazina, el parbendazol, el tartrato y el levamisol. El antihelmíntico más utilizado es el adipato de piperacina en dosis de 300 a 400 mg/ kg por vía oral. El parbendazol en dosis de 30 mg/kg por vía oral es 100 % efectivo. El tartrato también es 100 % efectivo en dosis de 8.5 mg/ kg por vía oral. El levamisol en dosis de 8mg/kg cuenta con una efectividad de 99 a 100% por vía oral. También se ha utilizado la higromicina B, con resultados variables. Las complicaciones como la oclusión y la perforación intestinal, así como la penetración del apéndice y la obstrucción de los conductos biliares deben ser tratadas quirúrgicamente (Niichiro, Kazunari y Isao ,2005)

2.11 Medidas de prevención

Las medidas de profilaxis son de tipo ambiental e individual. El ciclo de vida, así como los patrones epidemiológicos influyen directamente en el diseño de estrategias para el control de la infección producida por *Ascaris* spp. La cantidad de huevecillos, su durabilidad y supervivencia en el suelo impacta a su capacidad para infectar al hospedero. El control a largo plazo y la erradicación de *Ascaris* spp. recae en establecer una serie de medidas sanitarias para evitar la exposición del suelo y del agua al material fecal. El saneamiento ambiental ayuda a interrumpir la transmisión, previene la reinfección y contribuye a la disminución gradual del parásito. La construcción de instalaciones sanitarias adecuadas se facilita mediante la educación a la salud, higiene familiar y los cambios en el comportamiento relacionados con el medio ambiente. Es de vital importancia la educación sanitaria permanente en las comunidades. Se debe hacer énfasis en cómo mejorar los hábitos de higiene personal, tales como: lavarse las manos, lavar las frutas y vegetales con agua y desinfectante, pues es la única forma de matar a los huevecillos y por otra parte, no usar las heces humanas como fertilizantes.

2.12 Diagnóstico de *Ascaris* spp. mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La Biología Molecular es la ciencia que se encarga de estudiar a los organismos desde el punto de vista de la información genética, es decir, el material genético de los seres vivos que radica en el compendio de información que revela la función, las propiedades y forma de los mismos, los cuales se desarrollaran en función de su relación con el medio ambiente. (Maldonado, 1998, p.10).

Es notable el gran arsenal de técnicas que se han venido desarrollando a partir del conocimiento cada vez más profundo de la Biología Molecular. El poder de

las mismas es incomparable y gracias a ellas se ha podido desarrollar una gran variedad de pruebas diagnósticas excepcionales teniendo un impacto positivo en el campo de la salud. Una de las principales técnicas de la Biología Molecular empleada para el diagnóstico de enfermedades es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). La PCR es uno de los más grandes avances de la Biología Molecular y fue desarrollada en 1986 por el científico Kary Mullis. Esta técnica se trata de una reacción enzimática *in vitro*, la cual amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en donde la secuencia blanca es copiada fielmente (Tamay, Ibarra y Velasquillo, 2013)

La PCR aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad natural de sintetizar el ADN de la células. Cada ciclo de la PCR se lleva a cabo en tres etapas principales.

Desnaturalización: en esta fase las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95° C de 20 a 30 segundos.

Hibridación: en esta fase, los cebadores se alinean en el extremo 3' del molde, (el cual fue previamente separado) e hibridaran con su secuencia complementaria.

Extensión: constituye la última etapa del proceso y en ella la Taq polimerasa empieza a actuar sobre el complejo molde cebador. La enzima inicia su función catalítica a una velocidad muy rápida, añadiendo dNTP's complementarios, para poder generar las cadenas completas de ADN. La extensión de las cadenas se realiza siempre en dirección 5' a 3'. Al final del ciclo, se obtendrán amplicones del tamaño diseñado por el investigador (Tamay, Ibarra y Velasquillo, 2013). Los desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTP's) son aquellos monómeros que forman parte del ADN, cuenta con la misma estructura que los nucleótidos: un grupo fosfato, una base nitrogenada y una pentosa (una azúcar de cinco carbonos). Estos grupos trifosfatos se los puede encontrar en la posición 5' y son empleados

como precursores en la reacción de polimerización del ADN durante la PCR (Brown, 2000). La PCR es actualmente una de las principales técnicas utilizadas para el diagnóstico de enfermedades parasitarias, debido a que posee una mayor especificidad y sensibilidad diagnóstica. Por lo tanto, esta técnica es útil para detectar un bajo número de parásitos en muestras de heces, lo cual disminuye la probabilidad de obtener falsos negativos (Tavares et al., 2011). Además, esta técnica no se ve influenciada por factores ambientales, que por lo general interfieren en los resultados de las técnicas aplicadas a las muestras de heces, asegurando así resultados altamente confiables (Stefański, 2004). Mediante estudios epidemiológicos moleculares se han examinado regiones del ADN nuclear y del ADN mitocondrial (mtDNA): el primer espacio transcrito interno (ITS1), subunidad 1 del gen citocromo c oxidasa (cox1) y la NADH deshidrogenasa subunidad 1 (nad1), para la identificación de *Ascaris* spp. Algunos marcadores genéticos como el primer espacio transcrito interno (ITS 1) de la región del ADN del ribosomal nuclear (rDNA) y secuencias mitocondriales, han sido empleados como herramientas moleculares para el diagnóstico de *Ascaris* spp (Anderson, 1995).

El ADN mitocondrial (mtDNA) proporciona marcadores genéticos alternativos para la diferenciación e identificación de especies de nemátodos estrechamente relacionados. La gran mayoría de los metazoos cuentan con un genoma mitocondrial compacto y circular que tiene aproximadamente 14 a 20 kb de longitud. Por estas razones las secuencias del mtDNA se han utilizado ampliamente como marcadores genéticos para la identificación de *Ascaris* spp. (Liu, 2011).

La extracción de ADN y la amplificación de la subunidad 1 del gen citocromo c oxidasa (COX1) a partir de los huevos de *Ascaris* spp. se ha optimizado principalmente para el análisis de poblaciones en parasitología (Poppy y Peter, 2015). Esta técnica empleada para el diagnóstico en muestras de heces, permite

la detección altamente sensible y específica de *Ascaris* spp., particularmente a partir de la amplificación de huevos individuales. El citocromo c forma parte de la cadena respiratoria y su principal función es catalizar la reducción de oxígeno en agua. El gen COX1 es uno de más conservados en el genoma mitocondrial de *Ascaris* spp. (Paul, Sujeevan, Jeremy, 2003).

3. Capítulo III. Metodología

3.1 Diseño del plan experimental

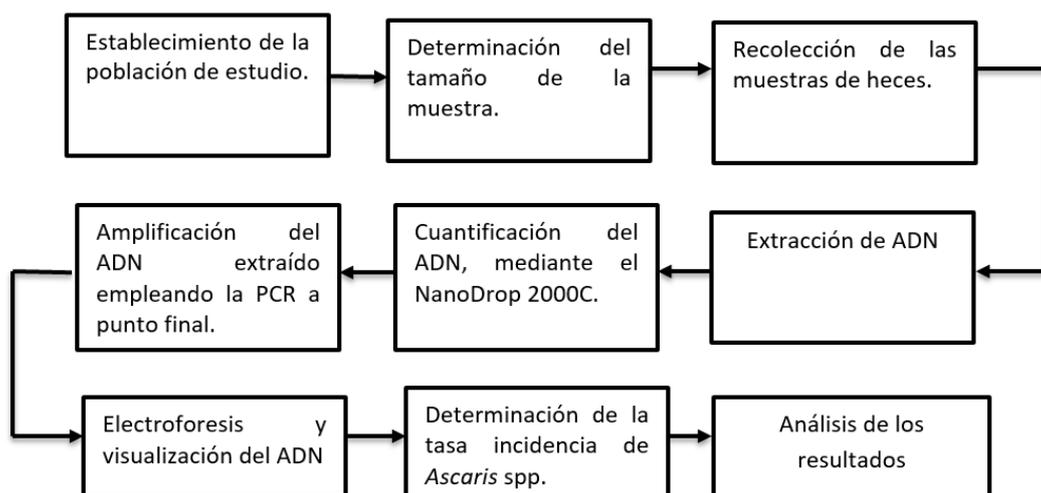


Figura 2. Diseño experimental

3. 2 Procedimientos

3.2.1 Población y muestra

Se estableció como la población de estudio a los niños menores de 12 años del Ecuador. Las muestras de heces fueron tomadas de niños que se encuentran cursando el sexto y séptimo año de básica en el Ecuador en el año 2016.

Por otra parte, para el cálculo del tamaño de la muestra se empleó la fórmula para variables cualitativas de población infinita (Pérez, et al, 2014). El cálculo se lo realizó por región (costa, sierra y oriente). El total de la muestra corresponde a la sumatoria de las regiones. Los valores de prevalencia de cada región fueron proporcionados, por el programa ‘PROPAD’. Cabe recalcar que las muestras fueron seleccionadas de forma aleatoria.

Los factores que se tuvieron en cuenta y los cálculos realizados para la determinación del tamaño de la muestra fueron los siguientes:

$$n = \frac{Z^2_{\alpha/2} \rho(1 - \rho)}{E^2}$$

Dónde:

(Ecuación 1)

ρ : Prevalencia estimada de la variable

Z: Nivel de confianza

E: Margen de error aceptable

Cálculos:

Costa

$$n = \frac{(1,96)^2 0,028(1-0,028)}{(0,03)^2} = 117$$

(Ecuación 2)

ρ : 0,028

Z: 1,96

E: 3 %

Sierra

$$n = \frac{(1,96)^2 0,014(1-0,014)}{(0,03)^2} = 60$$

(Ecuación 3)

ρ : 0,014

Z: 1,96

E: 3 %

Oriente

$$n = \frac{(1,96)^2 0,014(1-0,106)}{(0,03)^2} = 405 \quad (\text{Ecuación 4})$$

ρ : 0,106

Z: 1,96

E: 3 %

Cálculo final del tamaño de la población

Total: 580

Las muestras fueron recogidas en todo el territorio ecuatoriano por parte del Programa Nacional para el Abordaje Multidisciplinario de las Parasitosis Desatendidas en el Ecuador "PROPAD" desde el año 2014 hasta el 2016 (Anexo 1). Las mismas que fueron preservadas en etanol al 70% a -80°C.

3.2.2 Aspectos Bioéticos y Sociales

Para la realización de este proyecto cada participante o representante legal fue informado en reuniones previas a la visita del equipo de investigación. Asimismo, a cada uno de los participantes del estudio se les informó del tipo de muestras biológicas solicitadas (muestras de heces) y de los beneficios que supone la participación en el estudio (Anexo 7).

Además, cada participante o representante legal firmó el consentimiento informado antes de que se realizaran los procedimientos para la obtención de las muestras. Los mismos fueron aprobados por el Comité de Ética y Bioética para la Investigación de la Universidad de Las Américas (CEBE-UDLA) y el Comité de Bioética de la Universidad Central del Ecuador. El proyecto cuenta además con la autorización del Ministerio de Salud Pública del Ecuador y con el permiso MAE para la ejecución del mismo.

3.3 Materiales y métodos para la obtención de los datos

3.3.1 Extracción de ADN

En la extracción de ADN de las muestras fecales se empleó el juego de reactivos kit MegaZorb DNA Mini-Prep de Promega (PROMEGA, Estados Unidos), el procedimiento se detalla a continuación: Primero, se descongelaron las muestras a 56 °C durante un minuto, luego las muestras que se encontraban suspendidas en etanol fueron centrifugadas durante cinco minutos a 14.000 rpm y se extrajo el conservante con la ayuda de una micro pipeta. A continuación, se pesó 50 mg de las muestras que previamente fueron centrifugadas. Posteriormente se lavó las muestras con 700 µl de PBS 1X, seguidamente las muestras fueron homogenizadas en el vortex hasta encontrarse las mismas completamente dispersas. Luego, se las centrifugó durante a 14.000 rpm durante 5 minutos y se removió el sobrenadante. Las muestras fueron lavadas, homogenizadas y centrifugadas por dos ocasiones más a las mismas condiciones anteriormente mencionadas.

3.3.1.1 Lisis

Para la lisis se añadió 250 µl de PBS 1X y se homogenizó las muestras en el vortex hasta lograr obtener una suspensión homogénea de las muestras fecales. A continuación, se agregó 20 µl de proteinasa K en la suspensión de células y se las homogenizo con la ayuda del vortex. Posteriormente se colocó directamente en la suspensión de células fecales 200 ul de buffer de lisis y se mezcló por vortex durante 15 segundos. Finalmente, las muestras fueron incubas durante 10 minutos a 56 °C.

3.3.1.2 *Binding*

Posteriormente las muestras fueron homogenizadas por vortex y se añadió 500 µl de *Binding Buffer* y se homogenizó nuevamente en el vortex por 15 segundos. Seguidamente se incubó las muestras a temperatura ambiente durante 10 minutos y se las mezcló ocasionalmente cada 2 minutos. A continuación, se sedimentó las partículas MagaZorb (perlas magnéticas, donde se adhiere el ADN) por 3 minutos empleando un rack magnético, seguidamente se extrajo el sobrenadante cuidando de no perder las partículas del MagaZorb.

3.3.1.3 Lavados

Luego se añadió 700 µl de *Wash Buffer*, se mezcló en el vortex, posteriormente se sedimentó por 3 minutos en el rack magnético, mezclando ocasionalmente y se retiró el sobrenadante con la ayuda de una micropipeta. Estos pasos fueron repetidos por dos ocasiones más. Seguido al último lavado se retiró todo el remanente del sobrenadante que se encontraba en el último lavado, hasta que el mismo se encontrase completamente seco.

3.3.1.4 Elución

Para la elución se añadió 100 µl de *Elution Buffer*, se mezcló manualmente hasta que las partículas del MagaZorb se encontrasen completamente dispersas y se las incubó por 10 minutos a 56°C. A continuación, se colocaron los tubos nuevamente en el rack magnético dejando sedimentar las partículas durante 3 minutos para finalmente transferir 100 µl del sobrenadante a un nuevo tubo. El ADN fue almacenado a -20°C.

3.3.2 Cuantificación ADN

La cuantificación del ADN se realizó mediante espectrofotometría, empleando un NanoDrop 2000C (Thermo, Estados Unidos). Para limpiar las superficies ópticas superiores e inferiores del aparato se colocaron dos microlitros de agua destilada durante dos minutos. A continuación se realizó la medición con un blanco, utilizando 1 µL del buffer de elusión se procedió a calibrar el equipo, este procedimiento se lo efectuó por cada 12 mediciones. Las mediciones del ADN total se realizaron tomando 1 µL de las muestras. Todas las mediciones se las efectuó por duplicado para garantizar una adecuada lectura.

3.3.3 Reacción en cadena de la polimerasa a punto final (PCR)

En la PCR se emplearon los cebadores AsCoiF y AsCoiR, para la amplificación de un fragmento de la subunidad 1 del gen citocromo c oxidasa (COI). Mismo que se encuentra conservado a nivel del género *Ascaris spp.* Tomando como referencia los genes EU582499 y AB591805 (números de acceso de GenBank) el fragmento amplificado generaría un amplicon de 192 pb. Los cebadores fueron sintetizados por la empresa Eurofins genomic.

Tabla 1.

Secuencia de los cebadores AsCoiF y AsCoiR

Nombre	Secuencia (5'-3')	Longitud	Gen Blanco pb	Ref.	Parasito
AsCoiF	GGAGGTTTTTGGGTCTT TGG	20	192	EU58249 9	<i>Ascaris suum/lumbricoides</i>
AsCoiR	CCAAACAAGGTAGCCAA CCA	20		AB59180 5	

La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se efectuó utilizando el juego de reactivos kit GoTaq Flexi DNA Polymerasa de Promega, siguiendo las instrucciones del fabricante, las cuales se detallan a continuación (Ver tabla 2):

La región COX1 fue amplificada usando 5.0 μ l de ADN, 1x de PCR Buffer, 1.5 mM MgCl₂, 200 μ M de mix de nucleótidos, 0.2 μ M de cada cebador AsCoiF y AsCoiR y 1,25 U/ μ l. El volumen total de la reacción fue de 25 μ l (Promega, Estados Unidos).

Tabla 2:

Concentraciones y volúmenes de reactivos empleados para la amplificación del gen COX1 de Ascaris spp.

REACTIVO	Stock	Unidades	Conc. Final	Unidades	Volumen 1Rx	Unidades
PCR Buffer	5	X	1	X	5	ul
MgCl ₂	25	mM	1,5	mM	1,5	ul
dNTPs	10000	μ M	200	μ M	0,5	ul
Go Taq promega	5	U/ μ l	1,25	U/ μ l	0,25	ul
F	10	μ M	0,2	μ M	0,5	ul
R	10	μ M	0,2	μ M	0,5	ul
ADN					5	ul
Agua PCR					11,75	ul
				TOTAL	25	ul

La amplificación fue realizada en el *Termociclador Mastercycler® gradient, EPPENDORF*, con las siguientes condiciones : 5min a 95°C (denaturación inicial), 34 ciclos de 15 segundos a 94°C (denaturación), 45 segundos a 60°C (hibridación), 30 segundos a 72°C (Extensión), 5 minutos a 72°C (Extensión Final) y almacenamiento a 4°C (tabla 3).

Tabla 3.

Condiciones de amplificación del gen COX1 de Ascaris spp.

	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Denaturación inicial	95°C	5min	1
Denaturación	94°C	45 seg	34
Hibridación	60°C	45 seg	34
Extensión	74°C	45 seg	34
Extensión Final	72°C	5min	1
Almacenamiento	4°C	1 5 min	

Se utilizó como control positivo el ADN extraído a partir del parásito puro *Ascaris suum* en una concentración de 100 ng/μl.

3.3.4 Electroforesis y Visualización de ADN

La visualización de los amplicones se realizó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2% en TBE 1X, teñido con *Syber® Safe*. Se cargó el gel con 6 μl del ADN amplificado y se cargaron 3μl de 100 pb Plus ADN *Ladder* como marcador de peso. La corrida electroforética se realizó a 120 voltios (V) durante 41 minutos, posteriormente el gel se lo visualizó en un fotodocumentador de luz UV.

3.3.5 Determinación de la prevalencia puntual.

La prevalencia puntual fue determinada a partir de la detección de *Ascaris spp.* a través de la PCR. Para la elaboración de las tablas se utilizó el software *Epidat* versión 4.2.

4. Capítulo IV. Resultados

4.1 Detección de *Ascaris* spp en muestras fecales de niños en edad escolar.

Para la detección de *Ascaris* spp. en muestras fecales de niños en edad escolar en el Ecuador, se amplificó la subunidad 1 del gen citocromo c oxidasa (COX1) empleando los cebadores AsCoiF y AsCoiR y considerando como resultado positivo la presencia de una banda de 192pb. Como control positivo se empleó el ADN extraído a partir de un espécimen adulto de *Ascaris suum*. En la figura 2 se puede observar una electroforesis representativa del análisis realizado para las 580 muestras estudiadas (Figura 2).

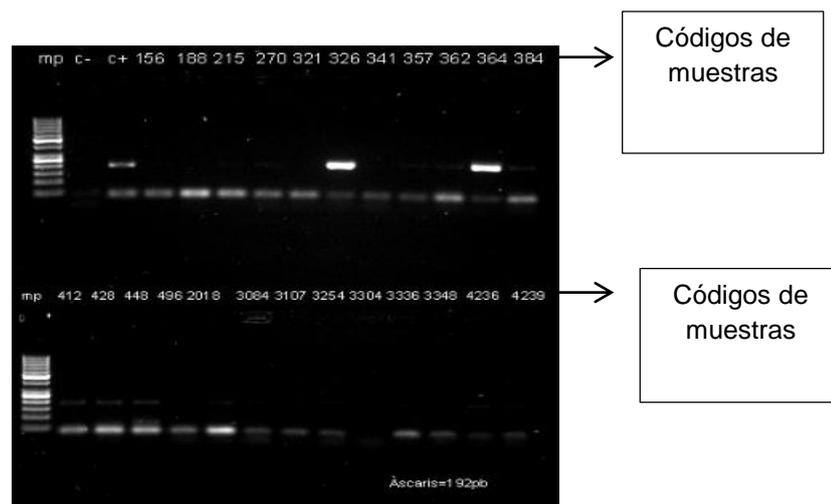


Figura 3. Electroforesis en Gel de Agarosa para la PCR utilizada en la detección de *Ascaris* spp.

Líneas 1 y 14 contienen un marcador de Peso Molecular (mp) de 50 pb. Línea 2 control negativo (C⁻), línea 3 control positivo (C⁺) de *Ascaris summ*. En las líneas 4-13 y 15-27 contienen las muestras de ADN de heces humanas codificadas entre 156-4339.

Se realizó la extracción y amplificación de 580 muestras de ADN obtenidas a partir de las muestras de heces fecales que fueron recolectadas por parte del personal del programa PROPAD, en las regiones Costa, Sierra y Oriente.

En la región Costa se analizaron 140 muestras, dando como resultado 25 muestras positivas. En la región Sierra se amplificaron 100 muestras de las cuales ninguna resultó positiva y en la región Oriente se analizaron 340 muestras, obteniendo cuatro muestras positivas. En total se obtuvieron 29 muestras positivas de las 580 muestras estudiadas.

4.2 Prevalencia puntual de *Ascaris* spp. en niños de edad escolar en el Ecuador, a partir de resultados obtenidos por diagnóstico molecular.

Para la determinación de la Prevalencia puntual se empleó la siguiente fórmula

$$\text{Prevalencia Puntual} = \frac{Ct}{Nt} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Ct= número de casos existentes en un momento determinado.

Nt= número total de individuos en la población en ese momento determinado.

La prevalencia puntual de la región Costa fue del 18% durante el año 2016 como se puede observar:

$$Ct = 25$$

$$Nt = 140$$

$$\text{Prevalencia Puntual} = \frac{25}{140} \times 100\%$$

$$\text{Prevalencia Puntual} = 18\% \quad (\text{Ecuación 6})$$

En el análisis de las muestras recolectadas en la Región Costa se encontró que el 18% de la población estudiada se encontraba infectada por *Ascaris* spp. y el 82% no se encontraba infectado.

La frecuencia en la cual se presenta *Ascaris* spp. en la población estudiada en la Región Costa es del 18% (Tabla 1).

Tabla 4.

Frecuencia de resultados positivos y negativos en el detección de Ascaris spp., en muestra de heces humanas en la Región Costa.

VALOR	FRECUECIA	PORCENTAJE
Negativo	115	82,14
Positivo	25	17,86
Ausencia	0	0,00
Total	140	100,00

La prevalencia puntual de la región Sierra fue del 0% durante el en el año 2016 como se puede observar:

$$Ct= 0$$

$$Nt= 100$$

$$\text{Prevalencia Puntual} = \frac{0}{100} \times 100\%$$

$$\text{Prevalencia Puntual} = 0\% \quad (\text{Ecuación 7})$$

En el análisis de las muestras recolectadas en Región Sierra se obtuvo como resultado que el 0% se encuentra infectada por *Ascaris* spp. (Tabla 2)

Tabla 5.

Frecuencia de resultados positivos y negativos en el detección de Ascaris spp., en muestra de heces humanas en la Región Sierra.

VALOR	FRECUECIA	PORCENTAJE
Negativo	100	100,00
Ausencia	0	0,00
Total	100	100,00

La prevalencia puntual del Oriente fue del 1,2% durante el año 2016 como se puede observar:

$$Ct= 4$$

$$Nt= 340$$

$$\text{Prevalencia Puntual} = \frac{4}{340} \times 100\%$$

$$\text{Prevalencia Puntual} = 1,2 \% \quad (\text{Ecuación 8})$$

En el análisis de las muestras recolectadas en la Región Oriente se determinó que el 1,2 % de la población estudiada estaba infectada por *Ascaris* spp., mientras que el 98,8% no se encontraba parasitada por *Ascaris* spp.

La frecuencia en la cual se presenta *Ascaris* spp. en la población estudiada en la Región Oriente es del 1,2% (Tabla 3).

Tabla 6.

Frecuencia de resultados positivos y negativos en el detección de Ascaris spp, en muestra de heces humanas en la Región Oriente.

VALOR	FRECUECIA	PORCENTAJE
Negativo	336	98,82
Positivo	4	1,18
Ausencia	0	0,00
Total	340	100,00

La prevalencia total de las regiones Costas, Sierra y Oriente fue del 5% durante el año 2016:

$$Ct= 29$$

$$Nt= 580$$

$$Prevalencia\ puntual = \frac{29}{580} \times 100\%$$

$$Prevalencia\ puntual = 5\% \quad \text{(Ecuación 9)}$$

En el análisis de las muestras recolectadas en todo el N muestral (n=580), se determinó que el 5% de la población se encuentra infectada por *Ascaris* spp., mientras que el 95% no se encuentra parasitada por *Ascaris* spp.

La frecuencia total en la cual se presenta *Ascaris* spp. en la población estudiada es del 5% (Tabla 4)

Tabla 7.

*Resumen de la frecuencia de resultados positivos y negativos en el detección de *Ascaris spp.*, en muestras de heces humanas en tres regiones del Ecuador.*

VALOR	FRECUECIA	PORCENTAJE
Negativo	551	95,00
Positivo	29	5,00
Ausencia	0	0,00
Total	580	100,00

5. Capítulo VI. Discusión

En este estudio, se analizaron 580 muestras (heces) de niños en edad escolar (divididos en tres regiones, Costa (n=140), Sierra (n=100) y Oriente (n=340)) para el diagnóstico de *Ascaris spp.* mediante el empleo de PCR a punto final. Como resultado se obtuvieron 29 muestras positivas y 551 muestras negativas, lo que resultó en un porcentaje de prevalencia del 5% de *Ascaris spp.* en el país; mientras que el porcentaje de prevalencia encontrado por microscopía fue del 3% (INSPI, 2017). En el estudio realizado por Basuni y sus colaboradores (2011) acerca de la detección de *Ascaris spp.*, se obtuvieron resultados similares debido a que la prueba de microscopía logró detectar 42 de 77 muestras positivas para este nemátodo, mientras que la PCR detectó el 100 % de las muestras positivas. De igual manera, en la investigación efectuada por Reyes (2012), en la cual comparó la sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de diferentes parásitos (entre ellos *Ascaris spp.*) entre la Microscopía y la PCR, se concluyó que esta última resulta un 25% más sensible en el detección de *Ascaris spp.* De igual forma, en el trabajo realizado por Leles, Araujo, Vicente y Mayo (2009) referente al diagnóstico molecular de *Ascaris spp.* a partir de heces humanas, determinaron que la PCR resultó un 83,3 % más sensible para el diagnóstico de este nemátodo en relación a las pruebas convencionales. Sin embargo, la PCR puede verse afectada por sustancias inhibitorias. Estas pueden estar presentes

en la muestra analizada y pueden afectar la sensibilidad de la prueba, situación en la cual no logra superar el poder de detección de la microscopía tradicional.

Por otra parte, cabe recalcar que la prevalencia alcanzada en la región Oriente, a partir de los resultados conseguidos por PCR, fue menor a la obtenida en microscopia. Esto puede deberse a que la calidad de ADN obtenida en las muestras analizadas para esta región no se encontraba dentro de los rangos adecuados para el análisis mediante PCR. Esto se evidencia en la cuantificación de ADN, dado que se obtuvieron rangos en el ratio de 260/280 entre 1,86-1,23 ng/ μ l y 260/230 1,95-0,93 ng/ μ l. Estos resultados revelan la presencia de contaminantes en el ADN que afectan al desarrollo de la PCR. Los inhibidores de la PCR son un grupo muy heterogéneo de sustancias químicas, que pueden encontrarse en una gran variedad de materiales biológicos, ambiente e inclusive durante el proceso de extracción de los ácidos nucleicos (Schrader, Schielke, Ellerbroek and Johne, 2012). Las muestras de heces contienen componentes altamente variables dependientes de la nutrición, estilo de vida, flora intestinal y ambiente del paciente. Entre los principales inhibidores que se pueden encontrar en las muestras de heces están: los polisacáridos, o la clorofila procedentes de hierbas y verduras, sales biliares, urea, glicolípidos, hemoglobina y heparina (Schrader, Schielke, Ellerbroek and Johne, 2012). Estudios han revelado que la urea, sales biliares y la heparina son uno de los más importantes inhibidores de la PCR pues su inhibición no es reversible y parece estar dirigida en contra de polimerasa, afectando la capacidad de amplificación (Abu y Radstrom, 2011). También se ha visto que la heparina puede copurificarse con el ADN durante el proceso de extracción y esta inhibición no es reversible por ningún otro proceso, lo que sugiere una similitud entre la heparina y el ADN. Por lo tanto, la inhibición de la heparina puede estar relacionada con su capacidad de competir con el ácido nucleico diana (Abu y Radstrom, 2011). Se sospecha que inhibidores presentes en las muestras pudieron disminuir la capacidad de detección de la PCR, especialmente en las muestras provenientes del oriente (dada la discrepancia observada con respecto a los datos de microscopía). Es necesario

desarrollar varias estrategias para eliminar los inhibidores durante la preparación de la muestra en futuras investigaciones.

Según este estudio, la región Costa es la zona que presenta una mayor prevalencia del parásito, seguido por la región Oriente y luego por la región Sierra. Esto puede deberse a que el parásito prolifera en climas tropicales y subtropicales, logrando permanecer viable en el suelo por aproximadamente 15 años. De la misma manera los climas húmedos, lluviosos y cálidos resultan más favorables para el desarrollo de este parásito, oscilando la temperatura adecuada entre los 22 °C y 33 °C (Yervid, 2015). Esta característica climatológica se puede encontrar en la región de la Costa y Oriente donde las temperaturas promedio oscilan generalmente, entre los 22°C y 28°C, igualmente podemos encontrar la presencia de abundante lluvia sobre todo en los meses de invierno (INIAP, 2010). A diferencia de la región Sierra en donde la temperatura media oscilan entre los 7°C y 21°C, características climáticas que resultan desfavorables para el desarrollo de los huevos de *Ascaris* spp. (Noriega, 2011), debido a que las temperaturas más bajas retardan o detienen su crecimiento e inclusive los lugares con escasa humedad pueden llegar a matar al huevo por desecación (Cavallero et al, 2013).

Además, otro factor que puede incrementar la prevalencia del parásito en la región Costa y Oriente es el nivel socioeconómico, debido a que estas dos regiones presentan los mayores índices de pobreza del 24,5% y 45% respectivamente, mientras que en la región Sierra se presenta únicamente el 16% (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2016).

De igual forma, existe un elevado porcentaje de pobladores de las regiones Costa (34,9%) y Oriente (13,5%) que no tienen acceso a agua potable y mantienen un deficiente sistema de eliminación de excretas. A esto se suma el

hecho de que el 17% de la población de la región Costa aún utiliza letrinas (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2016). Por el contrario, en la región Sierra se encuentran las ciudades que cuentan con el mayor porcentaje de suministro de agua potable, encontrando solo un bajo porcentaje de la población que no cuentan con suministro de agua potable (Cuenca (4,83%), Ambato (4,30%) y Quito (3,99%)). Además, en la región Sierra solo el 0,9% de la población no presenta un correcto sistema de eliminación de excretas, a diferencias de la región Costa (16,6%) y Oriente (17,4%), que cuentan con un deficiente sistema de eliminación (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2013).

Todo esto coincide con el hecho de que la falta de salubridad, higiene personal y familiar; sumado a la pobreza son causas primordiales para aumentar la incidencia del parásito en la población (Álvarez y Kuri, 2012, pp.160)

6.CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Se logró diagnosticar la presencia/ausencia de *Ascaris* spp. en 580 muestras fecales de niños ecuatorianos en edad escolar mediante el empleo de herramientas moleculares.

A partir de los resultados obtenidos se puede afirmar que la PCR a punto final es capaz de detectar la presencia de *Ascaris* spp. en poblaciones ecuatorianas de niños en edad escolar a partir de muestras fecales.

Se estableció que la prevalencia de *Ascaris* spp. en la región Costa es del 18%, en el Oriente del 1,2% y en la región Sierra del 0%. La prevalencia para el país se calculó en un 5%, utilizando herramientas moleculares para dicha determinación.

6.2 Recomendaciones

Se recomienda establecer programas de desparasitación y de educación sanitaria permanentes para las regiones en donde se ha encontrado una mayor prevalencia de *Ascaris* spp.

Se recomienda determinar la sensibilidad y especificidad de la PCR como método de diagnóstico de *Ascaris* spp. en poblaciones ecuatorianas.

Se recomienda efectuar la diferenciación molecular entre *Ascaris lumbricoides* y *Ascaris suum*, para determinar la posible transmisión de este parásito entre cerdos y humanos.

Referencias

- Abu, W y Radstrom, P. (2011). *Purification and Characterization of PCR-Inhibitory Components in Blood Cells*. Recuperado el 3 abril de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11158094>
- Álvarez, R y Kuri, P. (2012). *Salud Pública y Medicina Preventiva: Contaminación del Suelo*. México: Manual Moderno. Recuperado el 5 abril de 2017 de https://books.google.com.ec/books?id=tXTKCQAAQBAJ&pg=PA153&lpg=PA153&dq=Salud+P%C3%BAblica+y+Medicina+Preventiva:+Contaminaci%C3%B3n+del+Suelo&source=bl&ots=rqHyAmnsk8&sig=RaKULiD-U4ChCshmzeJ7F3jGPcE&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjC_duFrMjVAhUoqlQKHTa9BgEQ6AEIJDA#v=onepage&q=Salud%20P%C3%BAblica%20y%20Medicina%20Preventiva%3A%20Contaminaci%C3%B3n%20del%20Suelo&f=false
- Basuni ,M., Muhi ,J., Othman , N., Verweij ,J ., Ahmad , M ., Miswan ,N.,Rahumatullah .,A ., Abdul , F ., Zainudin , N y Noordin, R . (2011). *A Pentaplex Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of Four Species of Soil-Transmitted Helminths*. Recuperado el 5 abril de 2017 de <https://doi: 10.4269/ajtmh.2011.10-0499>.
- Bell,A y Randford,L.(2002). *Real-time quantitative PCR in parasitology*. Recuperado el 15 abril de 2017 de [http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4922\(02\)02331-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4922(02)02331-0)
- Brown, T. (2000). *Genomas/ Genome* (pp. 6-10). México: Panamericana. Recuperado el 5 abril de 2017 de <https://books.google.com.ec/books?id=4tYIcMOdsBwC&pg=PA134&lpg=PA134&dq=Genomas/+Genome&source=bl&ots=YgITj19wAm&sig=Co9LokyuhsD8a3yfDv0RiiLhXWY&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjJ-sD5rMjVAhXIhIQKHx5jBGQQ6AEIKzAC#v=onepage&q=Genomas%2F%20Genome&f=false>
- Brown, W.M. (1985). *The mitochondrial genome of animals. En Molecular Evolutionary Genetics*, R.J. MacIntyre New York: Plenum Press.

- Recuperado el 15 abril de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10101183>
- Carlsgart, J.,Roepstorff, A y Nejsun,P.(2009). *Multiplex PCR on single unembryonated Ascaris (roundworm) eggs*. Recuperado el 15 abril de 2017 de <http://doi: 10.1007/s00436-008-1307-7>
- Cavallero,S., Snabel,V., Pacella,F.,Perrone,V., D'Amelio, S .(2013). *Phylogeographical Studies of Ascaris spp. Based on Ribosomal and Mitochondrial DNA Sequences*. Recuperado el 14 mayo de 2017 de <http://doi: 10.1371/journal.pntd.0002170>.
- Centers for Disease Control and Prevention. *Zoonotic Diseases*.2017. Estados Unidos. Recuperado el 12 de abril de 2017 de <https://www.cdc.gov/onehealth/basics/zoonotic-diseases.html>
- Claudia, L., Sánchez, C, (2008). Una mirada a las enfermedades parasitarias en el país. Recuperado el 12 de abril de 2017 de http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ENSAYO1_5.pdf
- Connell, E y Nutman, T. (2016). *Molecular Diagnostics for Soil-Transmitted Helminths*. Recuperado el 16 de abril de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5014250/>
- Division of Parasitic Disease. (2013). *Lyfe Cycle and Patology of Ascaris*. Imagen. Recuperado el 6 de mayo de 2017 de <https://msu.edu/course/zol/316/alumgut.htm>
- Dold, C y Holland,C.E.(2010). *Ascaris and ascariasis*. Recuperado el 6 de mayo de 2017 de <https://doi10.1016/j.micinf.2010.09.012>
- El Safadi, D., Cian, A., Nourrisson,C., Pereira,B., Morelle,C.,Bastien, P., Bellanger,A.,Botterel, F .,Candolfi, E ., Desoubeaux ,G .,Lachaud, L ., Morio,F.,Pomares, C., Rabodonirina,M., Wawrzyniak, I., Delbac, F., Gantois,N., Certad, G., Delhaes, L., Poirier, P y Viscogliosi,E .(2016). *Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite Blastocystis sp. from a large-scale multi-center study in France*. Recuperado el 6 de mayo de 2017 de <https://doi10.1186/s12879-016-1776-8>.

- Foler, M. , Black, W. , Hoeh, R. , Lutz, y Vrijenhoek, R.(1994). *DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates*. Recuperado el 6 de mayo de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7881515>
- Guarnera, E. (2013). Aspectos esenciales de la interfase de las Zoonosis parasitarias. Buenos Aires: Plenum Press. Recuperado el 8 de mayo de 2017 de https://books.google.com.ec/books/about/Aspectos_esenciales_de_la_interfase_de_I.html?id=5Jk-_UIC7V8C&redir_esc=y
- Harhay, O. H., Horton, J y Olliaro, P. L. (2010). *Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children*. Recuperado el 8 de mayo de 2017 de doi10.1586/eri.09.119.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2013). *El acceso de los ecuatorianos al servicio de agua*. Quito, Ecuador: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2016). *Reporte de Pobreza. Dirección de Innovación en Métricas y Metodologías*. Quito, Ecuador: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (2010). *Manejo de Cultivo de Cacao en Manabí*. Ecuador, Manabí: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2010). En Ecuador hay 4,3 millones de niños y niñas. Quito, Ecuador: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2016). Reporte de Pobreza. Quito, Ecuador: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2016). *Ascaris lumbricoides*. Recuperado el 20 de febrero de 2017 de <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Parasitos/Ascaris%20lumbricoides.pdf>
- Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI. (2016). DETERMINAR LA PREVALENCIA DE LAS PARASITOSIS

DESATENDIDAS EN EL ECUADOR: PROTOZOARIOS Y HELMINTOS.
 Recuperado el 20 de abril de 2017 de
<http://www.investigacionsalud.gob.ec/webs/propad/proyecto-4-determinar-la-prevalencia-de-las-parasitosis-desatendidas-en-el-ecuador-protozoarios-y-helmintos/>

James, L., George, C., Gary, M y Meffe, R. (1982). *Enzyme Polymorphism in Ascaris suum (Nematoda)*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <http://doi10.2307/3280913>

Koushik, D., Punam, C y Sandipan, G. (2015). *Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) based sequence typing reveals phylogenetically distinct Ascaris population*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26504510>

Lamberto, P y Jourdan, P. (2015). Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <http://doi10.1007/s40475-015-0064-9>.

Leles, D., Gardner, S.,Reinhard, K., Iñiguez A y Araujo,A.(2012). Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* a single especies?. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <http://doi10.1186/1756-3305-5-42>.

Maldonado, E. (1998). *Biología Molecular en Medicina*. Guadalajara, México: Editorial Limusa.

Mama, M y Alernu, G. (2016). *Prevalence and factors associated with intestinal parasitic infections among food handlers of Southern Ethiopia: cross sectional study*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <http://doi:10.1186/s12889-016-2790-x>.

Menzies, S., Rodríguez, A ., Chico , M ., Sandoval, C ., Broncano,N Guadalupe, I y Cooper, P . (2014). *Risk Factors for Soil-Transmitted Helminth Infections during the First 3 Years of Life in the Tropics; Findings from a Birth Cohort*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <http://doi:10.1371/journal.pntd.0002718> e2718.

Meurs, L., Brienens, E., Mbow, M.,Ochola, E., Mboup,S., Karanja,D., EvanSecor,W., Polman,K y Lieshout , L. (2015). *Is PCR the Next Reference Standard for the Diagnosis of Schistosoma in Stool?A*

- Comparison with Microscopy in Senegal and Kenya*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de [http// doi10.1371/journal.pntd.0003959](http://doi10.1371/journal.pntd.0003959).
- Min-Jun, X .,Jing-Hua .,F., Nisbet ,A.F., Si-Yang, H .,Dong-Hui ,Z., Rui-Qing ,L ., Hui-Qun ., S y Xing-Quan ., Z .(2012). *Comparative profiling of microRNAs in male and female adults of Ascaris suum*. *Parasitology Research*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de [http//doi10.1007/s00436-012-3250-x](http://doi10.1007/s00436-012-3250-x).
- National Center for Biotechnology Information. (2016). *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*. Recuperado el 6 de marzo de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrf1p/>
- National Center for Biotechnology Information. (2016). *Ascaris lumbricoides haplotype 16 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial*. Recuperado el 7 de marzo de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/182407457/>
- National Center for Biotechnology Information. (2016). *Glossary. Restriction endonuclease*. Recuperado el 15 de marzo de 2017 de:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/glossary/#re>
- Niichiro, A., Kazunari, T and Isao, K. (2005). *Usefulness of PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the Internal Transcribed Spacer Region of rDNA for Identification of Anisakis simplex Complex*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <https://www0.niid.go.jp/JJID/59/60.pdf>
- Nikolay, B., Brooker, S y Pullan, R. (2014). *Sensitivity of diagnostic tests for human soil-transmitted helminth infections: a meta-analysis in the absence of a true gold standard*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4186778/>
- Universidad Católica de Cuenca. (2011). *“PARASITOSIS MAS FRECUENTES CAUSADAS POR HELMINTOS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS”*. Cuenca, Ecuador: Universidad Católica de Cuenca.
- Organización Mundial de la Salud. (2016). La Organización Mundial de la Salud y un conjunto de colaboradores dan a conocer un nuevo plan coordinado para tratar a millones de personas que sufren enfermedades tropicales

- desatendidas. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr60/es/index1.html>
- Universidad de Guayaquil (2001). *PARASITISMO - MANUEL J. CALLE - GUAYAS - ECUADOR; ASCARIS LUMBRICOIDES; MEDICINA TROPICAL; EPIDEMIOLOGIA*. Guayaquil, Ecuador: Universidad de Guayaquil.
- Paul, H., Sujeevan, R y Jeremy, R. (2003). *Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species*. Recuperado el 15 de mayo de 2017 de <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>.
- Perteguera, M., Ortiza, G., García, E., Flores, M., Rodríguez, E., Ubeirab, E y Gárate, T. (2004). *Application of the PCR-RFLP technique for the species-specific identification of nematodes involved in human anisakiasis*. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr60/es/index1.html>
- Pérez, A., Valero, J., Wanden, C., Melian, L y Nut, C. (2014). *The iberoamerican scientific production in nutritional sciences*. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25365023>
- Phuphisut, O., Yoonuan, T., Sanguankiat, S., Chaisiri, K., Maipanich, W., Pubampen, S., Komalamisra, C y Adisakwattana, P. (2014). *Triplex polymerase chain reaction assay for detection of major soil-transmitted helminths, Ascaris lumbricoides, trichuris trichiura, necator americanus, in fecal samples*. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24968666>
- Poppy, H y Peter, M. (2015). *Human Ascariasis: Diagnostics Update*. Current. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <https://doi.org/10.1007/s40475-015-0064-9>.
- Prats, G. (2007). *Microbiología clínica: Parasitología* Mérida, México: Panamericana
- Promega. (2011). MagaZorb® DNA Mini-Prep Kit: *INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS MB1004 AND MB1008*. Recuperado el 6 mayo de 2017 de <https://worldwide.promega.com/>

/media/files/resources/protocols/technical-bulletins/101/magazorb-dna-mini-prep-kit-protocol.pdf

- Promega. (2011). *GoTaq® Flexi DNA Polymerase*. Recuperado el 20 de diciembre de 2016 de <https://worldwide.promega.com//media/files/resources/protocols/product-information-sheets/g/gotaq-flexi-dna-polymerase-m829.pdf>
- Quiroz, H. (2005). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Guadalajara, México: Limusa.
- Rabodonirina, M ., Wawrzyniak, I ., Delbac, F ., Gantois, N., Certad, G ., Delhaes, L ., Poirier†Email, P y Viscogliosi, E. (2016). *Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite Blastocystis sp. from a large-scale multi-center study in France*. Recuperado el 15 de abril de 2016 de <https://doi10.1186/s12879-016-1776-8>.
- Universidad San Francisco de Quito (2012). *Evaluación del RT-PCR en el diagnóstico de 6 parásitos intestinales en un área con parasitismo de baja intensidad en el Trópico, Ecuador*. Quito, Ecuador: Universidad San Francisco de Quito.
- Rodríguez, E. (2013). *Parasitología Médica: Ascaris lumbricoides*. México: Editorial el Manual Moderno.
- Roepstorff, A. (1998). *Natural Ascaris suum infections in swine diagnosed by coprological and serological (ELISA) methods*. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <https://doi10.1007/s004360050444>.
- Scharder, C., Schielke, A., Ellerbroek y Jhone, R. (2012). *PCR inhibitors—occurrence, properties and removal*. Recuperado el 15 de abril de 2016 de <https://doi10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>
- Serpa, A.C., Velecela, S. G. y Balladares, M.F. (2014). Prevalencia de parasitismo intestinal en los niños de la escuela José María Astudillo de la parroquia sinincay. Recuperado el 8 de enero del 2017 de <http://dspace.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/5541/3/PREVALENCIA%20DE%20PARASITISMO%20INTESTINAL%20EN%20NI%C3%91OS.pdf>

- Simsek, E., Ciloglu, A., Aypal, S., Yildirim, A., Selcuk, O., Hakam, A y Zafer, G. (2016). *First Molecular Characterization of Raphidascaaris acus Bloch, 1779 (Nematoda: Anisakidae) from European eels (Anguilla anguilla Linnaeus, 1758) Caught off the Aegean Region Streams, Turkey*. Kafkas. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.14980>.
- Soto, L., Santísima, A., Bornay, F., González, V y Ros, M. (2017). *Quantitative PCR and Digital PCR for Detection of Ascaris lumbricoides Eggs in Reclaimed Water*. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <https://doi.org/10.1155/2017/7515409>.
- Stefański, H. (2004). *Usability of PCR-based techniques for diagnosis of parasitic infections in ruminants*. Recuperado el 8 de abril de 2016 de https://www.jstor.org/stable/1536204?seq=1#page_scan_tab_contents
- Tamay, L., Ibarra, C y Velasquillo, C. (2013). *Tecnología de la Salud. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real*. Recuperado el 10 de abril de 2016 de https://www.jstor.org/stable/1536204?seq=1#page_scan_tab_contents
- Tavares, R., Staggemeier, R., Borges, A., Rodríguez, M., Castelán, L., Vasconcelos, J, Anschau, M y Spalding S. (2011). *Molecular techniques for the study and diagnosis of parasite infection*. Recuperado el 6 de abril de 2016 de https://www.jstor.org/stable/1536204?seq=1#page_scan_tab_contents
- University of Michigan Museum of Zoology. (2014). *Ascaris intestinal roundworms*. Recuperado el 15 de febrero de 2017 de <http://animaldiversity.org/site/accounts/classification/Ascaris.html#Ascaris>
- Vlaminck, J., Nejsun, P., Vangroenweghe, F., Thamsborg, S.M., Vercruyse, J y Geldhof, P. (2012). *Evaluation of a serodiagnostic test using Ascaris suum haemoglobin for the detection of roundworm infections in pig populations*. Recuperado el 8 de abril de 2016 de <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.04.024>.

- Walton, A. (2017). *A Taxonomic and a Cytological Comparison*. Recuperado el 6 de abril de 2016 de https://www.jstor.org/stable/1536204?seq=1#page_scan_tab_contents
- Weis,J.(2012). *DNA probes and PCR for diagnosis of parasitic infections*. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC172851/pdf/080113.pdf>
- Yervid, A. (2015). Factores de riesgo para parasitismo intestinal en niños escolarizados de una institución educativa del municipio de Soracá – Boyacá. Recuperado el 20 de abril de 2016 de <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v17n1/v17n1a10.pdf>

Anexos

Anexo 1. Resultados de las muestras paneadas de la Región Costa.

Numeración	Código interno	Región	Provincia	Resultados
1	156	Costa	Guayas	negativo
2	188	Costa	Guayas	negativo
3	215	Costa	Guayas	negativo
4	270	Costa	Guayas	positivo
5	321	Costa	Guayas	negativo
6	326	Costa	Guayas	positivo
7	341	Costa	Guayas	negativo
8	357	Costa	Guayas	positivo
9	362	Costa	Guayas	positivo
10	364	Costa	Guayas	positivo
11	384	Costa	Guayas	positivo
12	412	Costa	Guayas	positivo
13	428	Costa	Guayas	positivo
14	448	Costa	Guayas	positivo
15	496	Costa	Guayas	negativo
16	557	Costa	Guayas	negativo
17	611	Costa	Guayas	negativo
18	621	Costa	Guayas	negativo
19	635	Costa	Guayas	negativo
20	645	Costa	Guayas	negativo
21	658	Costa	Guayas	negativo
22	660	Costa	Guayas	negativo
23	673	Costa	Guayas	negativo
24	810	Costa	Guayas	negativo
25	818	Costa	Guayas	negativo
26	827	Costa	Guayas	positivo
27	838	Costa	Guayas	negativo
28	903	Costa	Guayas	positivo
29	929	Costa	Guayas	positivo
30	988	Costa	Guayas	positivo

31	1002	Costa	SANTA ELENA	positivo
32	1018	Costa	SANTA ELENA	positivo
33	1040	Costa	SANTA ELENA	negativo
34	1046	Costa	SANTA ELENA	positivo
35	1052	Costa	SANTA ELENA	negativo
36	1757	Costa	Guayas	negativo
37	1813	Costa	Guayas	positivo
38	1814	Costa	Guayas	positivo
39	1843	Costa	Guayas	positivo
40	1863	Costa	Guayas	positivo
41	1872	Costa	Guayas	positivo
42	1936	Costa	Guayas	negativo
43	2018	Costa	Guayas	positivo
44	3084	Costa	El Oro	negativo
45	3107	Costa	El Oro	negativo
46	3254	Costa	El Oro	negativo
47	3304	Costa	El Oro	negativo
48	3336	Costa	El Oro	negativo
49	3348	Costa	El Oro	negativo
50	3376	Costa	El Oro	negativo
51	3386	Costa	El Oro	negativo
52	3439	Costa	El Oro	negativo
53	3441	Costa	El Oro	negativo
54	3443	Costa	El Oro	negativo
55	3526	Costa	Esmeraldas	negativo
56	3628	Costa	Esmeraldas	negativo
57	3856	Costa	Esmeraldas	negativo
58	3892	Costa	Esmeraldas	negativo
59	3914	Costa	Esmeraldas	negativo
60	4070	Costa	Esmeraldas	positivo
61	4101	Costa	Esmeraldas	positivo
62	4144	Costa	Esmeraldas	negativo

63	4155	Costa	Esmeraldas	negativo
64	4175	Costa	Esmeraldas	negativo
65	4236	Costa	Esmeraldas	positivo
66	4239	Costa	Esmeraldas	negativo
67	4259	Costa	Esmeraldas	negativo
68	4262	Costa	Esmeraldas	negativo

69	4336	Costa	Manabí	negativo
70	4350	Costa	Manabí	negativo
71	4426	Costa	Manabí	negativo
72	4465	Costa	Manabí	negativo
73	4470	Costa	Manabí	negativo
74	4481	Costa	Manabí	negativo
75	4487	Costa	Manabí	negativo
76	4501	Costa	Manabí	negativo
77	4523	Costa	Manabí	negativo
78	4612	Costa	Manabí	negativo
79	4674	Costa	Manabí	negativo
80	4696	Costa	Manabí	negativo
81	4744	Costa	Manabí	negativo
82	4795	Costa	Manabí	negativo
83	4809	Costa	Manabí	negativo
84	4860	Costa	Manabí	negativo
85	4882	Costa	Manabí	negativo
86	8323	Costa	Los Ríos	negativo
87	8329	Costa	Los Ríos	negativo
88	8381	Costa	Los Ríos	negativo
89	8386	Costa	Los Ríos	negativo
90	8395	Costa	Los Ríos	negativo
91	8438	Costa	Los Ríos	negativo
92	8483	Costa	Los Ríos	negativo
93	8566	Costa	Los Ríos	negativo
94	8679	Costa	Los Ríos	negativo
95	8781	Costa	Los Ríos	negativo
96	8794	Costa	Los Ríos	negativo
97	8796	Costa	Los Ríos	negativo
98	8819	Costa	Los Ríos	negativo
99	8833	Costa	Los Ríos	negativo
100	8860	Costa	Los Ríos	negativo
101	8892	Costa	Los Ríos	negativo
102	8926	Costa	Los Ríos	negativo
103	8929	Costa	Los Ríos	negativo
104	8939	Costa	Los Ríos	negativo

105	8963	Costa	Los Ríos	negativo
106	10035	Costa	Los Ríos	negativo
107	10046	Costa	Los Ríos	negativo
108	10069	Costa	Guayas	negativo
109	10080	Costa	Guayas	negativo

110	10081	Costa	Guayas	negativo
111	10092	Costa	Guayas	negativo
112	10141	Costa	Guayas	negativo
113	10160	Costa	Guayas	negativo
114	10197	Costa	Guayas	negativo
115	10201	Costa	Guayas	negativo
116	10241	Costa	Guayas	negativo
117	10248	Costa	Guayas	negativo
118	10311	Costa	Guayas	negativo
119	10342	Costa	Guayas	negativo
120	10347	Costa	Guayas	negativo
121	10363	Costa	Guayas	negativo
122	10364	Costa	Guayas	negativo
123	10409	Costa	Guayas	negativo
124	10418	Costa	Guayas	negativo
125	10419	Costa	Guayas	negativo
126	10420	Costa	Guayas	negativo
127	10441	Costa	Guayas	negativo
128	10443	Costa	Guayas	negativo
129	10477	Costa	Guayas	negativo
130	10496	Costa	Guayas	negativo
131	10549	Costa	Guayas	negativo
132	10567	Costa	Guayas	negativo
133	10572	Costa	Guayas	negativo
134	10575	Costa	Guayas	negativo
135	10576	Costa	Guayas	negativo
136	10585	Costa	Guayas	negativo
137	10593	Costa	Guayas	negativo
138	10605	Costa	Guayas	negativo
139	10624	Costa	Guayas	negativo
140	10640	Costa	Guayas	negativo

Anexo 2. Resultados de las muestras paneadas de la Región Sierra.

Numeración	Código interno	Región	Provincia	Resultados
-------------------	-----------------------	---------------	------------------	-------------------

1	96	Sierra	Loja	Negativo
2	110	Sierra	Loja	Negativo
3	1229	Sierra	Imbabura	Negativo
4	1288	Sierra	Imbabura	Negativo
5	1303	Sierra	Imbabura	Negativo
6	1510	Sierra	Imbabura	Negativo
7	1525	Sierra	Imbabura	Negativo
8	1577	Sierra	Pichincha	Negativo
9	1585	Sierra	Pichincha	Negativo
10	1654	Sierra	Pichincha	Negativo
11	1688	Sierra	Pichincha	Negativo
12	1715	Sierra	Pichincha	Negativo
13	1724	Sierra	Pichincha	Negativo
14	2085	Sierra	Pichincha	Negativo
15	2103	Sierra	Pichincha	Negativo
16	2149	Sierra	Pichincha	Negativo
17	2150	Sierra	Pichincha	Negativo
18	2268	Sierra	Pichincha	Negativo
19	2308	Sierra	Pichincha	Negativo
20	2363	Sierra	Pichincha	Negativo
21	2470	Sierra	Pichincha	Negativo
22	2513	Sierra	Pichincha	Negativo
23	2523	Sierra	Pichincha	Negativo
24	2548	Sierra	Pichincha	Negativo
25	2603	Sierra	Pichincha	Negativo
26	2640	Sierra	Azuay	Negativo
27	2665	Sierra	Azuay	Negativo
28	2822	Sierra	Azuay	Negativo
29	2864	Sierra	Azuay	Negativo
30	2900	Sierra	Azuay	Negativo
31	2929	Sierra	Azuay	Negativo
32	4937	Sierra	Pichincha	Negativo
33	4944	Sierra	Pichincha	Negativo
34	4956	Sierra	Pichincha	Negativo
35	4964	Sierra	Pichincha	Negativo
36	5010	Sierra	Pichincha	Negativo

37	5040	Sierra	Pichincha	Negativo
38	5075	Sierra	Pichincha	Negativo
39	5115	Sierra	Pichincha	Negativo
40	5136	Sierra	Pichincha	Negativo
41	5149	Sierra	Pichincha	Negativo
42	5204	Sierra	Pichincha	Negativo
43	5254	Sierra	Pichincha	Negativo
44	5369	Sierra	Pichincha	Negativo
45	5479	Sierra	Azuay	Negativo
46	5481	Sierra	Azuay	Negativo
47	5618	Sierra	Azuay	Negativo
48	5626	Sierra	Azuay	Negativo
49	5765	Sierra	Azuay	Negativo
50	5794	Sierra	Pichincha	Negativo
51	6148	Sierra	Cañar	Negativo
52	6150	Sierra	Cañar	Negativo
53	6171	Sierra	Cañar	Negativo
54	6172	Sierra	Cañar	Negativo
55	6182	Sierra	Cañar	Negativo
56	6234	Sierra	Cañar	Negativo
57	6604	Sierra	Chimborazo	Negativo
58	6625	Sierra	Chimborazo	Negativo
59	6847	Sierra	Chimborazo	Negativo
60	6849	Sierra	Chimborazo	Negativo
61	6901	Sierra	Chimborazo	Negativo
62	6925	Sierra	Chimborazo	Negativo
63	6940	Sierra	Chimborazo	Negativo
64	7035	Sierra	Chimborazo	Negativo
65	7087	Sierra	Chimborazo	Negativo
66	7091	Sierra	Chimborazo	Negativo
67	7161	Sierra	Chimborazo	Negativo
68	7180	Sierra	Chimborazo	Negativo
69	7194	Sierra	Chimborazo	Negativo
70	7247	Sierra	Chimborazo	Negativo
71	7250	Sierra	Chimborazo	Negativo
72	7263	Sierra	Chimborazo	Negativo

73	7280	Sierra	Chimborazo	Negativo
74	7303	Sierra	Chimborazo	Negativo
75	7382	Sierra	Chimborazo	Negativo
76	7410	Sierra	Chimborazo	Negativo
77	7556	Sierra	Chimborazo	Negativo
78	7576	Sierra	Chimborazo	Negativo
79	7641	Sierra	Chimborazo	Negativo
80	7678	Sierra	Chimborazo	Negativo
81	7706	Sierra	Chimborazo	Negativo
82	7716	Sierra	Chimborazo	Negativo
83	7741	Sierra	Chimborazo	Negativo
84	7797	Sierra	Chimborazo	Negativo
85	7799	Sierra	Chimborazo	Negativo
86	7858	Sierra	Chimborazo	Negativo
87	7892	Sierra	Chimborazo	Negativo
88	7906	Sierra	Chimborazo	Negativo
89	7936	Sierra	Chimborazo	Negativo
90	8030	Sierra	Chimborazo	Negativo
91	8101	Sierra	Chimborazo	Negativo
92	8134	Sierra	Pichincha	Negativo
93	8180	Sierra	Pichincha	Negativo
94	8183	Sierra	Pichincha	Negativo
95	8193	Sierra	Pichincha	Negativo
96	8203	Sierra	Pichincha	Negativo
97	8234	Sierra	Pichincha	Negativo
98	8248	Sierra	Pichincha	Negativo
99	8268	Sierra	Pichincha	Negativo
100	6966	Sierra	Chimborazo	Negativo

Anexo 3. Resultados de las muestras paneadas de la Región Oriente.

Numeración	Código interno	Región	Provincia	Resultados
1	5806	Oriente	Orellana	Negativo
2	5807	Oriente	Orellana	Negativo
3	5808	Oriente	Orellana	Negativo

4	5810	Oriente	Orellana	Negativo
5	5811	Oriente	Orellana	Negativo
6	5812	Oriente	Orellana	Negativo
7	5813	Oriente	Orellana	Negativo
8	5814	Oriente	Orellana	Negativo
9	5815	Oriente	Orellana	Negativo
10	5816	Oriente	Orellana	Negativo
11	5817	Oriente	Orellana	Negativo
12	5818	Oriente	Orellana	Negativo
13	5819	Oriente	Orellana	Negativo
14	5821	Oriente	Orellana	Negativo
15	5822	Oriente	Orellana	Negativo
16	5823	Oriente	Orellana	Negativo
17	5824	Oriente	Orellana	Negativo
18	5825	Oriente	Orellana	Negativo
19	5826	Oriente	Orellana	Negativo
20	5827	Oriente	Orellana	Negativo
21	5828	Oriente	Orellana	Negativo
22	5829	Oriente	Orellana	Negativo
23	5830	Oriente	Orellana	Negativo
24	5831	Oriente	Orellana	Negativo
25	5833	Oriente	Orellana	Negativo
26	5834	Oriente	Orellana	Negativo
27	5836	Oriente	Orellana	Negativo
28	5837	Oriente	Orellana	Negativo
29	5838	Oriente	Orellana	Negativo
30	5839	Oriente	Orellana	Negativo
31	5840	Oriente	Orellana	Negativo
32	5841	Oriente	Orellana	Negativo
33	5842	Oriente	Orellana	Negativo
34	5843	Oriente	Orellana	Negativo
35	5844	Oriente	Orellana	Negativo
36	5847	Oriente	Orellana	Negativo
37	5850	Oriente	Orellana	Negativo

38	5853	Oriente	Orellana	Negativo
39	5854	Oriente	Orellana	Negativo
40	5856	Oriente	Orellana	Negativo
41	5861	Oriente	Orellana	Negativo
42	5862	Oriente	Orellana	Negativo
43	5864	Oriente	Orellana	Negativo
44	5865	Oriente	Orellana	Negativo
45	5866	Oriente	Orellana	Negativo
46	5869	Oriente	Orellana	Negativo
47	5870	Oriente	Orellana	Negativo
48	5871	Oriente	Orellana	Negativo
49	5873	Oriente	Orellana	Negativo
50	5874	Oriente	Orellana	Negativo
51	5875	Oriente	Orellana	Negativo
52	5876	Oriente	Orellana	Negativo
53	5877	Oriente	Orellana	Negativo
54	5878	Oriente	Orellana	Negativo
55	5880	Oriente	Orellana	Negativo
56	5881	Oriente	Orellana	Negativo
57	5882	Oriente	Orellana	Negativo
58	5883	Oriente	Orellana	Negativo
59	5886	Oriente	Orellana	Negativo
60	5889	Oriente	Orellana	Negativo
61	5890	Oriente	Orellana	Negativo
62	5891	Oriente	Orellana	Negativo
63	5892	Oriente	Orellana	Negativo
64	5893	Oriente	Orellana	Negativo
65	5894	Oriente	Orellana	Negativo
66	5898	Oriente	Orellana	Negativo
67	5899	Oriente	Orellana	Negativo
68	5901	Oriente	Orellana	Negativo
69	5902	Oriente	Orellana	Negativo
70	5904	Oriente	Orellana	Negativo
71	5905	Oriente	Orellana	Negativo

72	5906	Oriente	Orellana	Negativo
73	5907	Oriente	Orellana	Negativo
74	5908	Oriente	Orellana	Negativo
75	5909	Oriente	Orellana	Negativo
76	5911	Oriente	Orellana	Negativo
77	5912	Oriente	Orellana	Negativo
78	5913	Oriente	Orellana	Negativo
79	5914	Oriente	Orellana	Negativo
80	5915	Oriente	Orellana	Negativo
81	5916	Oriente	Orellana	Negativo
82	5917	Oriente	Orellana	Negativo
83	5919	Oriente	Orellana	Negativo
84	5920	Oriente	Orellana	Negativo
85	5921	Oriente	Orellana	Negativo
86	5923	Oriente	Orellana	Negativo
87	5926	Oriente	Orellana	Negativo
88	5927	Oriente	Orellana	Negativo
89	5928	Oriente	Orellana	Negativo
90	5929	Oriente	Orellana	Negativo
91	5930	Oriente	Orellana	Negativo
92	5931	Oriente	Orellana	Negativo
93	5932	Oriente	Orellana	Negativo
94	5933	Oriente	Orellana	Negativo
95	5935	Oriente	Orellana	Negativo
96	5936	Oriente	Orellana	Negativo
97	5937	Oriente	Orellana	Negativo
98	5938	Oriente	Orellana	Negativo
99	5939	Oriente	Orellana	Negativo
100	5940	Oriente	Orellana	Negativo
101	5941	Oriente	Orellana	Negativo
102	5942	Oriente	Orellana	Negativo
103	5943	Oriente	Orellana	Negativo
104	5944	Oriente	Orellana	Negativo
105	5945	Oriente	Orellana	Negativo

106	5946	Oriente	Orellana	Negativo
107	5947	Oriente	Orellana	Negativo
108	5948	Oriente	Orellana	Negativo
109	5949	Oriente	Orellana	Negativo
110	5950	Oriente	Orellana	Negativo
111	5951	Oriente	Orellana	Negativo
112	5952	Oriente	Orellana	Negativo
113	5953	Oriente	Orellana	Negativo
114	5954	Oriente	Orellana	Negativo
115	5955	Oriente	Orellana	Negativo
116	5956	Oriente	Orellana	Negativo
117	5957	Oriente	Orellana	Negativo
118	5958	Oriente	Orellana	Negativo
119	5960	Oriente	Orellana	Negativo
120	5962	Oriente	Orellana	Negativo
121	5963	Oriente	Orellana	Negativo
122	5965	Oriente	Orellana	Negativo
123	5966	Oriente	Orellana	Negativo
124	5967	Oriente	Orellana	Negativo
125	5968	Oriente	Orellana	Negativo
126	5969	Oriente	Orellana	Negativo
127	5970	Oriente	Orellana	Negativo
128	5971	Oriente	Orellana	Negativo
129	5972	Oriente	Orellana	Negativo
130	5973	Oriente	Orellana	Negativo
131	5974	Oriente	Orellana	Negativo
132	5975	Oriente	Orellana	Negativo
133	5976	Oriente	Orellana	Negativo
134	5977	Oriente	Orellana	Negativo
135	5978	Oriente	Orellana	Negativo
136	5979	Oriente	Orellana	Negativo
137	5980	Oriente	Orellana	Negativo
138	5981	Oriente	Orellana	Negativo
139	5982	Oriente	Orellana	Negativo

140	5983	Oriente	Orellana	Negativo
141	5984	Oriente	Orellana	Negativo
142	5985	Oriente	Orellana	Negativo
143	5986	Oriente	Orellana	Negativo
144	5987	Oriente	Orellana	Negativo
145	5988	Oriente	Orellana	Negativo
146	5989	Oriente	Orellana	Negativo
147	5990	Oriente	Orellana	Negativo
148	5991	Oriente	Orellana	Negativo
149	5993	Oriente	Orellana	Negativo
150	5995	Oriente	Orellana	Negativo
151	5996	Oriente	Orellana	Negativo
152	5998	Oriente	Orellana	Negativo
153	5999	Oriente	Orellana	Negativo
154	6000	Oriente	Orellana	Negativo
155	6002	Oriente	Orellana	Positivo
156	6003	Oriente	Orellana	Negativo
157	6004	Oriente	Orellana	Negativo
158	6005	Oriente	Orellana	Negativo
159	6007	Oriente	Orellana	Negativo
160	6008	Oriente	Orellana	Negativo
161	6009	Oriente	Orellana	Negativo
162	6010	Oriente	Orellana	Negativo
163	6011	Oriente	Orellana	Negativo
164	6012	Oriente	Orellana	Negativo
165	6013	Oriente	Orellana	Negativo
166	6015	Oriente	Orellana	Negativo
167	6016	Oriente	Orellana	Negativo
168	6017	Oriente	Orellana	Negativo
169	6018	Oriente	Orellana	Negativo
170	6019	Oriente	Orellana	Negativo
171	6020	Oriente	Orellana	Negativo
172	6021	Oriente	Orellana	Negativo
173	6022	Oriente	Orellana	Negativo

174	6023	Oriente	Orellana	Negativo
175	6024	Oriente	Orellana	Negativo
176	6025	Oriente	Orellana	Negativo
177	6026	Oriente	Orellana	Negativo
178	6027	Oriente	Orellana	Negativo
179	6028	Oriente	Orellana	Negativo
180	6029	Oriente	Orellana	Negativo
181	6030	Oriente	Orellana	Negativo
182	6031	Oriente	Orellana	Negativo
183	6032	Oriente	Orellana	Negativo
184	6033	Oriente	Orellana	Negativo
185	6034	Oriente	Orellana	Negativo
186	6035	Oriente	Orellana	Negativo
187	6036	Oriente	Orellana	Negativo
188	6037	Oriente	Orellana	Negativo
189	6038	Oriente	Orellana	Negativo
190	6039	Oriente	Orellana	Negativo
191	6040	Oriente	Orellana	Negativo
192	6041	Oriente	Orellana	Negativo
193	6042	Oriente	Orellana	Negativo
194	6043	Oriente	Orellana	Negativo
195	6340	Oriente	Morona Santiago	Negativo
196	6341	Oriente	Morona Santiago	Negativo
197	6342	Oriente	Morona Santiago	Negativo
198	6343	Oriente	Morona Santiago	Negativo
199	6344	Oriente	Morona Santiago	Negativo
200	6345	Oriente	Morona Santiago	Negativo
201	6346	Oriente	Morona Santiago	Negativo
202	6347	Oriente	Morona Santiago	Negativo
203	6348	Oriente	Morona Santiago	Negativo
204	6349	Oriente	Morona Santiago	Negativo
205	6350	Oriente	Morona Santiago	Negativo
206	6351	Oriente	Morona Santiago	Negativo
207	6352	Oriente	Morona Santiago	Negativo

208	6400	Oriente	Morona Santiago	Negativo
209	6402	Oriente	Morona Santiago	Negativo
210	6403	Oriente	Morona Santiago	Negativo
211	6405	Oriente	Morona Santiago	Negativo
212	6406	Oriente	Morona Santiago	Negativo
213	6407	Oriente	Morona Santiago	Negativo
214	6408	Oriente	Morona Santiago	Negativo
215	6409	Oriente	Morona Santiago	Negativo
216	6411	Oriente	Morona Santiago	Negativo
217	6412	Oriente	Morona Santiago	Negativo
218	6413	Oriente	Morona Santiago	Negativo
219	6415	Oriente	Morona Santiago	Negativo
220	6417	Oriente	Morona Santiago	Negativo
221	6418	Oriente	Morona Santiago	Negativo
222	6420	Oriente	Morona Santiago	Negativo
223	6421	Oriente	Morona Santiago	Negativo
224	6422	Oriente	Morona Santiago	Negativo
225	6423	Oriente	Morona Santiago	Negativo
226	6424	Oriente	Morona Santiago	Negativo
227	6425	Oriente	Morona Santiago	Negativo
228	6427	Oriente	Morona Santiago	Negativo
229	6428	Oriente	Morona Santiago	Negativo
230	6429	Oriente	Morona Santiago	Negativo
231	6430	Oriente	Morona Santiago	Negativo
232	6433	Oriente	Morona Santiago	Negativo
233	6434	Oriente	Morona Santiago	Negativo
234	6435	Oriente	Morona Santiago	Negativo
235	6438	Oriente	Morona Santiago	Negativo
236	6439	Oriente	Morona Santiago	Negativo
237	6440	Oriente	Morona Santiago	Negativo
238	6443	Oriente	Morona Santiago	Negativo
239	6444	Oriente	Morona Santiago	Negativo
240	6445	Oriente	Morona Santiago	Negativo
241	6446	Oriente	Morona Santiago	Negativo

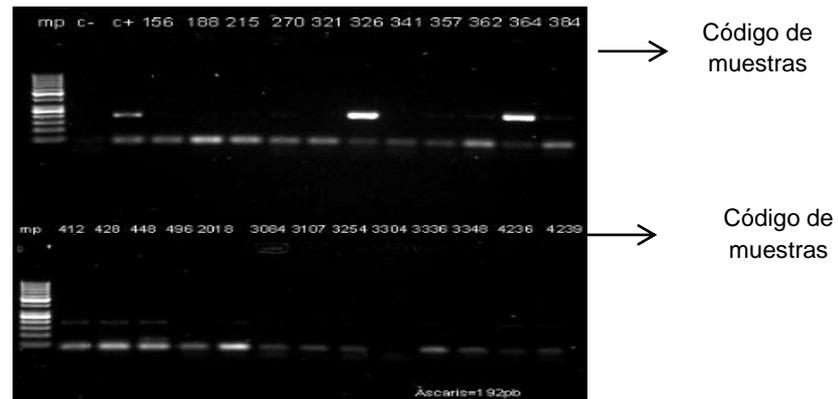
242	6447	Oriente	Morona Santiago	Negativo
243	6448	Oriente	Morona Santiago	Negativo
244	6449	Oriente	Morona Santiago	Negativo
245	6450	Oriente	Morona Santiago	Negativo
246	6452	Oriente	Morona Santiago	Negativo
247	6453	Oriente	Morona Santiago	Negativo
248	6454	Oriente	Morona Santiago	Negativo
249	6456	Oriente	Morona Santiago	Negativo
250	6457	Oriente	Morona Santiago	Negativo
251	6458	Oriente	Morona Santiago	Negativo
252	6459	Oriente	Morona Santiago	Negativo
253	6460	Oriente	Morona Santiago	Negativo
254	6461	Oriente	Morona Santiago	Negativo
255	6462	Oriente	Morona Santiago	Negativo
256	6463	Oriente	Morona Santiago	Negativo
257	6464	Oriente	Morona Santiago	Negativo
258	6465	Oriente	Morona Santiago	Negativo
259	6466	Oriente	Morona Santiago	Negativo
260	6467	Oriente	Morona Santiago	Negativo
261	6468	Oriente	Morona Santiago	Negativo
262	6469	Oriente	Morona Santiago	Negativo
263	6470	Oriente	Morona Santiago	Negativo
264	6471	Oriente	Morona Santiago	Negativo
265	6472	Oriente	Morona Santiago	Negativo
266	6473	Oriente	Morona Santiago	Negativo
267	6474	Oriente	Morona Santiago	Negativo
268	6475	Oriente	Orellana	Negativo
269	6476	Oriente	Morona Santiago	Negativo
270	6477	Oriente	Morona Santiago	Negativo
271	6479	Oriente	Morona Santiago	Negativo
272	6480	Oriente	Morona Santiago	Negativo
273	6482	Oriente	Morona Santiago	Negativo
274	6485	Oriente	Morona Santiago	Negativo
275	6486	Oriente	Morona Santiago	Negativo

276	6487	Oriente	Morona Santiago	Negativo
277	6489	Oriente	Morona Santiago	Negativo
278	6490	Oriente	Morona Santiago	Negativo
279	6491	Oriente	Morona Santiago	Negativo
280	6494	Oriente	Morona Santiago	Negativo
281	6495	Oriente	Morona Santiago	Negativo
282	6496	Oriente	Morona Santiago	Negativo
283	6497	Oriente	Morona Santiago	Negativo
284	6498	Oriente	Morona Santiago	Negativo
285	6499	Oriente	Morona Santiago	Negativo
286	6500	Oriente	Morona Santiago	Negativo
287	6502	Oriente	Morona Santiago	Negativo
288	6503	Oriente	Morona Santiago	Negativo
289	6504	Oriente	Morona Santiago	Positivo
290	6507	Oriente	Morona Santiago	Negativo
291	6508	Oriente	Morona Santiago	Negativo
292	6510	Oriente	Morona Santiago	Negativo
293	6511	Oriente	Morona Santiago	Positivo
294	6513	Oriente	Morona Santiago	Negativo
295	6514	Oriente	Morona Santiago	Negativo
296	6515	Oriente	Morona Santiago	Negativo
297	6516	Oriente	Morona Santiago	Positivo
298	6517	Oriente	Morona Santiago	Negativo
299	6518	Oriente	Morona Santiago	Negativo
300	6519	Oriente	Morona Santiago	Negativo
301	6520	Oriente	Morona Santiago	Negativo
302	6521	Oriente	Morona Santiago	Negativo
303	6522	Oriente	Morona Santiago	Negativo
304	6523	Oriente	Morona Santiago	Negativo
305	6524	Oriente	Morona Santiago	Negativo
306	6525	Oriente	Morona Santiago	Negativo
307	6526	Oriente	Morona Santiago	Negativo
308	6527	Oriente	Morona Santiago	Negativo
309	6528	Oriente	Morona Santiago	Negativo

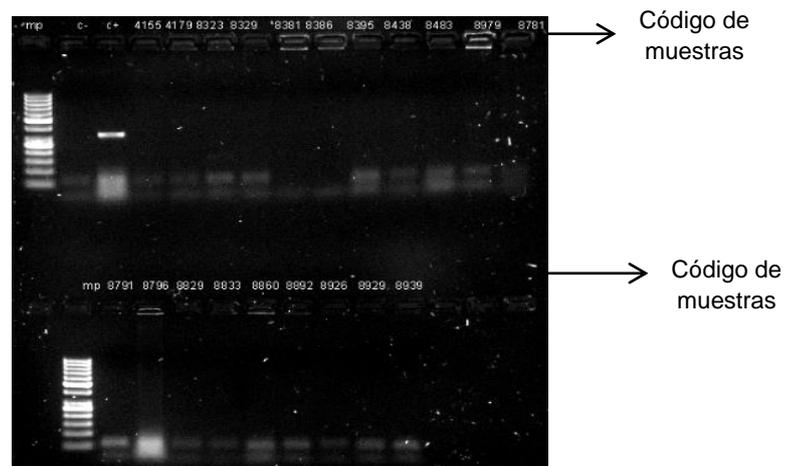
310	6529	Oriente	Morona Santiago	Negativo
311	6530	Oriente	Morona Santiago	Negativo
312	6532	Oriente	Morona Santiago	Negativo
313	6533	Oriente	Morona Santiago	Negativo
314	6535	Oriente	Morona Santiago	Negativo
315	6536	Oriente	Morona Santiago	Negativo
316	6537	Oriente	Morona Santiago	Negativo
317	6539	Oriente	Morona Santiago	Negativo
318	6540	Oriente	Morona Santiago	Negativo
319	6541	Oriente	Morona Santiago	Negativo
320	6542	Oriente	Morona Santiago	Negativo
321	6543	Oriente	Morona Santiago	Negativo
322	6544	Oriente	Morona Santiago	Negativo
323	6545	Oriente	Morona Santiago	Negativo
324	6546	Oriente	Morona Santiago	Negativo
325	6547	Oriente	Morona Santiago	Negativo
326	6548	Oriente	Morona Santiago	Negativo
327	6549	Oriente	Morona Santiago	Negativo
328	6550	Oriente	Morona Santiago	Negativo
329	6551	Oriente	Morona Santiago	Negativo
330	6552	Oriente	Morona Santiago	Negativo
331	6553	Oriente	Morona Santiago	Negativo
332	6555	Oriente	Morona Santiago	Negativo
333	6556	Oriente	Morona Santiago	Negativo
334	6557	Oriente	Morona Santiago	Negativo
335	6558	Oriente	Morona Santiago	Negativo
336	6559	Oriente	Morona Santiago	Negativo
337	6560	Oriente	Morona Santiago	Negativo
338	6561	Oriente	Morona Santiago	Negativo
339	6562	Oriente	Morona Santiago	Negativo
340	8448	Oriente	Morona Santiago	Negativo

Anexo 4. Electroforesis representativa de la región Costa. Electroforesis en Gel de Agarosa para la PCR utilizada en la detección de *Ascaris* spp. Líneas 1 y 14

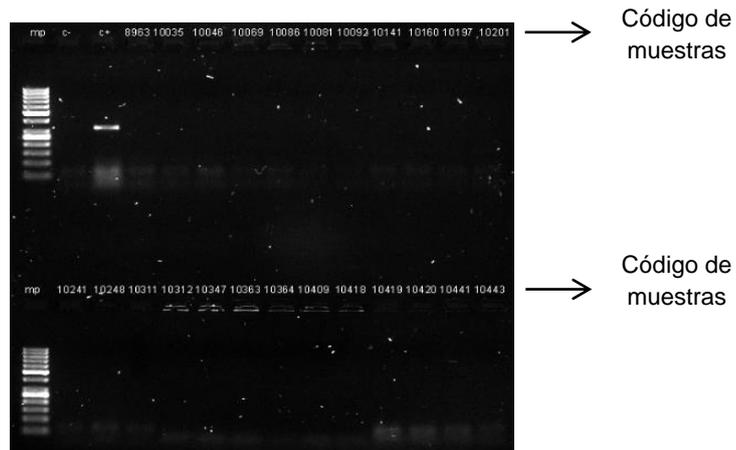
contienen un marcador de Peso Molecular (mp) de 50 pb. Línea 2 control negativo (C-), línea 3 control positivo (C+) de *Ascaris summ.* En las líneas 4-13 y 15-27 contienen las muestras de ADN de heces humanas codificadas entre 156-4339.



Anexo 5. Electroforesis representativa del análisis realizado para la región Sierra. Electroforesis en Gel de Agarosa para la PCR utilizada en la detección de *Ascaris* spp. Líneas 1 y 14 contienen un marcador de Peso Molecular (mp) de 50 pb. Línea 2 control negativo (C-), línea 3 control positivo (C+) de *Ascaris summ.* En las líneas 4-13 y 15-27 contienen las muestras de ADN de heces humanas codificadas entre 4155-8139.



Anexo 6. Electroforesis representativa del análisis realizado para la región Oriente. Electroforesis en Gel de Agarosa para la PCR utilizada en la detección de *Ascaris* spp. Líneas 1 y 14 contienen un marcador de Peso Molecular (mp) de 50 pb. Línea 2 control negativo (C-), línea 3 control positivo (C+) de *Ascaris summ.* En las líneas 4-13 y 15-27 contienen las muestras de ADN de heces humanas codificadas entre 8953-10443.



Anexo 7. Consentimiento Informado



**Ministerio
de Salud Pública**



**Instituto Nacional
de Investigación
en Salud Pública INSPI**
Dr. Leopoldo Izquieta Pérez

**Programa Nacional para el Abordaje
Multidisciplinario de las Parasitosis
Destendidas en el Ecuador - PROPAD**

INFORMACIÓN PARA EL VOLUNTARIADO Y CONSENTIMIENTO INFORMADO SOBRE EL PROYECTO

**“DETERMINAR LA PREVALENCIA GENERAL DE LAS PARASITOSIS DESATENDIDAS EN EL ECUADOR:
INFORMACIÓN PARA EL V PROTOZOARIOS Y HELMINTOS”**

(ANEXO CONSENTIMIENTO INFORMADO)

Usted o/y su representado/a ha sido considerado para participar en el presente proyecto, que se realizará a nivel nacional. Se le ha pedido que participe porque se considera que usted es representativo de la población del Ecuador. El propósito de este documento es explicarle en que consiste el estudio para ayudarle a tomar una decisión sobre la invitación a participar en el mismo.

Propósito en el estudio

Las infecciones por parásitos constituyen una amenaza para la salud de las personas que los tienen, afectando a diferentes órganos del cuerpo dependiendo del tipo de organismo que lo parasita. Estas enfermedades se transmiten por varias vías, una de las principales es los malos hábitos diarios de limpieza, así como también convivir en condiciones no adecuadas con animales infectados. La existencia del parásito es decir el diagnóstico se puede realizar analizando una muestra de sangre, de orina y principalmente de heces (deposición, excremento, caca), en busca de la presencia de estos parásitos en su cuerpo, mediante el uso de exámenes basados en tecnología tradicional y de nueva generación, este diagnóstico permitirá elaborar nuevas estrategias destinadas al control, eliminación y tratamiento de estas enfermedades, tanto a nivel individual (cada persona), así como a nivel colectivo (toda su familia, vecinos y comunidad).

PROCEDIMIENTO

Si decide participar en el estudio, se le solicitará una muestra de heces y orina, para lo cual se le indicará la técnica adecuada para la recolección de muestras, así como se le proveerá de los materiales requeridos para el proceso. De forma adicional, se le solicitará la donación de una muestra de 5 a 10 mL de sangre, la cual será tomada por personal calificado, formado, con experiencia, y capacitado con las normativas específicas para desarrollar los diferentes procedimientos necesarios para esta investigación.

BENEFICIOS, RIESGOS Y MOLESTIAS

El proyecto brindará una capacitación a la comunidad incluida en el estudio sobre los efectos de ser portador de parásitos, así como, se informará sobre hábitos alimenticios adecuados previa la colecta de las muestras para facilitar el proceso y normas de aseo y manipulación de alimentos y desechos que pretende ayudar a que usted sepa cómo evitar las infecciones por parásitos para controlarlos en su hogar y en la comunidad.

Los riesgos y molestias físicas causadas por la colecta de las muestras de heces y orina, así como la extracción de sangre en este estudio son las que se presentan en cualquier colecta de muestras y extracción de una muestra de sangre de vena periférica, que usted seguramente ya experimentado previamente.

Así pues puede experimentar un ligero dolor, enrojecimiento o irritación del área de la que se extrajo la sangre. Que desaparecen unos minutos después del procedimiento.



**Ministerio
de Salud Pública**

Iguique N° 14-285 y Yaguachi
Teléfono: 022568041 - 022562715 - 022563856
www.inspi.gob.ec



Ministerio
de Salud Pública



Instituto Nacional
de Investigación
en Salud Pública INSPI
Dr. Leopoldo Izquieta Pérez

Programa Nacional para el Abordaje
Multidisciplinario de las Parasitosis
Destendidas en el Ecuador - PROPAD

REVISIÓN DE DOCUMENTOS ORIGINALES, CONFIDENCIALIDAD Y PROTECCIÓN DE LOS DATOS PERSONALES.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede retirarse en cualquier momento. Debe comprender que el programa PROPAD puede retirarle del estudio sin su consentimiento por incumplimiento suyo a las instrucciones impartidas en el estudio, u otras razones, justificadas razonablemente en el campo médico.

Información y muestras codificadas.

Para proteger su confidencialidad, sus muestras y resultados serán registrados con un código, sin nombres ni datos de identificación. Los integrantes del equipo de investigadores guardarán el archivo con la vinculación de este código con su nombre, pero este no aparecerá bajo ningún motivo en cualquier producto relacionado con la presente investigación.

Almacenamiento y análisis posteriores de las muestras.

El INSPI (Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública) almacenará sus muestras junto con otros procedentes de este estudio, y las mismas serán utilizadas solo para el propósito establecido en este documento. En todo momento las muestras se almacenarán en un lugar seguro, y se exigirá que las personas que trabajen con sus muestras respeten la confidencialidad de su información y resultados.

Compromisos adquiridos por el Proyecto de Investigación.

El equipo de investigadores de este proyecto, luego de la colecta y análisis de las muestras se comprometen a elaborar un informe con los resultados encontrados, el que será entregado a la dirección de la escuela y al centro de salud responsable del control sanitario de su institución educativa, en un periodo no mayor de 3 semanas después de realizada la visita a su comunidad.

Aspectos comerciales

Usted no recibirá ninguna compensación económica por la participación de este estudio.

Personal de contacto para el estudio.

Si tiene preguntas acerca de esta investigación, sobre cualquier daño relacionado con la extracción de sangre o sobre su retirada del estudio, debe contactarse en cualquier momento con la Ing. Ana Gabriela Caiza al número 0999207879, directora del Programa Nacional para el abordaje multidisciplinario de las Parasitosis desatendidas en el Ecuador.



Ministerio
de Salud Pública

Iquique N° 14-286 y Yaguachi
Teléfono: 022568041 - 022552715 - 022565858
www.inspi.gob.ec

