



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**RELACIÓN ENTRE EL CONTROL DE ASMA Y POSITIVIDAD
SEROLÓGICA PARA TOXOCARA CANIS EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS EN UN PERIODO DE DOS AÑOS (2016-2018)**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN ALERGIYA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA
PEDIÁTRICA**

**PRESENTA:
DRA. NORMA YVETT GONZÁLEZ BOBADILLA**

**TUTOR(A):
DRA. SANDRA GP. BAUTISTA GARCIA**

**COTUTOR(A):
DRA. MARTHA PONCE MACOTELA**



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RELACIÓN ENTRE EL CONTROL DE ASMA Y POSITIVIDAD SEROLÓGICA
PARA TOXOCARA CANIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS EN UN PERIODO DE
DOS AÑOS (2016-2018)



DR. JOSÉ NICOLÁS REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DR. JOSÉ GPE. HUERTA LÓPEZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA
PEDIÁTRICA



DRA. SANDRA GPE. BAUTISTA GARCIA
TUTORA DE TESIS



DRA. MARTHA PONCE MACOTELA
COTUTORA DE TESIS

Contenido

Antecedentes	4
Planteamiento del problema	7
Justificación	7
Pregunta de investigación	8
Objetivos	8
Hipótesis	9
Clasificación de la investigación	9
Población	9
Criterios de selección	9
Tamaño de la muestra	9
Variables	10
Descripción del estudio.....	10
Consideraciones Éticas.....	13
Resultados	13
Discusión	20
Conclusión.....	22
Referencias.....	25

Antecedentes

Toxocara canis

Aproximadamente el 100% de los perros cachorros se infecta con *Toxocara canis* por vía transplacentaria y empiezan a eliminar huevos de este parásito a los 16 días después de nacer (Overgaauw & van Knapen 2013). La infección también la pueden adquirir por vía transmamaria, por la ingestión de huevos larvados de segundo estadio que se encuentran en el ambiente y por la depredación de hospederos paraténicos (Ponce-Macotela et al., 2011). En perros adultos la prevalencia es menor al 20% (Ponce-Macotela et al., 2005), pero, si las hembras se infectan cuando están gestando, las larvas llegan a los fetos por vía transplacentaria (Lee et al., 2010).

Se estima que en la ciudad de México hay aproximadamente 3 millones de perros callejeros y 2 millones de perros con dueño, y producen 600 toneladas de heces al día (Acevedo & Peralta. 2003). El dato es importante porque los huevos de este geohelminto, necesitarán estar en el ambiente durante 20-30 días para desarrollar internamente la larva de segundo estadio y alcanzar la fase infectante (huevo larvado de segundo estadio) (Overgaauw & van Knapen 2013). Los cánidos son los hospederos definitivos del *T. canis* y son potenciales diseminadores de huevos de este nematodo al ambiente.

Larva migrans

El hombre, otros mamíferos y las aves son hospederos paraténicos. Se infectan al comer huevos larvados de segundo estadio de *T. canis* que se encuentran en el ambiente (tierra, vegetales o agua de beber). También se pueden infectar al consumir carne (con larvas de *T. canis*) insuficientemente cocida de otros hospederos paraténicos (Strube et al., 2013).

La población infantil es más susceptible para adquirir esta parasitosis por sus hábitos de juego y por geofagia (Obergaauw 1997). Cuando el niño se infecta, las larvas eclosionan (salen del huevo) en el intestino delgado y por vía sanguínea pueden llegar a varios órganos. La migración del parásito produce la larva *migrans*.

En la larva *migrans* ocular (LMO) los pacientes pueden presentar corioretinitis, vitritis, opacidad de la cornea, granuloma retineal, desprendimiento de retina y pérdida de la visión (Frazier et al., 2009). En la larva *migrans* visceral (LMV) hay hepatomegalia, fiebre, pérdida de peso, malestar general, meningitis o meningoencefalitis. La migración de las larvas por aparato respiratorio causa la ruptura de la membrana alveolo-capilar y produce un cuadro clínico semejante al asma; caracterizado por fiebre, eosinofilia, tos, disnea y signología obstructiva (sibilancias) (Fillaux & Magnaval. 2013; Lee et al., 2010; Smith et al., 2009).

El diagnóstico de larva *migrans* es indirecto, mediante técnicas inmunológicas (ELISA) que detectan IgG anti-*T.canis*, pero, producen reacciones cruzadas con antígenos de otros helmintos. Por esta razón es necesario realizar western blotting para el reconocimiento de bandas específicas y biometría hemática para determinar la concentración de eosinófilos (Fillaux & Magnaval. 2013; Frazier et al., 2009).

A nivel mundial la seroprevalencia de toxocariasis en humanos es variable: 4.6-7.3% en niños de Estados Unidos, 2.5% en Alemania, 83%, en Polonia del 1.8-76%, en el Caribe, 19% en niños y adultos de países bajos europeos (Overgaauw & van Kanapen 2013). Maetz et al (1987) estimaban que había 1 caso de LMO por cada 1000 pacientes con problemas oculares. Good et al (2004) reportaron una prevalencia de 6.6 casos por cada 100000 niños escolares irlandeses.

En nuestro país hay pocos trabajos que demuestren la seroreactividad a *Toxocara canis* (Alvarado-Esquivel et al., 2014; Jiménez-Balderas et al., 2014; Alvarado-Esquivel 2013;). Romero-Núñez (2013) analizó muestras de 108 niños mexicanos y encontró una seroprevalencia del 22%. Muñoz-Guzmán (2010) reportó el 31% de seroreactividad de pacientes asmáticos y el 20% de no asmáticos; sin embargo, cuándo adsorbieron los sueros con antígenos de *Ascaris suum* la seroprevalencia disminuyó al 28% y 10%, respectivamente, mostrando así datos de reacción cruzada con otro geohelminto.

Una forma de detectar si la infección es reciente o es crónica es evaluando la avidéz de los anticuerpos (IgG). En una muestra de 196 sueros de pacientes con larva *migrans*, el 94.2% tuvo un índice de avidéz alto, este resultado indica que la

infección tenía más de seis meses, mientras que el 25.9% tuvo valores bajos de avidéz, lo que refleja una infección con menos de seis meses de evolución (Dziemian et al., 2008)

Una estrategia que se puede utilizar para evitar reacciones cruzadas en la seroreactividad a *T. canis*, es mediante la detección de antígenos de secreciones excreciones de larvas de segundo estadio de *T. canis*, en sueros de pacientes con diagnóstico clínico de larva *migrans*. Gillespie et al (1990) con el anticuerpo monoclonal que obtuvieron, detectaron el antígeno en 19/28 sueros reactivos a anticuerpos, en muestras de pacientes con diagnóstico de larva *migrans* aguda; en 1/9 sueros de pacientes con larva *migrans* inactiva, en 2/7 con larva *migrans* ocular y en 5/108 sueros de mujeres embarazadas. Yokoi et al (2002) produjeron un anticuerpo monoclonal que no cruza con *A.suum* y reconoció desde 4 ng/mL hasta 1.0 ug/mL de antígeno de *Tcanis*. Ishiyama et al (2009) con el anticuerpo monoclonal que obtuvieron detectaron 5 ng/mL de antígeno de larvas de *Tcanis* y detectaron el antígeno en nueve sueros reactivos a anticuerpos.

Asma

El asma es una de enfermedad multifactorial, crónica. Se caracteriza por inflamación intermitente de las vías aéreas inferiores y que las puede llevar a un cambio morfológico irreversible. La definición del asma de acuerdo a las guías internacionales incluye: obstrucción e inflamación de vías aéreas e hiperreactividad bronquial. Se estima que en el mundo hay 300 millones de personas asmáticas (Masoli et al., 2004).

Esta enfermedad tiene un gran impacto económico en los gobiernos, sector salud, familia y pacientes que la padecen (Tan et al., 2009). En 1989 se inició el programa “Global Initiative for Asthma” (GINA) para alertar a gobiernos, personal de salud y público en general del incremento del asma y recomienda un manejo con solidez científica para el cuidado médico efectivo del asma (Masoli et al., 2004).

Mediante el análisis de literatura primaria publicada a través del International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) y the European Community Respiratory Health Survey (ECHRS) se encontró: que la prevalencia en México fue

del 3.3% (datos obtenidos de los cuestionarios realizados a niños de 13 a 14 años de edad, quienes presentaron sibilancias en un periodo de 12 meses). El acceso a tratamiento fue del 50 al 80% y la mortalidad por asma fue del 14.5% por cada 100,000 asmáticos (Masoli et al, 2004).

López et al (2009) reportaron una frecuencia del 14.9% de asma al analizar 4742 pacientes (población abierta), de todas las edades, de las diferentes delegaciones del distrito federal y con enfermedad alérgica.

El diagnóstico de asma se basa en la historia clínica, biometría hemática y examen físico para probar si hay obstrucción de vías aéreas; la espirometría se utiliza para saber si es reversible y considerar otros factores que producen obstrucción (Pérez, 2009).

En el asma hay una respuesta de hipersensibilidad inmediata (tipo I), la unión del alérgeno-IgE-célula cebada produce la liberación de aminas activas: histamina, prostaglandinas, leucotrienos y factor activador de plaquetas que producen broncoespasmo. La migración de las larvas de *T. canis* por aparato respiratorio produce una respuesta de hipersensibilidad inmediata. En pacientes con larva *migrans* la detección de IgE específica puede ser de valor para apoyar el diagnóstico (Platts-Mills, 2001).

Planteamiento del problema

El 100% de los perros cachorros nacen infectados con *T.canis* y en la naturaleza son la fuente principal de huevos que contaminan el ambiente. En el Distrito Federal hay aproximadamente 5 millones de perros con dueño o callejeros y son pocas las personas que levantan las heces de sus mascotas. Las heces de los perros contaminan el ambiente y son la fuente más importante para la adquisición de *larva migrans*. Los niños son más susceptibles a infectarse por sus hábitos de juego y por geofagia. Si se infectan, el parásito les puede producir problemas oculares que pueden llevar a ceguera; cuadros clínicos asmatiformes y encefalopatías.

Justificación

Se ha observado una mayor frecuencia de pacientes asmáticos seroreactivos a anticuerpos anti *T.canis*. El diagnóstico de *larva migrans* se realiza con estuches diagnósticos comerciales que detectan anticuerpos anti-*T. canis*; pero, dan reacciones cruzadas con otras helmintiasis y no detectan el estatus de la infección. Nuestro grupo de trabajo produjo un anticuerpo monoclonal (AcMoG4C2) contra la fase larvaria de *T. canis* y se demostró su utilidad para la captura de antígeno circulante de *T. canis* en suero.

Se propone utilizarlo en pacientes de primer ingreso al Servicio de Alergia del Instituto Nacional de Pediatría con diagnóstico de asma. Si conocemos la asociación entre la concentración de antígenos circulantes de larvas de *T. canis* con la presencia y gravedad del asma, entonces podremos predecir en etapas tempranas, el riesgo de desarrollar cuadros severos de asma, por lo que se podría controlar uno de los factores que lo desencadenan. El conocimiento que se genere impactará económicamente al disminuir los costos de atención, la cantidad de ingresos hospitalarios a urgencias.

Pregunta de investigación

¿Existe alguna asociación entre la concentración de antígenos circulantes de larvas de segundo estadio de *Toxocara canis* y gravedad del asma en pacientes pediátricos?

Objetivos

General:

Identificar la asociación entre la concentración de antígenos circulantes de la fase larvaria de *Toxocara canis* con los diferentes niveles de gravedad del asma en pacientes pediátricos.

Específicos:

- Cuantificar la concentración de antígenos de larvas de *T.canis* en sueros de pacientes pediátricos con asma de primer ingreso al Servicio de Alergia del Instituto Nacional de Pediatría.
- Determinar el grado de gravedad de asma mediante sintomatología y espirometría.
- Identificar entre larva migrans aguda, activa o crónica

- Descartar otras geohelmintiasis en los pacientes
- Identificar la asociación de la presencia de antígenos de larvas de *T. canis* y pacientes con asma.

Hipótesis

Las larvas de *T. canis* al pasar por el aparato respiratorio desencadenan una serie de manifestaciones clínicas compatibles con un cuadro de asma. Los pacientes con asma se clasifican en leve, moderada y severa; si se detectan antígenos de *T. canis* y/o anticuerpos anti-*T. canis* se podrá determinar si el parásito está produciendo el cuadro clínico y se podrá asociar su relación a la gravedad del asma.

Clasificación de la investigación

Se trata de un estudio: observacional, prospectivo, transversal, analítico

Población

Objetivo:

Niños de 6 a 18 años de edad con diagnóstico de asma

Elegible:

Niños de 6 a 18 años de edad, atendidos en la consulta de alergia en el Instituto Nacional de Pediatría en un periodo de dos años (2016-2018)

Criterios de selección:

Inclusión:

Niños de 6 a 18 años de edad

Con diagnóstico de asma (por criterios clínicos y por la prueba de espirometría)

Exclusión:

Pacientes con:

Retraso mental o cualquier trastorno de conducta que impida llevar a cabo la espirometría.

Padecimientos oncológicos, inmunodeficiencias, infecciones de vías aéreas de al menos una semana de evolución.

Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se calculó con base al reporte de Muñoz-Guzmán et al (2010): Tomando en cuenta la seroprevalencia de *Toxocara* en pacientes asmáticos (31%) en comparación de no asmáticos (20%) se observa lo siguiente:

Se usó la fórmula para proporciones, tomando un error alfa de 0.05 y un poder del 80% se obtiene un tamaño de muestra:

$$n = \frac{(0.20 * 0.80) (1.96 + 0.84 \sqrt{(0.31 * 0.69) / (0.20 * 0.80)})^2}{(0.31 - 0.20)^2}$$

$$n = (0.16) (8.592) 1.3747$$

$$0.0121$$

$$n = 114 \text{ pacientes} + 20\%$$

$$n = 137 \text{ pacientes por grupo (asma leve, moderada, severa)}$$

$$\text{Total} = 411 \text{ pacientes}$$

Variables

Las principales variables son: Asma y concentración de antígenos de larva *migrans*. La gravedad de asma se determinará por el funcionamiento pulmonar que se medirá por espirometría. La larva *migrans* se puede clasificar como aguda (cuando solamente se detecten antígenos), activa (detección de antígenos de *T.canis* y anticuerpos anti-*T.canis*) y crónica (detección de anticuerpos). La definición operacional de las variables que se incluirán en el estudio se detalla en el Anexo 1.

Descripción del estudio

Se obtendrá la carta de consentimiento informado de los papás o tutores de los niños, y en su caso, la carta de asentimiento de los niños (Anexo). Se contará con la historia clínica de los niños y con la hoja de captura de datos (Anexo). Se obtendrán dos muestras de sangre (3.0 ml). Una servirá para la biometría hemática. La otra servirá para la separación del suero que se almacenará a -20°C hasta su uso. El suero se dividirá en tres lotes: a) para la captura de antígeno mediante el AcMoG4C12, b) para la detección de anticuerpos mediante el kit comercial y c)

para la detección de IgE específica. Adicionalmente, se pedirán tres muestras de heces de días alternos, para la detección de parásitos intestinales.

Técnicas:

a) Ensayo (ELISA) con el AcMoG4C12 para la captura de antígeno de larva de segundo estadio de T. canis

Se realizará el ELISA tipo sándwich. La placa se sensibilizará con el AcMoG4C12 (10 ug/ml), se incubará a 4°C durante toda la noche. Se lavará tres veces con PBS (pH 7.5) Tween 20 (0.5%). Se bloqueará con leche descremada (5.0%), incubándolo a 37°C/30 min. Se lavará tres veces. A cada pozo se le pondrán 100 ul del suero (previamente tratado con EDTA 0.1 M, pH 7.5 (1/1) y hervido durante 5 minutos y centrifugado a 5000rpm/5min). Se lavará tres veces. Se agregará el AcPo (1 ug/ml) acoplado a biotina. Se lavará tres veces. Se agregará la avidina peroxidasa (dilución 1:2000), se incubará a 37°C/2 h. Se lavará tres veces. Se le pondrá el cromógeno (ortofenildiamina 0.04%+ solución de fosfatos y ácido cítrico (1M/1M) + H₂O₂ 4ul/10ml), se incubará a temperatura ambiente durante 15 minutos. La reacción se parará con ácido sulfúrico 2 N. La placa se leerá en un espectrofotómetro a 490 nm. Todos los ensayos se repetirán dos veces (Rodríguez-Caballero et al., 2015)

b) Ensayo (ELISA) con el kit comercial para la detección de anticuerpos anti T. canis

En este caso se seguirán las recomendaciones que vengan en el kit comercial Diagmex Sade C.V (Diagnostic automation, Inc)

c) Ensayo (ELISA) para detección de anticuerpos IgE específica.

La placa se sensibilizará con el anti-IgE humana; se incubará a 4°C durante toda la noche. Se lavará tres veces con PBS-Tween 20 (0.5%). La placa se bloqueará con leche descremada (5%); se incubará a 37°C/30 min. Se lavará 3 veces, se le pondrá el suero (problema) y se incubará a 37°C /1h. Se lavará 3 veces. Se le agregará el antígeno de excreción-secreción de larva de *Toxocara canis*; se incubará a 37°C/2hrs. Se lavará 3 veces. Se le pondrá el anticuerpo policlonal acoplado a biotina (1 ul/ml); se incubará a 37°C /2h. Se lavará 3 veces. Se le agrega avidina acoplada a peroxidasa (1:2000); se incubará

a 37°C/2h. Se lavará 3 veces. Se agrega el cromógeno (ortofenildiamina 0.04%+ ácido cítrico 1M y fosfatos 1M+ H₂O₂ 4ul) durante 15 min a temperatura ambiente. La reacción se parará con ácido sulfhídrico 2N y se leerá en un espectrofotómetro a 490nm.

d) Ensayo de avidéz.

A la placa de 96 pozos cubierta con el antígeno de secreción/secreción de larvas de segundo estadio (5 ug/mL de proteína) en 0.05 M de amortiguador de carbonatos pH 9.6, se le agregará el suero problema (100 ul/pozo), diluido en amortiguador 1:50 (PBS+ Tween 20 + 0.5% de albumina sérica bovina). Se incubará durante 60 minutos/37°C. Se adicionará 6M de la solución de urea y se incubará con agitación durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se le pondrá el anti-IgG de humano unido a peroxidasa (dilución 1:10000) en amortiguador, se incubará 1h/37°C. Se lavará tres veces con el amortiguador, se le adicionará la ortofenildiamina e incubará 30 min/37°C. La reacción se parará y la absorbancia se leerá a 492nm. En cada ensayo se pondrá el control positivo y el control negativo.

El índice de avidéz se obtendrá dividiendo la absorbancia que se obtenga de la muestra tratada con urea y la no tratada con urea, multiplicado por 100. El valor hasta 50 se considerará como de baja avidéz (reciente infección) y el valor mayor a 50 de alta avidéz (infección crónica).

e) Coproparasitoscópicos.

Cada una de las muestras se procesará por separado, mediante la técnica de concentración flotación (Faust) siguiendo los lineamientos estándar; brevemente, la muestra (1-2 g) se homogeneizará con 10.0 ml de agua destilada, pasará por un cedazo, el homogeneizado se podrá en un tubo y se centrifugará 2000rpm/1 min, el sobrenadante se eliminará y el precipitado se lavará tres veces siguiendo el procedimiento anteriormente descrito. A la muestra se le agregara una solución de sulfato de zinc (densidad 1.180°B) se homogeneizará y centrifugará. Con un asa bacteriológica se obtendrá la muestra superficial que se encuentra en el menisco, durante 2-4 ocasiones y se depositará en un portaobjetos, se le agregará una gota de lugol, se homogeneizará y se le colocará el cubreobjetos. La preparación se observará a 20X.

f) Espirometría

Se realizará siguiendo el protocolo establecido por el Servicio de Alergia. Esta técnica requiere de la cooperación del paciente, por tal motivo solamente se realizará en pacientes mayores de seis años.

g) *Biometría hemática*

La biometría hemática se realizará en el Laboratorio de Hematología del INP siguiendo el protocolo establecido.

Consideraciones Éticas

El estudio seguirá los principios de la Declaración de Helsinki, de la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO, de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos y de las regulaciones del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Según el artículo 17 de este Reglamento se considera que es una "Investigación con Riesgo Mínimo", por lo que se someterá a la aprobación del Comité de Investigación y del Comité de Ética del Instituto Nacional de Pediatría, se solicitará Consentimiento/Asentimiento Informado de los representantes legales del paciente y/o el paciente, a los cuales se explicará ampliamente el procedimiento. En todo momento se mantendrá la confidencialidad de los datos, y la información solo será conocida por los investigadores participantes, aunque se podrá tener acceso a ella mediante solicitud por los servicios participantes o por los pacientes.

El investigador principal almacenará los datos de los pacientes en formato electrónico como respaldo de la información.

Recursos materiales

Se cuenta con un Laboratorio de Parasitología experimental de 100 Metros cuadrados. Una campana de flujo laminar, incubadora con CO₂, microscopios de luz e invertoscopio, centrífuga clínica, refrigeradores, balanza analítica y un tanque para nitrógeno líquido.

Recursos humanos

Se cuenta con personal experto en parasitología e inmunoparasitología. Médicos pediatras con subespecialidad en alergia y personal experto en metodología.

Impacto

Los resultados de este proyecto impactarán en la toma de decisiones de los alergólogos pediatras, porque contarán con una herramienta para diagnosticar el asma producida por larvas de *T. canis*, para ofrecer un tratamiento oportuno y adecuado.

Relevancia

El proyecto es importante porque al detectar antígeno circulante de larvas de *T. canis*, se eliminarán las reacciones cruzadas y se podrá determinar si las larvas son un factor productor de asma. Además, se podrá establecer una asociación entre gravedad de asma y concentración de antígeno de *Tcanis*. Con este proyecto se abrirán nuevas rutas para el análisis de la respuesta inmune de pacientes con alergia y toxocariasis aguda.

Se podrá transferir el conocimiento.

Formación de recursos humanos y productos entregables

Se entregará la tesis de dos médicos pediatras especialistas en alergia, una tesis de Licenciatura y una de Maestría (Biología, Facultad de Ciencias, UNAM).

Se entregarán constancias de participación en un congreso nacional y uno internacional de parasitología o alergia.

Se entregará un artículo indizado de nivel 4 y un artículo de revisión del tema

2.5 Análisis estadísticos

Las variables categóricas y numéricas se presentan con frecuencias. Para el análisis de la seropositividad a *T.canis* se realizaron tablas de contingencia de 2x2, evaluación de prueba diagnóstica y curva ROC. Se realizó el análisis bivariado para la asociación entre la seropositividad a *T. canis* con los niveles de gravedad de asma, utilizando el estadístico de ji cuadrada de Mantel-Haenszel ($p < 0.05$ fue considerado significativo).

Resultados

Se analizaron 145 pacientes con asma, la edad, género y lugar de residencia de los pacientes se muestra en la Tabla 1. En dos pacientes se detectó L3TES (1.4%), ambos eran de la Ciudad de México. Uno de ellos, masculino de 8 años de edad, tenía asma leve persistente parcialmente controlada, y se le detectó 0.1 μ g/mL de L3TES, no tuvo eosinofilia y en los coproparasitoscópicos solamente se encontró *Blastocystis hominis*. El otro paciente, de 7 años de edad, tenía asma moderada persistente no controlada, se le detectó 8.96 μ g/mL de L3TES e IgG-anti L3TES, no tuvo eosinofilia, ni otras parasitosis. **Tabla 1.**

La seroprevalencia que se obtuvo con el kit comercial para la detección de IgG fue del 6.2%; con el kit casero sin adsorción con Ag-As fue del 17.24% y con el kit casero con adsorción con Ag-As fue del 17.93% **Tabla 1.**

En el ELISA realizado con sueros preadsorbidos con Ag-As se encontró negativización de tres sueros que había sido positivos en el ELISA sin adsorción, y cuatro muestras que inicialmente fueron negativas, después de la adsorción se hicieron positivas.

Con los resultados de los ELISA para detección de L3TES e IgG con sueros preadsorbidos con Ag-As, se encontró un paciente con L3TES y con probable infección reciente; otro paciente con L3TES e IgG con larva migrans activa, y 25 con IgG con memoria inmunológica o infección pasada.

No se encontró asociación significativa entre la seroprevalencia a *T. canis* y género, edad o lugar de residencia ($p > 0.05$). Tampoco se encontró asociación con gravedad del asma, control del asma o eosinofilia. **Table 1.**

La sensibilidad, especificidad y valores predictivos de las diferentes pruebas se muestran en la Tabla 2. Para discriminar entre el kit comercial y el casero (con sueros preadsorbidos con *Ascaris*), y ambos caseros con y sin preadsorción de los sueros, para la detección de IgG se elaboró la curva ROC. En el primer caso se encontró un área bajo la curva de 0.70 y con ambos caseros se incrementó a 0.91.

Fig.1.

La avidéz mayor del 50% fue en 21 (80.76%) muestras. La avidéz menor al 50% fue en 5 (19.23%). La muestra del paciente con L₃TES e IgG tuvo una avidéz del 91.8%.

Los coproparasitoscópicos en serie de tres, de días alternos fueron negativos para helmintos.

El número de pacientes con T.canis seropositivos fue de 7 (4.8%) de los cuales 3 se encontraban controlados y 4 no controlados sin una diferencia estadísticamente significativa.

No hubo ninguna asociación entre la sero prevalencia positiva de T. canis con el sexo y el mantenimiento de perros en casa (P = 0.3, 0.45, respectivamente). Tampoco encontramos una eosinofilia mayor en los pacientes asmáticos con sero prevalencia positiva de T. canis (P = 1)

En este trabajo, 25 (62.5%) de los pacientes asmáticos tenían rinitis alérgica y 6 casos (15%) tenían eccema. No hubo una correlación significativa entre la frecuencia de anticuerpos contra T. canis y la presencia de rinitis alérgica y eccema (P = 0,76 y 0,67, respectivamente) (Tabla 4).

Characteristics		N	Positive n (%)	Negative n (%)	X ²	OR
Gender	Girls	66	14	52	P=0.1733	1.49 (0.63-3.58)
	Boys	79	12	67		
Age range	5-10	69	11	58	P=0.7564	
	11-17	65	13	52		
	ND	11	2	9		
Estates	Mexico City	113	20	93	P=0.6899	
	State Mexico	18	3	15		
	Guerrero	4	1	3		
	Hidalgo	3	0	3		
	Michoacan	3	1	2		
	Puebla	1	0	1		
	Queretaro	1	0	1		
	Sinaloa	1	1	0		
	ND	1	0	1		
	Stool analysis	Faust	145	0		
Eosinophils	Eosinophilia	36	7	29	P=0.7848	1.143 (0.43-2.99)
	Normal	109	19	90		

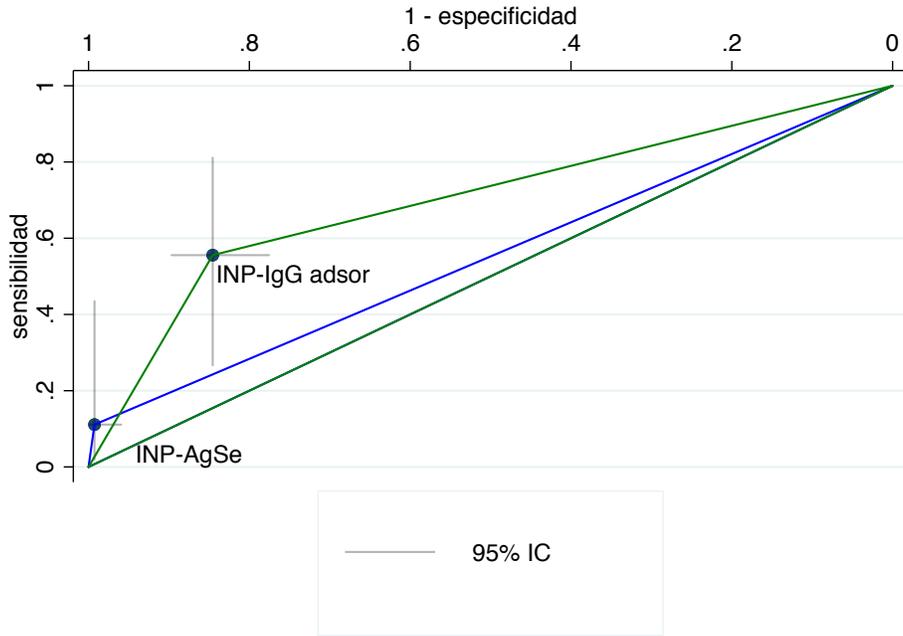
ELISA	L₃TES	145	2	143		
	Kit IgG*	145	9	136		
	Casero IgG**	145	25	120		
	Casero IgG***	145	26	119		
Asthma GINA	Mild intermittent	44	5	39	P=0.5874	
	Mild persistent	48	11	37		
	Moderate persistent	49	10	39		
	Severe persistent	4	0	4		
Mild intermittent and ACQ	Controlled	23	1	22	P=0.1098	
	Partially controlled	15	2	13		
	Not controlled	6	2	4		
Mild persistent and ACQ	Controlled	20	5	15	P=0.2906	
	Partially controlled	17	5	12\$		
	Not controlled	11	1	10		
Moderate persistent and ACQ	Controlled	24	6	18	P=0.9151	
	Partially controlled	12	0	12		
	Not controlled	13	4#	9		
Severe persistent and ACQ	Controlled	1	0	1		
	Partially controlled	2	0	2		
	Not controlled	1	0	1		

***Kit comercial, **hecho en casa utilizando sueros no adsorbidos con antígeno de Ascaris, ***hecho en casa utilizando sueros adsorbidos con**

antígeno de *Ascaris*, \$ detección de L₃TES en un paciente seronegativo a IgG, # detección de L₃TES en un paciente seropositivo a IgG.

Tabla 1. Seroprevalencia a *Toxocara canis* en pacientes pediátricos con asma

A



B

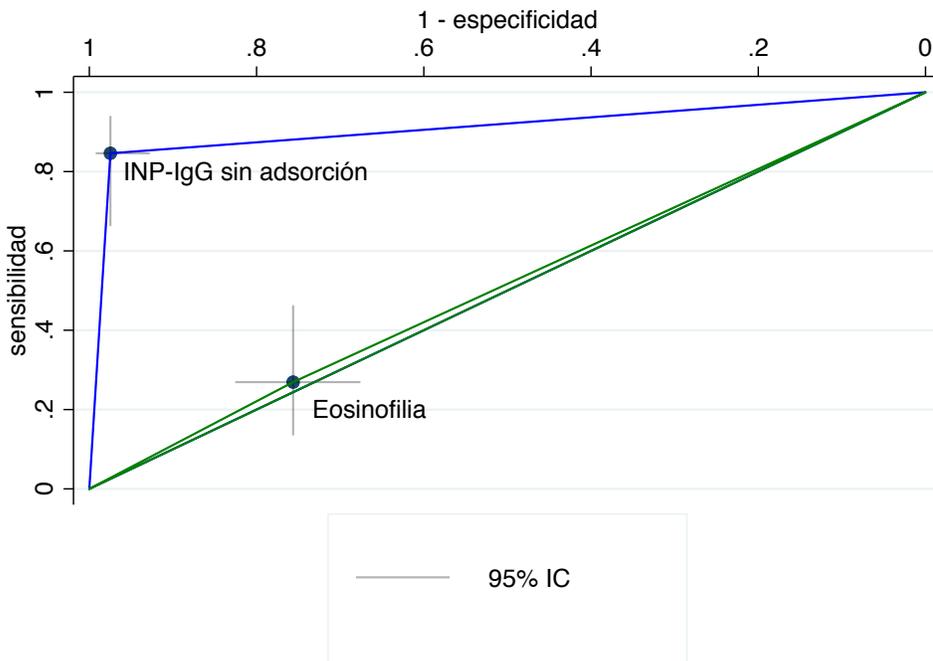


Fig.1. Curvas ROC. A: INP-L₃TES y INP-IgG adsor vs Kit commercial IgG. B: INP-IgG sin adsorción y Eosinofilia vs INP-IgG adsor

ELISA	Sensibilida d % IC95% (Inferior- superior)	Especificida d % IC95% (Inferior- superior)	VPP % IC95% (Inferior - superior)	VPN % IC95% (Inferior - superior)	Precisión de diagnóstic o % IC95% (Inferior- superior)	Área bajo la curva IC95% (Inferior - superior)
Kit comerci al IgG vs INP- AgSE Tcanis	11.11 (1.98-43.5)	99.26 (95.95- 99.87)	50 (9.45- 90.55)	94.41 (89.35- 97.14)	93.79 (88.63- 96.7)	0.55 (0.48 - 0.71)
Kit comerci al IgG vs INP-IgG adsor	55.56 (26.66- 81.12)	84.56 (77.55- 89.67)	19.23 (8.50- 37.88)	96.64 (91.68- 98.69)	82.76 (75.79- 88.04)	0.70 (0.52 - 0.85)
INP-IgG adsor vs INP-IgG sin adsorción	84.62 (66.47- 93.85)	97.48 (92.85- 99.14)	88 (70.04- 95.83)	96.67 (91.74- 98.7)	95.17 (90.37- 97.64)	0.91 (0.79 - 0.96)
INP-IgG adsor vs Eosinofili a	26.92 (13.7- 46.08)	75.63 (67.19- 82.46)	19.44 (9.75- 35.03)	82.57 (74.37- 88.55)	66.9 (58.89- 74.03)	0.51 (0.40 - 0.64)

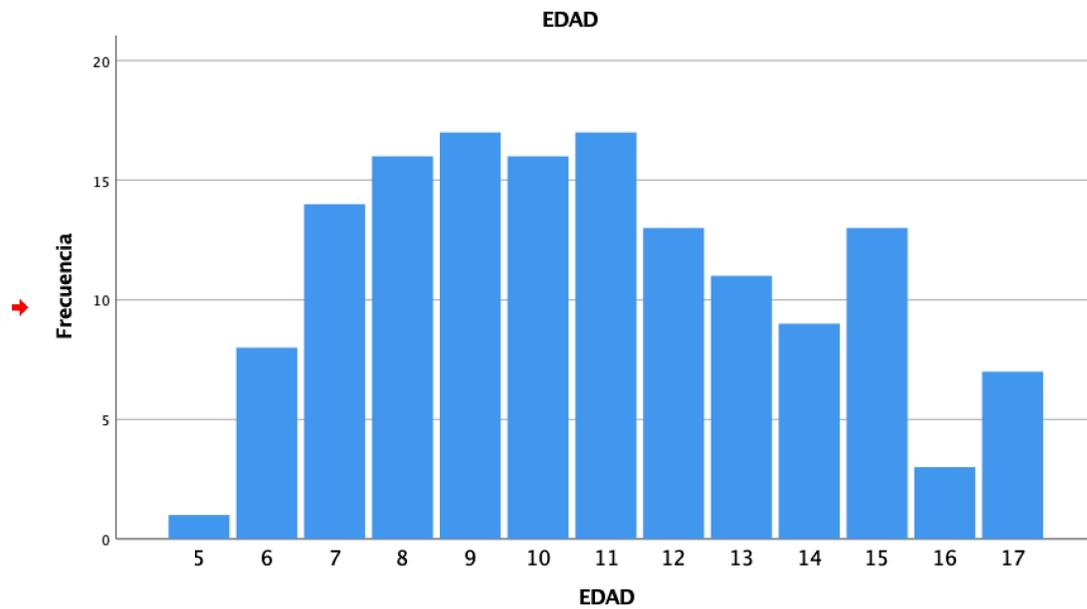
Tabla 2. sensibilidad y especificidad de las diferentes pruebas para la detección de *Toxocara canis* en pacientes con asma

EDAD

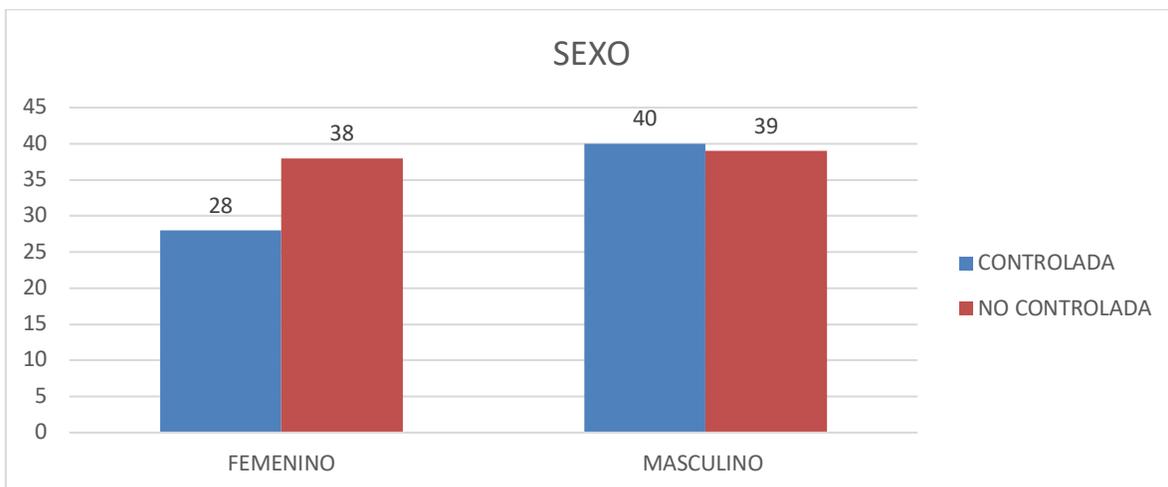
N	Válido	145
	Perdidos	0
Mediana		11.00
Percentiles	25	8.00
	50	11.00
	75	13.00

EDAD

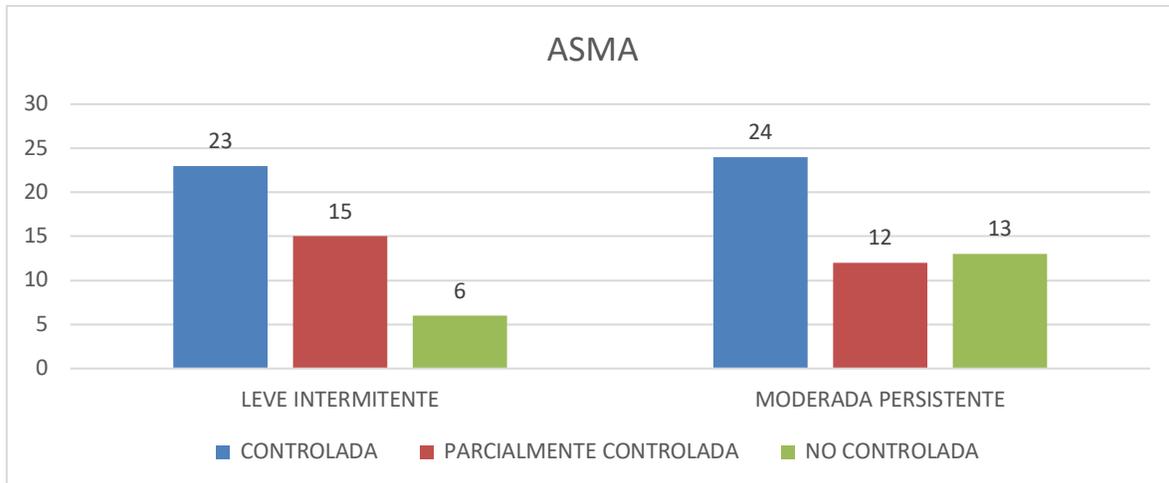
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	5	1	.7	.7	.7
	6	8	5.5	5.5	6.2
	7	14	9.7	9.7	15.9
	8	16	11.0	11.0	26.9
	9	17	11.7	11.7	38.6
	10	16	11.0	11.0	49.7
	11	17	11.7	11.7	61.4
	12	13	9.0	9.0	70.3
	13	11	7.6	7.6	77.9
	14	9	6.2	6.2	84.1
	15	13	9.0	9.0	93.1
	16	3	2.1	2.1	95.2
	17	7	4.8	4.8	100.0
	Total		145	100.0	100.0



GÉNERO



CONTROL POR ACQ



Discusión

Debido a que las larvas de *Toxocara* en hospederos paraténicos pueden vivir durante varios años en fase hipobiótica (5 Strube et al., 2014) y que la presencia de IgG anti-*T. canis* no discrimina entre infección reciente e infección activa (10 Ma et al., 2018), se hace necesario implementar otras estrategias para poder determinar el curso de la enfermedad.

En este estudio mostramos que es posible detectar L3TES en pacientes con asma. El resultado es importante porque la presencia de L3TES sugiere que los pacientes tenían larvas de *Toxocara*; uno de ellos probablemente estaba cursando con una infección reciente porque solamente se le encontró L3TES. El otro paciente ya había montado una respuesta inmune humoral ante la presencia del parásito porque se le detectó IgG anti-*T. canis* y L3TES, este paciente quizá tenía una larva migrans activa, como previamente fue sugerido 26(Rodríguez-Caballero et al., 2017).

Son pocos, pero interesantes los reportes que demuestran la captura de L3TES en pacientes con IgG-anti *T. canis*. Robertson et al (1988)22 detectó L3TES en dos de tres pacientes con LMV, en un paciente con LMO y en 10 de 23 niños con probable filariasis o malaria. Gillespie et al (1993)25 lo encontraron en 19 de 28 pacientes

con IgG positiva y LMV; en uno de 10 pacientes con LMV inactiva, y en 2 de 7 pacientes con LMO. Luo et al (1999)²³ detectaron L3TES en el 39.5% de 43 sueros con IgG positiva, e Ishiyama et al (2009)²⁴ en 5 de 9 pacientes con sintomatología e IgG positiva. En nuestro caso lo detectamos en pacientes con diagnóstico de asma, pero no hubo diferencia significativa entre detección de L3TES y la gravedad del asma ($P > 0.05$); probablemente, porque fueron pocos pacientes en los que se detectó L3TES.

Con la metodología que utilizamos se puede detectar desde 470 pg/mL de L3TES (Rodríguez-Caballero et al., 2015)²⁸, otros autores reportan, 0.004, 0.020 y 0.078 ug /mL de L3TES (Yokoi; Robertson; Luo 1999)³⁰²²²³. En un modelo de cinética de liberación de L3TES en ratones infectados con 100 larvas por vía intraperitoneal se detectaron 1.5 ug/mL de L3TES a los 140 dpi (Rodríguez-Caballero et al., 2017)²⁶, ahora en el suero de uno de los pacientes se encontró una concentración de L3TES, 5.6 veces mayor que en los ratones, lo que sugiere que, con esta metodología se tiene un amplio espectro de detección de L3TES, puede ir desde picogramos hasta varios microgramos, y será necesario realizar más estudios para determinar si la concentración de L3TES influye en el cuadro clínico de los pacientes.

Con respecto a la detección de IgG en pacientes con diferente gravedad del asma, utilizamos un kit comercial como estándar de oro, y un kit casero, sin y con previa adsorción de los sueros con Ag-As, con la finalidad de detectar reacciones cruzadas con *Ascaris lumbricoides*²¹ (Muñoz-Guzmán, et al 2010). Se encontró mayor seroprevalencia con el kit casero que con el kit comercial, este resultado quizá se debió a que nosotros sensibilizamos la placa con una mezcla de L3TES y hay la probabilidad que se reconozcan más epítomos, aunque la obtención de los L3TES es muy laboriosa.

Después de que los 145 sueros fueron adsorbidos se encontró que tres sueros que habían sido positivos a *T. canis* posteriormente negativizaron, estos resultados son interesantes porque se eliminaron tres sueros por reacción cruzada; aunque, los

coproparasitoscópicos en serie de tres fueron negativos para otras helmintiasis, aún así, no podemos descartar que estuvieran infectados con otro nematodo en proceso de migración.

Por otro lado, también es importante decir que cuatro sueros que habían sido negativos, después de la adsorción positivizaron, probablemente fue debido a la liberación de anticuerpos anti-*T. canis* después de la adsorción. Estos resultados muestran que el ELISA indirecto con sueros pre-adsorbidos con Ag-As descarta reacciones cruzadas y puede ser más fácil y rápido que un western blot.

La migración de las larvas de *T. canis* por aparato respiratorio puede producir o exacerbar el asma² 2031 Agahei, López, Lee). En este estudio, ninguno de los cuatro niños clasificados con asma severa: controlada, parcialmente controlada o no controlada fueron seropositivos a *T. canis*. Nosotros no encontramos asociación entre la gravedad del asma y la seropositividad a IgG ($P > 0.05$), tampoco encontramos asociación con el control de asma (cuestionario ACQ) y la seropositividad ($p > 0.05$). Otros autores han reportado mayor seropositividad en pacientes con asma que en personas sin asma: Muñoz-Guzmán et al (2010)²¹ reportaron una seroprevalencia del 30.8% en pacientes pediátricos mexicanos con asma. Fernando (2009)¹⁹ detectaron el 29% en 100 pacientes asmáticos de Sri Lanka.

El índice de avidéz alto se corresponde con una infección pasada (Dziemian 2008)²⁹, nosotros encontramos que el 80.7% de las muestras tuvieron avidéz alta y se correlacionó con el L3TES negativo. Llama la atención el paciente que tuvo L3TES e IgG porque el índice de Avidéz fue alto (91.8%), pero este resultado podría indicar que este niño tenía tiempo de haberse infectado y aún mantenía larvas, como se ha sugerido (Lee, 2014)³¹.

Dada la alta sensibilidad y especificidad entre el ELISA sin y el ELISA con adsorción con Ag-As y la detección de reacciones cruzadas, se propone realizar solamente el ELISA con sueros adsorbidos con Ag-As para reducir gastos. Si agregamos el

ELISA para detección de L3TES, entonces con estas dos pruebas se pueden detectar pacientes con infección reciente, con larva migrans activa y pacientes con infección crónica o con memoria inmunológica.

La detección de IgG se puede utilizar como una prueba de cribado y la detección de L3TES para determinar el estatus de la infección.

Conclusión

No Hubo asociación positiva entre la gravedad del asma o ACQ y la seroprevalencia a *T.canis*. Es posible detectar L3TES en pacientes con asma; la detección de L3TES y de IgG con sueros preadsorbidos con Ag-As son dos técnicas complementarias que permiten determinar el estado de infección por *T.canis* y descartar reacciones cruzadas.

Referencias

- Alvarado-Esquivel C, Hernández-Tinoco J, Sánchez-Anguiano LF. Toxocara infection in gardeners: a case control seroprevalence study. *Asian Pac J Trop Med* 2014; 7(Suppl 1): S79-S81.
- Alvarado-Esquivel C. Toxocara Infection in Psychiatric Inpatients: A Case Control Seroprevalence Study. *PLoS ONE* 2013; 8(4): e62606
- Borecka A, Klapeć T. Epidemiology of human toxocariasis in Poland – A review of cases 1978–2009. *Ann Agric Environ Med*. 2015; 22(1): 28–31.
- Dziemian E, Zaernowska H, Kolodziej-Sobocinska M, Machnicka B. Determination of the relative avidity of the specific IgG antibodies in human toxocariasis. *Parasite Immunology*. 2008;30:187-190
- Gillespie H, Bidwell D, Voller A, Robertson BD, Maizels RM: Diagnosis of human toxocariasis by antigen capture enzyme linked immunosorbent assay. *J Clin Pathol* 1993, 46 (86):551-554.
- Good B, Holland CV, Taylor MR, Larragy J, Moriarty P, O'Regan M. Ocular toxocariasis in schoolchildren. *Clin. Infect. Dis*. 2004;39;173–178.
- Fillaux J, Magnaval JF. Laboratory diagnosis of human toxocariasis. 2013;193;327-336
- Frazier M, Anderson ML, Sophocleous S, Treatment of ocular toxocariasis with albendazole: A case report. *Optometry*. 2009;80:175-180
- Ishiyama S, Ono K, Rai SK, Uga S: Method for detecting circulating *Toxocara canis* antigen and its application in human serum samples. *Nepal Med Coll J* 2009, 11(1):9-13.
- Jiménez-Balderas FJ, García-Jaimes J, Ríos R, Zonana-Nacach A, Tapia-Romero R, Villanueva N, Méndez-Samperio P, de la Rosa-Arana JL. Isolation of IgG Antibodies to *Toxocara* in Ankylosing Spondylitis Patients with Acute Anterior Uveitis. *Korean J Ophthalmol* 2014;28(3):207-21

- Lee ACY, Schantz PM, Kazacos KR, Montgomery SP, Bowman DD. Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends in Parasitology* 2010;26 (4):155-161
- López PG, Morfín MBM, Huerta LJ, Mejía CF, López LJ, Aguilar G, Rivera PJJ, López ML, Vargas F. Prevalencia de las enfermedades alérgicas en la Ciudad de México. *Revista Alergia México* 2009;56(3):72-79
- Nava Cortés N, Romero Núñez C, Bautista GLG, Hernández GPA, Heredia CR. Presence of anti-*Toxocara canis* antibodies and risk factors in children from the Amecameca and Chalco regions of México. *BMC Pediatrics*. 2015;15(65); 2-5
- Maetz HM, Kleinstein RN, Federico D, Wayne J. Estimated prevalence of ocular toxoplasmosis and toxocariasis in Alabama. *J Infect Dis*.1987;156: 414-
- Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. 2004. The global burden of asma: executive summary of the GINA dissemination committee report. *Allergy*, 59:469-78
- Muñoz-Guzmán MA, del Río-Navarro B, Valdivia-Anda G, Alba-Hurtado F. The increase in seroprevalence to *Toxocara canis* in asthmatic children is related to cross-reaction with *Ascaris suum* antigens. *Allergol Immunopathol (Madr)*.2010;38(3):115–121.
- Overgaauw PAM, van Knapen F. Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. *Vet Parasitol* 2013;193:398-403
- Overgaauw PAM. Aspects of *Toxocara* epidemiology: Human toxocarosis. *Crit Rev Microbiol*. 1997;23(3):215-231
- Pérez JM. 2009. Guidelines for the diagnosis and treatment of asthma. *Revista Alergia México*.56 (5), 145-6
- Platts-Mills TAE. 2001. The role of immunoglobulin E in allergy and asthma. *Am J Respir Crit Care Med*.164:S1-S5.
- Ponce-Macotela M, Peralta-Abarca GE, Martínez-Gordillo MN. *Giardia intestinalis* and other zoonotic parasites: prevalence in adult dogs from the southern part of Mexico City. *Vet. Parasitol*. 2005;131;1-4.
- Ponce-Macotela, M., Martínez-Gordillo, Mario, N., Caballero Salazar S, Rodríguez Caballero A, De la Rosa Arana JL. 2011. Toxocariosis. en Becerril-Flores, M.A. Editor. *Parasitología médica. Tercera Edición*. Editorial, MacGraw-Hill, Interamericana, México. ISBN:978-607-15-0512-5.
- Ponce-Macotela, M., Rodríguez-Caballero, A., Peralta-Abarca G.E., Martínez-Gordillo, MN. A simplified method for hatching and isolating *Toxocara canis* larvae to facilitate excretory-secretory antigen collection in Vitro. *Vet Parasitol*. 2011;175;382-5.
- Acevedo Ramírez, PMC, Peralta Abarca GE. "No tiene la culpa el perro, sino quien lo deja en la calle". *Revista Ciencia y Desarrollo*. 2010;36(245):6-12.
- Rodríguez-Caballero, A., Luna-Ochoa, R.I., Peralta-Abarca G.E., Ponce-Macotela M, Martínez-Gordillo, Mario N. A simple and inexpensive *in vitro* method for retrieving fertilized *Toxocara canis* eggs. *Parasitol. Res. (On line: may 1)*, 2007;101;829-32
- Rodríguez-Caballero A, Martínez-Gordillo MN, Medina-Flores Y, Medina-Escutia ME, Meza-Lucas A, Correa D, Caballero-Salazar S, Ponce-Macotela M.

- Successful capture of *Toxocara canis* larva antigens from human serum samples. *Parasites & Vectors*. 2015;8:264:1-6. DOI 10.1186/s13071-015-0875-5
- Romero NC, Mendoza MGD, Yañez SA, Ponce MM, Bustamante PM, Ramírez ND. Prevalence and Risk Factors Associated with *Toxocara canis* Infection in Children. *The Scientific World Journal*. Volume 2013, Article ID 572089, 4 pages
 - Smith H, Holland C, Taylor M, Magnaval JF, Schantz, Maizels R. How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. *Trends in Parasitology*. 2009;25 (4):182-188
 - Strube Ch, Heuer L, Janecek E. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. *Vet Parasitol*.2013;193:375-389
 - Tan H, Sarawate Ch, Singer J, Elward K, Cohen RI, Smart BA, Busk MF, Lustig J, O'Brien JD, Schatz M. Impact of Asthma Controller Medications on Clinical, Economic, and Patient-Reported Outcomes . *Mayo Clin Proc*. 2009; 84(8):675-84
 - Yokoi K, Kobayashi F, Sakai J, Usui M, Tsuji M: Sandwich ELISA detection of excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* larvae using a specific monoclonal antibody. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2002, 33(1):33-37, 2002

Anexo 1: Definición de variables

Variable	Definición	Definición operacional	Escala	Unidad de Medición
Edad	Cantidad de años vividos desde el nacimiento	Se corroborará mediante acta de nacimiento	Cuantitativa Discreta Razón	Años
Género	Características fenotípicas de los individuos basado en sus genitales	Se valorará mediante clínica	Cualitativa nominal dicotómica	Masculino / femenino
Clasificación de imc	Clasificación mediante la Razón matemática que asocia el peso y la talla de un individuo	Z score Desnutrición >-2 IMC normal ≥ 2 a ≤ 1 Sobrepeso > 1 a ≤ 2 Obesidad > 2	Cualitativa ordinal politémica	Desnutrición IMC normal Sobrepeso Obesidad
Gravedad de asma	La gravedad del asma es una propiedad intrínseca de la enfermedad, que refleja la intensidad de las anomalías fisiopatológicas	Escala de severidad de GINA /GEMA	Cualitativa ordinal politémica	1= asma leve 2= asma moderada 3=asma severa
Edad	Cantidad de años vividos desde el nacimiento	Se corroborará mediante acta de nacimiento	Cuantitativa Discreta Razón	Años
Eosinofilia	La eosinofilia es la presencia de una cantidad anormalmente alta de eosinófilos en la sangre.	Se obtendrá de una biometría hemática los eosinófilos expresados en <0.5 normales >0 = 0.5 a 1.5 eosinofilia >0 = a 1.5 hipereosinofilia	Cualitativa nominal Dicotómica	0= sin eosinofilia 1= eosinofilia
	Es una infección zoonótica	Aguda: Larva migrando por tejidos	Cualitativa nominal	0= NO

Toxocariasis	cosmopolita causada por los gusanos nematodos parásitos Toxocara canis	por detección de antígenos por métodos inmunológicos sin anticuerpos anti- larvas (IGM e IGG) Activa: anticuerpos anti-larvas (IGM e IGG) por métodos inmunológicos con o sin Larva migrando por tejidos	Dicotomica	1=Larva migrans aguda o ctiva
TABAQUISMO PASIVO	Pese a no consumir directamente productos provenientes de las labores del tabaco, aspira los de distintos productos provenientes de su combustión	Padre o madre fumadores ó personas con las que vive el paciente fumadores	Cualitativa nominal dicotómica	0= no 1=si

Anexo 2: Definiciones conceptuales

Dimorfismo sexual: La hembra es más grande que el macho; la región caudal del macho termina en curva.

Dioico: Parásitos machos y hembras.

ELISA: ensayo inmunoabsorbente unido a enzima (enzyme-linked immunosorbent assay)

Geohelminto: Una de las fases del parásito necesita madurar en el suelo para ser infectante.

Hospedero definitivo: Es aquel que alberga las formas desarrolladas, maduras o sexuales del parásito.

Hospedero paraténico: un hospedero superfluo e ineficiente, en donde no se desarrolla el parásito. Para que se complete el ciclo biológico del parásito será necesario que otro hospedero ingiera al paraténico.

Nematodo: Organismo cilíndrico, con cutícula, hipodermis y células musculares. Es pseudocelomado, con aparato digestivo completo, sistemas nervioso, excretor y reproductor. Es dioico y con dimorfismo sexual.

Anexo 5. Carta de consentimiento informado

TITULO: “Búsqueda de la asociación entre la concentración de antígenos circulantes de la fase larvaria de *Toxocara canis* con los diferentes niveles de gravedad del asma en pacientes pediátricos”

Investigadores Responsables:

Dra. Martha Ponce Macotela
Dr. Álvaro Pedroza Meléndez

Se le invita a usted para que su hijo participe en un estudio de investigación. Es necesario que usted decida si participará o no en el estudio. Lea cuidadosamente este formato y pregunte al médico del estudio cualquier duda al respecto.

¿Para qué se efectúa este estudio?

Se ha observado que las larvas del parásito *Toxocara canis* pueden producir manifestaciones clínicas (fiebre, tos, y ruidos pulmonares anormales) semejantes al asma. Por tal motivo, es necesario demostrar si este parásito es el que está produciendo los síntomas.

¿En qué consiste el estudio?

En este estudio se incluirán 411 pacientes con asma de primer ingreso, a quienes se les detectarán antígenos de larvas de *T.canis* y anticuerpos anti-*T.canis* en el suero de sangre periférica.

¿Quiénes pueden participar en el estudio?

Niños de 6 a 18 años de edad, con diagnóstico de asma (por criterios clínicos y por la prueba de espirometría)

¿Quiénes no deben participar en el estudio?

Pacientes con retraso mental o cualquier trastorno de conducta que impida llevar a cabo la espirometría y padecimientos oncológicos, inmunodeficiencias, infecciones de vías aéreas de al menos una semana de evolución.

¿Qué le pedirá a mi hijo que haga?

El estudio se llevará a cabo en un periodo de 2 años.

Al momento de ingreso de su hijo al Servicio de Alergia se le realizará a) la prueba de funcionamiento pulmonar (espirometría) para el diagnóstico de asma, b) se le pedirán dos muestra de sangre (3.0 mL/cada una) para la biometría hemática y para las pruebas de detección de antígenos de larvas de *T.canis* y anticuerpos anti-*T.canis*, y c) tres muestras de heces, de tres días alternos para la búsqueda de otras parasitosis

¿Quién sufragará los gastos del estudio?

La espirometría, biometría hemática, detección de *T.canis* y coproparasitoscópicos serán absorbidos por la Institución y los investigadores. Los costos derivados de estudios o medicamentos no relacionados con el protocolo son cubiertos por los pacientes a excepción de efectos secundarios relacionados al estudio de investigación.

¿Qué efectos indeseables pueden pasarle a mi hijo al participar en el estudio?

Sera mínimo al tomar la muestra de sangre, se podrá formar un hematoma (moretón) en la región de la venopunción.

¿Qué debo hacer en caso de que mi hijo tenga alguna molestia?

Acudirá a la Consulta Externa del Servicio de Alergia. Se puede comunicar con el Dr. Pedroza y la Dra. Sandra G Bautista a los teléfonos 10840900-1267

Si mi hijo tiene que hospitalizarse, por un efecto indeseable, relacionado con el estudio, ¿Quién pagará las cuentas del Hospital?

El Instituto

¿Qué beneficio puedo esperar?

Se le dará el diagnóstico de asma y la implicación del parásito en este padecimiento. El diagnóstico no tendrá costo.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas?

Dra. Martha Ponce Macotella (investigador responsable) 10840900-1454

Dr. Álvaro Pedrosa Meléndez, Sandra G. Bautista García (Servicio de Alergia) 10840900-1267 y Dra. Matilde Ruiz García Presidente del Comité de Ética Teléfono 10840900 ext. 1581 en caso de que tenga dudas sobre los derechos del participante.

¿Puedo negarme a que mi hijo participe en este estudio?

La participación es voluntaria y usted puede negarse a participar desde un inicio y no perderá ninguno de los derechos que actualmente tiene como paciente del Instituto, ni de la atención de sus médicos.

¿Quiénes van tener información de los datos de mi hijo.

Los datos personales serán disociados, de tal forma que sólo los investigadores principales podrán saber a quién corresponde la información generada. Los datos serán confidenciales y la información generada para su divulgación no incluirá el nombre del participante.

¿Qué se va a hacer con las muestras biológicas?

De las muestras de sangre que se obtengan, solo se utilizará una parte de ella. Las células serán destruidas de acuerdo a los procedimientos internos del Instituto Nacional de Pediatría. La parte que analizaremos será el suero, parte líquida de la sangre. Los sueros que resulten positivos al parásito que estudiamos, se almacenarán en congelación, por un lapso de 5 años, en el Laboratorio de Parasitología Experimental de la Torre de Investigación “Joaquín Cravioto” del Instituto Nacional de Pediatría, posteriormente serán destruidos bajo los procedimiento internos del Instituto Nacional de Pediatría. Los sueros negativos al parásito, serán destruidos una vez que se tenga el resultado. El uso que tendrán los sueros positivos, será para proyectos de investigación sobre la misma línea de este proyecto: “Parásitos Emergentes y Reemergentes”. Usted podrá solicitar que la muestra sea retirada del estudio en el momento que lo desee y solicitar su destrucción. En caso de que usted decida que las muestras de suero sean conservadas por favor, marque en la siguiente línea:

Si acepto que sean almacenadas **No acepto que sean almacenadas**

Las muestras de heces se inactivarán con cloro y se procederá a su manejo siguiendo los procedimientos internos del Instituto Nacional de Pediatría

¿Puedo conocer los resultados del estudio?

Sí.

Al firmar a continuación, acepto que:

Leí este formato de consentimiento.

Tuve la oportunidad de formular preguntas y éstas fueron contestadas.

Entiendo que la participación de mi hijo es voluntaria.

Acepto que mi hijo participe en el estudio

Doy permiso para que se use y comparta la información referente a mi hijo como se describe en este formato.

Nombre	Firma	Fecha
Del niño*		
Padre o Tutor		
Madre o Tutor		
Persona que conduce la revisión del Consentimiento		
Testigo I. Dirección Relación que tiene con el voluntario		
Testigo II. Dirección Relación que tiene con el voluntario		
Recibí copia de este consentimiento		

*Nombre