



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

Facultad de Estudios Superiores  
Cuautitlán

ESTANDARIZACION DEL ENSAYO POR INMUNOABSORCIÓN LIGADO  
A ENZIMAS (ELISA) DIRIGIDO AL PARASITO *Ascaris lumbricoides*  
PARA LA SEROIDENTIFICACION EN POBLACION PEDIATRICA.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADO EN BIOQUIMICA DIAGNOSTICA  
P R E S E N T A :

AGUILAR SALGADO EDUARDO IVAN

ASESORA: RAQUEL MARIA DEL REFUGIO TAPIA ROMERO



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**



**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

**Estandarización del ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) dirigido al parásito *Ascaris lumbricoides* para la seroidentificación en población pediátrica.**

Que presenta el pasante: **Eduardo Ivan Aguilar Salgado**

Con número de cuenta: **307027775** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 13 de Octubre 2015.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Ma. Esther Revuelta Miranda	
<b>VOCAL</b>	QFB. Leticia Cubillo Carrillo	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Raquel María del Refugio Tapia Romero	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. Socorro Sandra Martínez Robles	
<b>2do. SUPLENTE</b>	QFB. Laura Gricelda Martínez Méndez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

### **Agradecimientos y Dedicatorias.**

A Oralia Salgado Rodríguez que me ha formado en cada virtud en mi vida y que sin su apoyo y amor incondicional nunca habría podido lograr nada en mi vida.

A José Rubén Aguilar García que me enseñó el camino a seguir siempre con su ejemplo, me formo como hombre y como ser humano.

A mi hermano Luis Alberto Aguilar Salgado cuyo carácter me marcó y guió firmemente en cada fase de mi vida.

A Viridiana Acosta Zaldívar cuya llegada a la vida de todos mis seres amados colmo de alegría y felicidad.

A Regina Aguilar Acosta cuya existencia es uno de los pilares más fuertes de mi trabajo y felicidad.

A Olga Cruz, gracias tía por recibirme, cuidarme. Alimentarme, aguantarme y sobre todo gracias por quererme en toda mi etapa universitaria.

A mi maestra Raquel Tapia por ayudarme y guiarme paso a paso en todo éste proyecto y en los que puedan venir.

**Este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Parasitología del Laboratorio Clínico Central del Hospital Infantil de México Federico Gómez.**

**DIRECTORA DE TESIS**

**M. EN C. Raquel María del Refugio Tapia Romero.**

## ABREVIATURAS

**CPS:** Coproparasitoscopico.

**SHC:** Suero hiperinmune de conejo.

**ELISA:** Ensayo por Inmuno Absorción Ligado a Enzimas (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*)

**h/gh:** huevos por gramo de heces

**μL:** Microlitro

**KDa:** Kilodaltones

**U.D.O:** Unidades de Densidad Óptica

**DEPEC:** Dietil pirocarbonato

## INDICE GENERAL

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>I</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>II</b>
<b>INDICE GENERAL.....</b>	<b>III</b>
<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>IV</b>
<b>INDICE DE TABLAS.....</b>	<b>V</b>
<b>1. MARCO TEORICO.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Biología del Parásito.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2 Ciclo de vida.....</b>	<b>12</b>
<b>1.3 Transmisión.....</b>	<b>13</b>
<b>1.4 Patogenia.....</b>	<b>14</b>
<b>1.5 Síndrome de Löeffler.....</b>	<b>16</b>
<b>1.6 Ascariosis y asma.....</b>	<b>17</b>
<b>1.7 Ascariosis pulmonar.....</b>	<b>18</b>
<b>1.8 Respuesta inmune.....</b>	<b>20</b>
<b>1.9 Diagnostico.....</b>	<b>23</b>
<b>1.10 Epidemiología.....</b>	<b>25</b>
<b>1.11 Prevención y control.....</b>	<b>31</b>
<b>1.12 Tratamiento.....</b>	<b>32</b>
<b>2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION.....</b>	<b>35</b>
<b>2.1 Objetivo general.....</b>	<b>35</b>

2.2	Objetivos particulares.....	35
2.3	Justificación.....	35
3.	Materiales y Métodos.....	36
3.1	Parásitos.....	36
3.2	Preparación del antígeno.....	36
3.3	Conjugado enzimático.....	37
3.4	Lectura de placas.....	37
3.5	Muestras.....	37
3.6	Ensayo Inmunoenzimatico.....	38
4.	RESULTADOS.....	39
4.1	Electroforesis del antígeno.....	39
4.2	Titulación del antígeno de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	40
4.3	Titulación del suero hiperinmune de conejo.....	41
4.4	Punto de corte.....	42
4.5	Reacciones cruzadas.....	44
5.	DISCUSIÓN.....	45
6.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	50
7.	REFERENCIAS.....	51
8.	APÉNDICE 1.....	61
9.	APÉNDICE 2.....	63



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Macho y hembra de <i>A. lumbricoides</i>	<b>10</b>
<b>2</b>	Estadios embrionarios de los huevos de <i>A. lumbricoides</i>	<b>11</b>
<b>3</b>	Ciclo de vida de <i>A. lumbricoides</i>	<b>12</b>
<b>4</b>	Porcentaje de Infecciones del aparato digestivo producidas por helmintos y protozoos en el periodo 2006-2010.	<b>26</b>
<b>5</b>	Corrimiento electroforético del Antígeno de <i>A. lumbricoides</i>	<b>39</b>
<b>6</b>	Concentracion Optima del Antígeno de <i>Ascaris lumbricoides</i>	<b>40</b>
<b>7</b>	Dilucion Optima de Suero Hiperinmune de Conejo	<b>41</b>
<b>8</b>	Distribución de Frecuencias	<b>42</b>
<b>9</b>	Reacciones Cruzadas para <i>Ascaris lumbricoides</i>	<b>44</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Sintomatología, según la presentación de ascariosis	<b>19</b>
<b>2</b>	Parásitos causantes de eosinofilia pulmonar.	<b>19</b>
<b>3</b>	Grado de la eosinofilia en algunas parasitosis	<b>22</b>
<b>4</b>	Veinte principales causas de enfermedad en el grupo de 1-4 años.	<b>27</b>
<b>5</b>	Incidencia de ascariosis por grupos de edad.	<b>28</b>
<b>6</b>	Incidencia de casos nuevos de enfermedad por grupo de edad.	<b>29</b>
<b>7</b>	Veinte principales causas de enfermedad en el D.F. por grupos de edad.	<b>30</b>
<b>8</b>	Fármacos para el tratamiento de ascariosis.	<b>34</b>
<b>9</b>	Medidas de tendencia y sus valores	<b>43</b>

## 1. MARCO TEORICO

### 1.1 Biología del parásito

*Ascaris lumbricoides* es el nematodo intestinal de mayor tamaño que parasita al ser humano. De color blanco o rosado nacarado, sus extremos son aguzados correspondiendo el anterior a una boca triangular, con tres labios carnosos finamente dentados. Dos estrías laterales recorren su cuerpo en sentido longitudinal. En general los nematodos intestinales son helmintos cilíndricos; los adultos se caracterizan por un cuerpo algo aguzado, con músculos orientados en sentido longitudinal y un esófago tri-radiado. La mayoría de estos nematodos requiere una fase fuera del huésped humano para que los huevos evolucionen a una forma infecciosa (Koneman, 2006).

La hembra mide 25 a 35cm de largo y 3 a 6 mm de ancho presenta una vulva en la unión del tercio anterior con el tercio medio, continuada por la vagina, un útero doble, oviductos y ovarios. (Atias, A., 2006). El macho es de menor tamaño, habitualmente entre 15 a 30 cm de largo y 2 a 4 mm de ancho y presenta su extremo posterior enroscado ventralmente, a diferencia de la hembra que termina en forma recta, el sistema reproductor está muy desarrollado y ocupa los dos tercios posteriores del parásito. En el macho el aparato genital está compuesto por un largo túbulo muy enrollado y tortuoso, con testículos, conductos deferente y eferente que se abre en la cloaca sub-terminal, junto a un par de espículas copulatorias de 2 a 3 mm de longitud.

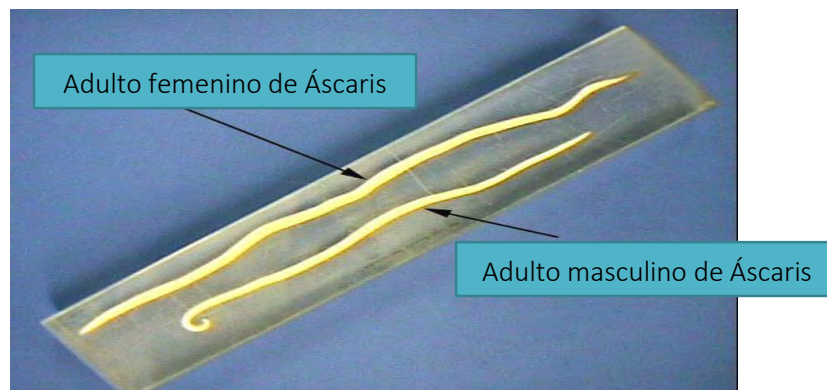


Figura No.1 Macho y hembra de *A. lumbricoides*,

El huevo es un gameto maduro producido por las hembras adultas que residen en el intestino y es expulsado en las heces de los hospederos. Los huevos de la mayoría de las especies de nematodos requieren etapas intermedias de desarrollo en el ambiente externo para alcanzar su forma larvaria y a menudo infecciosa, de acuerdo con la temperatura, la humedad y la naturaleza del suelo en el cual se eliminan (Koneman, 2006).

Los huevos fecundados son de sección elíptica, miden 45 a 75  $\mu\text{m}$  de largo y 35 a 50  $\mu\text{m}$  de ancho; presentan una gruesa cubierta protectora compuesta por tres capas; la más interna es la membrana vitelina, de composición lipídica, inerte y relativamente impermeable, encargada de impedir el ingreso de sustancias tóxicas para el embrión; la capa media gruesa y transparente, y finalmente, una capa externa albuminoidea, de superficie mamelonada y teñida de color café por los pigmentos biliares (Atias, A., 2006).

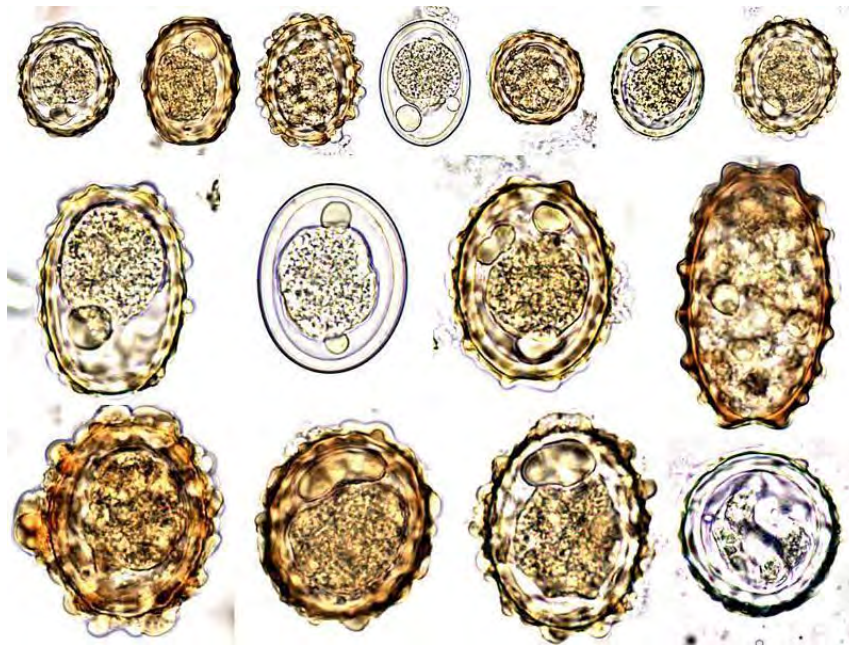


Figura No. 2 Estadios embrionarios de los huevos de *A. lumbricoides*

## 1.2 Ciclo de vida

El ciclo biológico inicia cuando un ser humano adquiere la infección mediante la ingesta de huevos larvados por vía fecal-oral directa o a partir de alimentos o aguas contaminadas por excretas humanas. En el duodeno eclosionan las larvas (L2), penetran en la pared intestinal y vía hemática o linfática, pasan al hígado, corazón y entre los 9 y 12 días después de su ingesta, llegan al pulmón donde las L3 rompen el capilar pulmonar que las contiene. De ahí pasan a los alveolos, ascienden por los bronquiolos, la tráquea y llegan a la epiglotis como L4 donde son deglutidas. De allí van al esófago, estómago y finalmente al intestino delgado. Después de haber completado sus mudas larvares durante esta migración se desarrolla el adulto alrededor de los 2 meses después de la deglución de los huevos. La maduración y fecundación de las hembras permite la oviposición de entre 20.000 a 240.000 huevos por día, que al ser expulsados, maduran en el suelo hasta ser ingeridos por otro hospedero susceptible, cerrando así el ciclo biológico del parásito (Contrera, 2006).

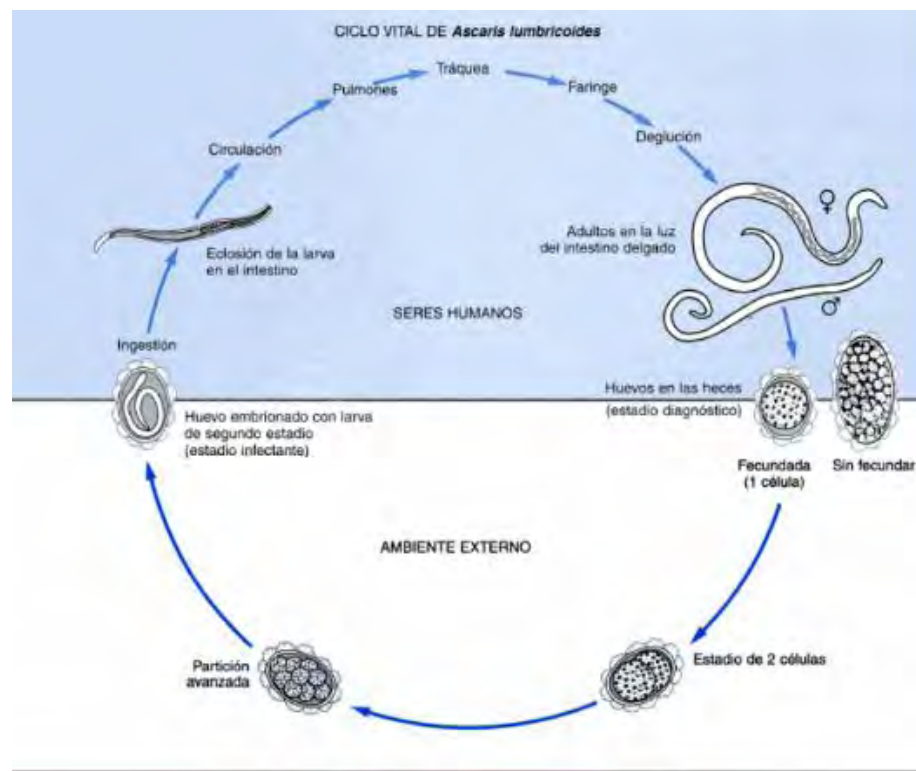


Figura No. 3 Ciclo de vida de *A. lumbricoides*

### 1.3 Transmisión

La transmisión de los huevos de *A. lumbricoides* se asocia con la ingestión accidental de tierra; sin embargo, su ingestión deliberada sobre todo en población infantil y la ingestión de verduras, legumbres y frutas contaminadas tiene una importante contribución (Solano L., 2008).

Varios estudios sugieren que el riesgo de transmisión debido a alimentos contaminados puede estar incrementándose a medida que las presiones a agricultores para reducir al mínimo el uso de fertilizantes artificiales y conservar el agua fomenten indirectamente la reutilización de aguas residuales como fertilizante orgánico y para el riego de cultivos de campo y jardines de invernadero (Guyatt, H.L., 1990).

El conjunto de factores predictivos ambientales, sociales y conductuales del aumento de la producción de huevos de *A. lumbricoides* no siempre es uniforme en todos los estudios, sino que se describe frecuentemente hacinamiento, deficiente educación de las madres, defecación a ras del suelo, suministro inadecuado de agua, pobreza, estado nutricional carencial, uso de biosólidos humanos para fertilizantes, riegos, geofagia, omisión del lavado de las manos antes de comer y coprofagia. (Scott M., 2008).

La escasez de agua para uso urbano y la mayor dependencia del riego para la producción agrícola en zonas de rápido crecimiento demográfico, han contribuido a que a nivel internacional aumente el interés en el re-uso del agua; tan solo en México se estima que 15 000 hectáreas dependen del riego con agua residual y los riesgos que esto conlleva.

No obstante de que cada vez se usa más el agua residual, se carece de información epidemiológica sobre los riesgos reales para los trabajadores agrícolas y los consumidores de productos regados con ellas. (Cifuentes, Enrique; Blumenthal, Ursula; Ruiz, Guillermo; Bennett, Stephen; Peasey, Anne.1994).

El periodo desde la ingestión de los huevos hasta su detección en las deposiciones fluctúa entre 10 y 11 semanas. Los gusanos adultos viven entre 1 y 2 años. Durante este tiempo, los adultos se aparean y los huevos de *A. lumbricoides* son arrastrados por las heces. Las estimaciones de fecundidad varían considerablemente entre regiones geográficas, fluctuando desde 10 hasta 220 huevos por gusano hembra por gramo de heces.

Los huevos de *A. lumbricoides* son más resistentes a la defecación que los huevos de uncinaria o de *Trichuris trichiura*. Si las condiciones ambientales son favorables se ha descrito que sobreviven durante periodos de hasta 15 años. Son también muy adherentes y se acoplan fácilmente a frutas, verduras, partículas de tierra y polvo, juguetes, billetes, moscas y cucarachas (Scott M., 2008).

#### **1.4 Patogenia**

Entre la patología inducida por los gusanos adultos destacan manifestaciones de malabsorción, los gusanos adultos causan irritación de la mucosa del intestino delgado debido al movimiento y presión que hacen por su gran tamaño; además, ocasionan inflamación de esta mucosa y pueden producir diarrea u obstrucción intestinal cuando se entrelazan, invasión del conducto biliar o del apéndice, dando lugar a pancreatitis aguda y apendicitis; la irritación mecánica en el intestino delgado causa dolor abdominal difuso y en ocasiones diarrea, meteorismo, náuseas y vómito; la ascariosis, además, interfiere con la nutrición ya que produce anorexia y merma de la utilización de carbohidratos, lípidos y proteínas, debido a que el parásito consume estos elementos, puede disminuir su absorción aunado a la diarrea y el vómito (Botero, J., 2001).

Los adultos viven en el yeyuno; cuando migran a través del intestino y existe un gran número de ellos (entre 100 y 200 gusanos) pueden entrelazarse al pasar por el íleon y propiciar obstrucción del intestino mediante la formación de una masa sólida que causa inflamación, espasmo, vólvulos, invaginación y obstrucción mecánica (Scott M., 2008).

Cuando existe obstrucción los signos son irritación peritoneal y estado de choque, se requiere resucitación y cirugía de urgencia. En los casos de sub-oclusión parcial la administración de pamoato de pirantel precipita la obstrucción intestinal, ya que causa parálisis espástica en los gusanos; en cambio, el citrato de piperazina produce una parálisis flácida y se puede aplicar por sonda nasogástrica con éxito de 80% (Rodríguez-García, AJ, 2004).

Si la carga parasitaria es baja en general no hay síntomas, pero si es elevada, entre los 4-15 días después de la infección, puede aparecer sintomatología respiratoria como consecuencia del paso de las larvas a través de los pulmones; esto se caracteriza por tos, disnea, hemoptisis y puede aparecer fiebre. En esta fase puede aparecer eosinofilia (síndrome de Loeffler). Estos síntomas agudos suelen autolimitarse y tienden a desaparecer entre los 5-10 días. Las personas sensibilizadas pueden sufrir ataques de asma que pueden mantenerse hasta que se eliminen los vermes adultos. En la fase de migración pulmonar pueden hallarse de forma casual larvas en el esputo o aspirado gástrico (Wei Chern Gan, R., 2014).

Son numerosas las patologías asociadas a eosinofilia. Entre ellas se deben destacar las patologías alérgicas (asma bronquial, fiebre del heno y urticaria), desórdenes gastrointestinales (gastroenteritis eosinofílica, colitis ulcerosa, enteropatía perdedora de proteínas), hematológicas (enfermedad de Hodgkin, linfocitosis pulmonar, eosinofilia pulmonar, eosinofilias familiares y hereditarias), postinfecciones bacterianas (estreptococcias), virales (hepatitis y mononucleosis infecciosa), y las atribuibles al uso de ciertos medicamentos como penicilina, fenobarbital, post-radiación y ciertas mesenquimopatías. Evidentemente, al investigar la causa de una eosinofilia debe considerarse la edad del paciente, la zona geográfica de la cual procede, antecedentes mórbidos, saneamiento ambiental de la región donde vive, características climáticas de la zona, hábitos alimentarios, costumbres, existencia de animales domésticos, etc. Así por ejemplo, en estudios practicados en adultos en la Clínica Mayo (USA), el 4% de las eosinofilias estudiadas, fueron atribuibles a agentes parasitarios, en tanto que en Chile en



población pediátrica, los agentes parasitarios se consideran los responsables de alrededor del 80% de las eosinofilia investigadas (Isabel Noemi H., 1999).

En la fase invasora o migratoria de las helmintiasis, la eosinofilia es uniformemente elevada mientras exista una respuesta tisular inflamatoria mantenida. En la fase crónica de la infección se pueden presentar alzas fluctuantes de los eosinófilos que, en ocasiones, persisten por meses (Taylor Francis, 1992).

### **1.5 Síndrome de Löeffler**

Esta enfermedad corresponde al síndrome descrito por Loeffler en 1932 caracterizado por infiltrados pulmonares migratorios, eosinofilia y síntomas escasos o incluso ausentes. La radiografía de tórax muestra opacidades alveolares y/o intersticiales uni o bilaterales, transitorias y migratorias, de localización periférica (Contrera., 2006).

Existen tres tipos de eosinofilia: la causada por parásitos, la provocada por drogas y las formas idiopáticas. Los parásitos responsables pueden ser diversos, siendo los más frecuentes *Toxocara canis* y *A. lumbricoides*. En este caso, una vez que los huevos han ingresado al intestino, se desarrolla la forma larvaria que migra por la circulación sanguínea y linfática, alcanzando los capilares pulmonares. En éstos se desarrolla la forma adulta que pasa al sector alveolar, pudiendo alcanzar la vía aérea superior y expulsarse o ser deglutida. El tránsito pulmonar causa los síntomas que constituyen el síndrome de Loeffler. Se debe tener en cuenta que el diagnóstico por estudio coproparasitológico tiene una latencia de semanas con respecto a los síntomas respiratorios, debido a que la forma adulta alcanza el intestino posteriormente al pasaje pulmonar (Muñoz-Batet, C., 2009).

En el caso de ascariosis, la fase migratoria es responsable de reacciones inflamatorias y de hipersensibilidad en los pulmones, incluyendo neumonía y eosinofilia pulmonar. (Contrera, M., 2006) La migración de larvas de nematodos por el organismo desencadena habitualmente eosinofilia muy elevadas. (Guyatt HL .,

1990). Esta migración puede afectar, sobre todo, al pulmón, constituyendo el síndrome de Loeffler, originado por las larvas de los parásitos *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* y *Strongyloides stercoralis* (Contrera, M., 2006).

El ser humano puede ser hospedero accidental de las larvas del *Ascaris* del perro y del gato, las que provocan granulomas inflamatorios en el hígado, pulmón, ojo, encéfalo, etc., determinando un cuadro de larva migrante visceral. En estos casos, además del síndrome infeccioso y de la hipergamaglobulinemia, puede existir un recuento mayor o igual a 8 000 eos/mm<sup>3</sup>. Esta afección se presenta muy frecuentemente en niños preescolares, constituyendo una importante causa de eosinofilia en este período de la vida (Isabel Noemi H., 1999).

### **1.6 Ascariosis y asma.**

El asma secundaria a ascariosis, tiende a ser más generalizada en las zonas donde es endémica la infección por el parásito. En 1970 Tullis describió entre un grupo de asmáticos canadienses, que éstos invariablemente habían cursado con nematodos gastrointestinales y este hallazgo en su momento constituyó la evidencia más convincente para la hipótesis de que los parásitos causaban asma. (Guyatt HL, 1990). Sin embargo, el estudio de Tullis posteriormente fue duramente criticado por razones técnicas. Además, tan sólo un año después, Van Dellen y Thompson en 1971 (Van Dellen, R. G. y Thompson, J. H., 1971) publicaron hallazgos de pacientes con ausencia de parásitos intestinales y asma, sin embargo se ha documentado que los tratamientos antihelmínticos se asocian con la resolución del estado asmático (Orr, T. S. y Blair, A. M., 1969).

Joubert's entre 1979 y 1980 (Joubett, JR, De Klerk, HC y Malan C., 1979), describieron que los sujetos con una reactividad cutánea inmediata a los extractos de *Ascaris* tenían una mayor prevalencia de asma, sin embargo Grove (1982) argumentó que los asmáticos tienen mayor capacidad para montar una respuesta exacerbada frente a antígenos del parásito (Grove, DI, 1982). Lynch en 1987 llegó

a la conclusión de que "en condiciones de helmintiasis intestinal esporádica o leve, la reactividad alérgica se potencia" (Lynch, NR, 1987). Sin embargo, más tarde calificó esta declaración con la descripción de una situación en la que la infección intensa por helmintos puede tener un efecto supresor sobre el desarrollo de la enfermedad alérgica causada por alérgenos ambientales (Guyatt, HL, 1990).

### **1.7 Ascariosis pulmonar**

Existen dos vías de llegada completamente diferentes a cavidades pleurales: la primera a través del árbol bronquial como una consecuencia de regurgitación de parásitos que pasan de faringe a laringe en el curso de un vómito. La segunda a través de perforaciones diafragmáticas en el curso de una ascariosis biliar (Duron M., 2004). La ascariosis pulmonar en el hospedero humano está relacionada con la ruptura de los capilares y de las paredes de los tabiques alveolares causada por las larvas L3 y L4 de *A. lumbricoides*, ocasionando focos de microhemorragias. Se observan infiltrados linfoplasmocitarios eosinofílicos en tabiques y alveolos, con congestión y un exudado que se manifiesta clínicamente como una neumonitis; el cuadro de neumonitis en el humano puede ser causado también por las larvas de tercer y cuarto estado (L3-L4) de *A. suum*, habiéndose demostrado la existencia de infección cruzada, aunque las larvas de origen porcino no llegan al estado adulto en el humano (Hermes E, 2005).

Por otra parte, se desarrolla una respuesta inflamatoria toxi-alérgica proporcional al número de larvas en migración y a la existencia de infecciones anteriores que hayan sensibilizado al paciente (Atias A, 2006).

**Tabla No. 1 Sintomatología, según la presentación de ascariosis**

Síntomas y Fisiopatología de la infección con <i>A. lumbricoides</i>	
Síntomas	Fisiopatología
-Respiratorio -Disnea -Hemoptisis -Fiebre -Tos	-Migración de la larva dentro del sistema respiratorio-vascular y los alveolos, causa una neumonía reactiva eosinofílica, también conocida como síndrome de Löeffler
-Gastrointestinal -Paso fecal u oral de los gusanos -Nausea -Vomito -Dolor abdominal -Carraspeo constante	-Acción mecánica de los gusanos en el intestino

Wei Chern G. R., 20014

**Tabla No.2 Parásitos causantes de eosinofilia pulmonar.**

Parásitos causantes de eosinofilia pulmonar.

---

*Ascaris sp*  
*Toxocara sp*  
*Equinococos sp*  
*Entamoeba histolytica*  
*Estrongiloides estercoralis*  
*Necator americano*  
*Ancylostomas sp*  
*Esquistosoma sp*  
*Triquinella espiralis*  
*Wucheria bancrofti*

---

Contrera M., 2006

## 1.8 Respuesta inmune

En los últimos años, se sugiere la existencia de una polarización clonal en la respuesta de las células T CD4+ basado en su perfil de secreción de citocinas. Las células T helpers de tipo 1 (Th1) producen INF-gamma, IL-2 y factor de necrosis tumoral beta (TNF- $\beta$ ) los cuales activan macrófagos y son responsables de la inmunidad celular mediada por células. En contraste las células T de tipo 2 (Th2) producen IL-4, IL-5, IL-10, e IL-13, las cuales son responsables de una fuerte respuesta por anticuerpos e inhiben muchas de las funciones del macrófago (Romagnani S, 1999).

Las respuestas Th1 preferentemente se desarrollan durante las infecciones por microorganismos intracelulares, mientras las células Th2 predominan durante las infestaciones por nemátodos gastrointestinales. La polarización de las células Th1 y Th2 no solamente producen un diferente grupo de citocinas, las que resultan en distintas propiedades funcionales, sino también muestran una expresión preferencial de algunos marcadores. Muchos factores pueden influir en la diferenciación de las células Th, los que incluyen los perfiles de citocinas de la "inmunidad natural" que son evocados por diferentes agentes ofensivos, la naturaleza de los péptidos ligantes, así como la actividad de algunas moléculas co-estimulantes y hormonas secretadas en el microambiente, en el contexto general (Cooper P, 2000).

En adición, los diferentes papeles que juegan en la protección, la polarización de las respuestas de tipo Th1 y Th2 pueden también ser responsables para diferentes tipos de reacciones inmunológicas en humanos. Las respuestas dominantes Th1 están involucradas en la patogénesis de desórdenes autoinmunes órgano-específicos, como la enfermedad de Crohn, la úlcera péptica inducida por *Helicobacter pylori*, el rechazo agudo al alotrasplante de riñón y los abortos recurrentes no explicados (Caraballo L, 2012).

En contraste las respuestas alérgeno-específicas Th2, predominan en el síndrome de Omenn, la fibrosis pulmonar idiopática y la esclerosis sistémica progresiva, además juegan un papel en la rápida evolución de la infección por VIH a SIDA. El

paradigma Th1/Th2 no solamente permite una mejor comprensión de los mecanismos envueltos en la protección, sino también en la patogénesis de muchos desórdenes inmunopatológicos y proveen de una base para el desarrollo de nuevos tipos de vacunas contra agentes infecciosos y de nuevas estrategias para la terapia de la alergia y las enfermedades autoinmunes (Romagnani S, 1999).

Parece que hay poca diferencia en las respuestas inmunitarias del huésped durante las diversas etapas del ciclo de vida de *Ascaris lumbricoides*. Los parásitos en fase de pulmón (L3 / L4) causan respuestas significativas y altamente polarizadas a Th2 que persisten a lo largo del ciclo de vida. Las personas con infección crónica muestran reducción en la respuesta Th1 con actividad dramáticamente menor de TNF- $\alpha$  e IL-12. Las respuestas inmunitarias Th2 e IgE (inducida por IL-4 e IL-5) son elevadas. Se ha planteado la hipótesis de que una liberación sustancial de citocinas Th2 promueve la inmunidad protectora, lo que sugiere una adaptación del huésped para controlar la carga de parásitos mientras mantiene al mínimo el daño causado por su propia respuesta inmune (Guyatt HL, 1990).

Se han aislado y definido alérgenos a partir de nematodos. La importancia de un alérgeno dado en las respuestas de hipersensibilidad se determina por la ocurrencia de anticuerpo a la misma, como probablemente será determinado por el tipo MHC de cada individuo infectado. Esto es particularmente importante para los casos en los que una especie de antígeno se sintetice en grandes cantidades. Un ejemplo de esto sería el alérgeno ABA-1 de *A. lumbricoides* que es la proteína más abundante del fluido pseudo-celómico del parásito, se han usado dodecil sulfato de sodio y hecho electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) obteniendo varios tamaños entre 9000 y 14 000 Da y se cree que es idéntico a un alérgeno de *A suum*, que fue descrito hace casi dos décadas (Greenspon, LW, 1986).

El antígeno ABA-1 está presente en tal abundancia que las personas que producen anticuerpos IgE serían posiblemente más propensos a sufrir reacciones de hipersensibilidad a la infección que los que no. La proteína también se encuentra en el sobrenadante de cultivos larvarios de *A. lumbricoides* y una molécula de

tamaño y características similares es liberada por los parásitos adultos *in vitro*. La posibilidad, por lo tanto, es que ABA-1 sea secretado por todas las fases parasitarias de *A. lumbricoides* y también es probable que sea secretado durante la muda o después de la muerte del parásito. ABA-1 podría entonces contribuir a reacciones alérgicas tales como el síndrome de Loeffler en ascariosis, una respuesta de hipersensibilidad pulmonar a veces letal. Dentro del grupo ascárido de los nematodos, hay evidencia de que un homólogo de ABA-1 se produce en *Toxocara canis* y *Anisakis simplex*. Los homólogos de ABA-1 podrían, por lo tanto, ser producidos por una amplia gama de especies de nematodos y podrían ser importantes para la inmunobiología de muchas nematodosis (Guyatt HL, 1990).

Se ha logrado identificar los antígenos de excreción y secreción (AgE/S) de la larva infectiva (L2), así como de las L3 y L4 de *A. lumbricoides* encontrando antígenos que tienen un peso molecular que varía de 14 a 140 KDA; así mismo, se ha encontrado homología en cuanto a niveles moleculares e inmunológicos entre los AgE/S de *A. lumbricoides* y los de *A. suum*. Se ha verificado que el antígeno somático del helminto induce elevada producción de IgG4 (Hermes E, 2005).

**Tabla No.3 Grado de eosinofilia en algunas parasitosis**

Parasitosis del Intestino	Eosinofilias	Parásitos de los Tejidos	Eosinofilias
Protozoosis:		Protozoosis:	
Amebosis	(-)	Tripanosomiosis	(-)
Giardiasis	(+ -)	Toxoplasmosis	(+)
Balantidiasis	(-)	Malaria	(-)
Isosporosis	(+ +)	Leishmaniosis	(-)
Sarcocystosis	(+)	Tricomoniosis	(-)
Helmintiasis:		Helmintiasis:	
Ascariosis	(+)	Larva migrante visceral	(+ + + +)
Oxyuriasis	(+)	Filariosis Hidatidosis	(+ + + +)
Tricocefalosis masiva	(+ + +)	Hidatidosis	(+)

## 1.9 Diagnóstico

Los nematodos son parásitos que suelen ser comunes de los seres humanos y se estima que tan solo *Ascaris lumbricoides*, podría infectar a una cuarta parte de la población mundial, debido a que las hembras sexualmente maduras producen miles de huevos, la morfometría característica de éstos permite que las infecciones se puedan diagnosticar por microscopía directa de las heces de los portadores. Debido a que el número de gusanos no se puede determinar hasta que son expulsados del intestino, los parasitólogos utilizan la técnica de concentración de huevos en las heces como una estimación indirecta de la carga parasitaria, lo que genera muchas fuentes de error debido a múltiples factores asociados con el ciclo biológico del parásito, la dilución de éstos en la materia fecal, etc. Sin embargo, cuando se tiene una muestra razonable, la concentración promedio de huevos en las heces se considera representativa de la carga parasitaria. (Hall A y Holland C, 2000). Esto fue reconocido en 1987 por un comité de expertos de la OMS, que definió una infección ligera con *A. lumbricoides* como  $< 5.000$  h/gh y una infección fuerte como  $>50\ 000$  h/gh. También se han propuesto umbrales para *Trichuris trichiura* y las uncinarias que ahora están siendo utilizados para guiar los programas para el control de helmintos transmitidos por el suelo (Brooker S, Alexander N, Geiger S, et al, 2006).

Sin embargo, los CPS no indican si la persona está enferma, ya que la morbilidad se relaciona con el número de gusanos que viven en el intestino. Generalmente la técnica de Kato-Katz arroja estimados útiles de la intensidad de la parasitosis ya que nos da el número de huevos por gramo de heces (h/gh) mismo que aumenta cuando aumenta el número de parásitos intestinales en el caso particular de ascariosis. Otras técnicas útiles para el diagnóstico de *Áscaris* en estadio adulto son las técnicas de concentración por sedimentación (Ritchie) y algunas de concentración por flotación (Faust y Ferreira), sin embargo, si las cargas parasitarias son de moderadas a elevadas, incluso una microscópica directa permite poner en evidencia su presencia (Crompton DWT, Nesheim MC, 2002).



La historia clínica, el estado de higiene y la historia de viajes recientes a áreas endémicas proporciona información de utilidad a considerar al hacer el diagnóstico, sin embargo, para la confirmación del diagnóstico definitivo es precisa la visualización microscópica de los huevos en las heces.

Las ascariosis extraintestinales constituyen un problema real para su diagnóstico ya que cursan con una clínica poco clara, debido a que no hay signos ni síntomas patognomónicos que orienten a su etiología y por ende son tratadas en una primera intención como otra entidad clínica que no cede a los tratamientos convencionales, es entonces cuando el cuadro presenta una tendencia hacia una evolución tórpida, hasta que el médico puede sospechar de una etiología parasitaria. La detección de anticuerpos séricos no tiene relevancia para fases intestinales, lo cual no es problema ya que éstas pueden diagnosticarse relativamente fácil con los CPS, sin embargo la detección de anticuerpos si es relevante cuando se trata de fases extraintestinales y se asocia con los antecedentes epidemiológicos, sanitarios y clínicos del paciente. Es en estos casos cuando el disponer de técnicas diagnósticas como los inmunoensayos permiten determinar al menos la presencia de anticuerpos dirigidos hacia antígenos propios del parásito y así ir integrando el diagnóstico para dar la oportunidad al médico y al paciente de acceder a otro dato valioso para el manejo adecuado.

Desafortunadamente cada vez es menos frecuente que se cuente con paneles para el diagnóstico serológico de helmintos, sobre todo en países como el nuestro donde los programas de desparasitación masiva ya han cumplido más de una década operando, pues se considera poco probable que estos parásitos circulen y tengan contacto con la población.

## 1.10 Epidemiología

El patrón epidemiológico de la infección por *A. lumbricoides* en una comunidad está bien documentado y sigue un patrón similar en todas las regiones donde es endémica. En gran parte, la pauta resulta de la ingestión continua de huevos, dando lugar a la superposición de gusanos existentes y nuevos gusanos entrantes y a la rápida reinfección consecutiva al tratamiento farmacológico (Anderson RM, y May RM, 1991). De este modo, en regiones donde *A. lumbricoides* es endémico, es probable que las personas permanezcan infectadas durante una gran parte de su vida. Se han descrito infecciones en niños de sólo cinco meses de edad y tanto la prevalencia como la carga parasitaria aumentan rápidamente con la edad. (Olsen A., 2007).

Un estudio en Zanzíbar (Tanzania) en lactantes describió que la prevalencia de *A. lumbricoides* se elevó desde aproximadamente el 7% en niños de 5 a 9 meses y hasta alrededor del 20% en lactantes de 10 a 11 meses de edad. (Goodman D, Haji HJ, Bickle QD, et al, 2007).

La prevalencia y la intensidad alcanzan normalmente su máximo en el grupo de edad entre 6 y 10 años. Aunque la prevalencia suele mantenerse elevada incluso en la población adulta, la intensidad declina normalmente en esta población (Anderson RM y May RM., 1991).

En Sri Lanka, Gunawardena y cols., describieron que el número total de días por mes con lluvia (días húmedos) proporcionaba una mejor correlación con la intensidad y las tasas de reinfección por *A. lumbricoides*. La prevalencia no excede normalmente del 10%, a menos que las precipitaciones anuales superen el intervalo de 1.000 a 1.400 mm en función de las condiciones locales del suelo.

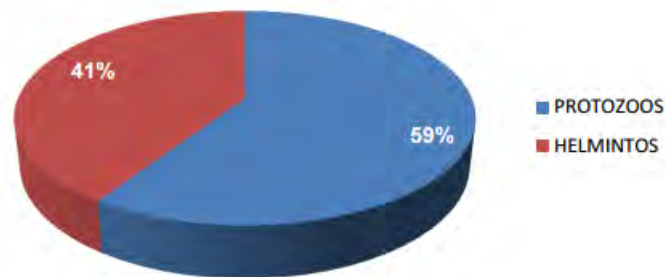
Además de las curvas características de edad-prevalencia y edad-intensidad, la infección por *A. lumbricoides* está agregada en el seno de la población, de manera que la mayoría de los gusanos se hallan en una pequeña proporción de la población hospedera. Se cree que esta agregación es el resultado de la heterogeneidad entre

los hospederos en una variedad de factores que influyen sobre las tasas de exposición a los huevos en el entorno y el establecimiento y la supervivencia de los parásitos.

Los factores de riesgo para la infección intensa de *A. lumbricoides* se han asociado con su prevalencia en la familia, la vivienda, el hacinamiento y el área urbana o rural (Scott M, 2008).

Durante el periodo 2006-2010, el 72% de las enfermedades infecciosas y parasitarias del aparato digestivo son debidas principalmente a virus y las mal definidas (etiología no especificada); estos casos son reportados en 72514513 habitantes, derechohabientes de las diferentes instituciones que proveen servicios de salud en México como lo son IMSS, ISSSTE, PEMEX, Marina, Defensa, Seguro Popular e instituciones privadas.

Del 12% de las parasitosis causadas, 5656776 de casos reportados, son los protozoos y los helmintos (59% y 41% respectivamente).



**Figura No.4 Porcentaje de Infecciones del aparato digestivo producidas por helmintos y protozoos en el periodo 2006-2010.**

**Rodríguez Madrigal**

En México como en la mayoría de los casos en el mundo, la enfermedad se manifiesta mayoritariamente en población infantil, los datos de prevalencia e incidencia de ascariosis (en el Distrito Federal) se encuentran en las tablas 4 – 7.

**Tabla No. 4. Veinte principales causas de enfermedad en el grupo de 1-4 años.**

Veinte principales causas de enfermedad en el grupo de 1-4 años Estados Unidos Mexicanos 2012 Población General				
Número	Padecimiento	Código de la lista detallada CIE 10a. Revisión	Casos	Incidencia*
1	Infecciones respiratorias agudas	J00-J06, J20, J21 excepto J02.0 y J03.0	5 735 121	64 462.55
2	Infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas	A04, A08-A09 excepto A08.0	1 035 519	11 639.20
3	Infección de vías urinarias	N30, N34, N39.0	150 619	1 692.95
4	Otitis media aguda	H65.0-H65.1	101 653	1 142.58
5	Varicela	B01	93 788	1 054.17
6	Amebiasis intestinal	A06.0-A06.3;A06.9	70 853	796.39
7	Asma y estado asmático	J45, J46	68 635	771.45
8	Conjuntivitis	B30, H10.0	60 727	682.57
9	Desnutrición leve	E44.1	58 199	654.15
10	Otras helmintiasis	B65-B67, B70-B76, B78, B79, B81-B83	49 732	558.99
11	Neumonías y bronconeumonías	J12-J18 excepto J18.2	29 836	335.36
12	Intoxicación por picadura de alacrán	T63.2, X22	24 308	273.22
13	Faringitis y amigdalitis estreptocócicas	J02.0, J03.0	23 065	259.25
14	Ascariasis	B77	15 867	178.34
15	Quemaduras	T20-T32	13 950	156.80
16	Otras infecciones intestinales debidas a protozoarios	A07.0, A07.2, A07.9	13 634	153.25
17	Gingivitis y enfermedades periodontales	K05	13 486	151.58
18	Mordeduras por perro	W54	11 460	128.81
19	Escabiosis	B86	9 079	102.05
20	Desnutrición moderada	E44.0	8 800	98.91
	Total 20 principales causas		7 588 331	85 292.56
	Otras causas		51 456	578.36
	<b>TOTAL GLOBAL</b>		<b>7 639 787</b>	<b>85 870.93</b>

FUENTE: SUVE/DGE/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos 2012

\*Por 100 000 habitantes de 1 a 4 años

La ascariasis ocupa el número 14 entre las 20 causas de enfermedad, lo que muestra un avance significativo con respecto a los años anteriores.

Tabla No. 5 Incidencia de casos nuevos de enfermedad por grupo de edad

**Incidencia de casos nuevos de enfermedad por grupos de edad**

**Estados Unidos Mexicanos 2013**

**Población General**

Padecimiento	Código de la lista detallada CIE10a. Revisión	Incidencia <sup>a</sup>	Grupos de edad										
			< 1	1 - 4	5 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 24	25 - 44	45 - 49	50 - 59	60 - 64	65 y +
Accidentes de transporte en vehículos con motor	V20-V29, V40-V79	85.54	19.39	28.39	31.13	43.79	107.61	149.43	116.10	112.43	78.48	78.08	41.23
Arnebiasis intestinal	A06.0-A06.3, A06.9	284.65	646.97	718.94	444.63	313.46	205.73	204.05	173.16	230.55	232.07	282.87	248.17
Anencefalia**	Q00	0.09	0.09	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
Ascariasis	B77	52.70	39.33	168.06	135.27	84.91	41.30	25.50	21.04	29.97	23.75	25.58	23.66
Asma y estado asmático	J45, J46	254.04	429.45	683.68	507.29	294.06	141.48	137.54	136.86	216.70	217.85	254.70	204.82
Bocio endémico	E01	0.42	0.32	0.11	0.14	0.23	0.17	0.24	0.44	0.91	0.88	1.05	0.68
Brucelosis	A23	2.26	0.05	0.68	1.19	1.76	2.03	2.17	2.92	2.88	3.17	2.78	2.43
Candidiasis urogenital <sup>d</sup>	B37.3-B37.4	295.15	N.A	N.A	N.A	32.11	248.00	518.28	406.63	386.89	180.63	149.17	63.19
Cisticercosis	B69	0.22	0.05	0.00	0.03	0.03	0.09	0.19	0.21	0.36	0.52	0.62	0.62
Cólera	A00	0.16	0.09	0.26	0.17	0.18	0.11	0.06	0.10	0.21	0.27	0.25	0.26
Conjuntivitis	B30, H10.0	363.60	1521.57	701.80	434.00	304.37	260.45	274.95	238.48	402.94	350.77	466.35	392.79
Chancro blando <sup>d</sup>	A57	0.58	N.A	N.A	N.A	0.17	0.44	0.87	0.64	0.45	0.69	0.59	0.65
Desnutrición leve	E44.1	96.46	947.16	597.79	148.25	85.37	37.89	18.27	7.52	8.15	9.41	19.07	35.67
Desnutrición moderada	E44.0	13.70	169.85	88.40	14.63	8.56	4.03	1.59	1.08	1.80	1.75	3.51	7.36
Desnutrición severa	E40-E43	4.39	67.79	18.49	3.83	2.36	1.48	1.26	0.85	1.69	1.53	1.87	5.50
Diabetes mellitus insulino dependiente (Tipo I)-	E10	16.28	8.12	1.12	2.62	8.20	8.11	4.55	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
Diabetes mellitus no insulino dependiente (Tipo II) <sup>d</sup>	E11-E14	413.45	N.A	N.A	N.A	1.99	5.58	34.40	245.48	814.08	1157.70	1482.76	1051.33
Diabetes mellitus que se origina con el embarazo=	O24.4	17.55	N.A	N.A	N.A	0.13	6.69	24.15	31.64	3.00	1.10	N.A	N.A
Difteria	A36	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Displasia cervical leve y moderada <sup>d</sup>	N87.0-N87.1	100.06	N.A	N.A	N.A	0.09	37.87	112.74	152.56	147.01	106.22	78.92	30.27
Displasia cervical severa y CaCu <i>in situ</i> <sup>d</sup>	D06, N87.2	11.31	N.A	N.A	N.A	0.00	1.42	4.99	15.21	17.75	19.18	19.92	10.86
Efectos indeseables por vacuna y sustancias biológicas	Y58, Y59	0.86	11.41	4.63	0.46	0.50	0.20	0.19	0.28	0.30	0.18	0.68	0.48
Encefalitis equina venezolana	A92.2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Encefalocele	Q01	0.04	1.85	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

FUENTE: SUIVE/DGE/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos 2013

<sup>a</sup> Incidencia por 100 000 habitantes

\*\* Incidencia por 1 000 habitantes menores de un año

N.A. = No aplica para este grupo de edad

<sup>d</sup> Incidencia por 100 000 habitantes mayores de 9 años

<sup>e</sup> Se refiere a casos estimados, los cuales se obtienen a partir de la aplicación de la fórmula "casos posibles+casos confirmados por laboratorio", en donde los casos posibles se obtienen mediante la multiplicación del porcentaje de positividad por el total de casos sin muestra.

<sup>1</sup> Incidencia por 100 000 habitantes menores de 25 años

<sup>2</sup> Incidencia por 100 000 habitantes femeninas de 10 a 59 años

<sup>3</sup> Incidencia por 100 000 habitantes femeninas mayores de 9 años

<sup>4</sup> Incidencia por 100 000 habitantes mayores de 14 años

NOTA: Las tasas se calculan con Proyecciones de la Población de México 1990-2030. Censo 2010. CONAPO

En la tabla número 6, se muestra la incidencia de nuevos casos por grupos de edad durante el año 2013, claramente se ve recurrencia en el alza de nuevos casos de ascariasis lo cual contrasta con la tabla número 3

**Tabla No. 6 Incidencia de ascariosis por grupos de edad.**

**Incidencia de Ascariasis (B77) por grupos de edad  
Estados Unidos Mexicanos 2013  
Población General**

Estado	Grupos de edad											Incidencia*
	< 1	1 - 4	5 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 24	25 - 44	45 - 49	50 - 59	60 - 64	65 y +	
Aguascalientes	3.88	18.78	9.43	4.70	7.26	2.63	2.20	2.93	4.02	0.00	4.42	5.35
Baja California	0.00	5.83	3.83	1.91	1.25	0.00	0.46	0.96	1.76	3.38	1.20	1.57
Baja California Sur	0.00	40.58	17.32	16.59	7.78	0.00	2.97	4.85	0.00	0.00	6.03	8.49
Campeche	6.06	85.68	82.71	61.76	20.45	4.89	5.52	8.23	19.27	28.34	21.30	28.17
Coahuila	5.60	27.02	17.98	5.82	2.97	2.01	1.27	1.18	1.19	1.15	1.11	5.47
Colima	0.00	152.38	77.25	38.47	15.86	30.15	13.51	34.50	8.05	4.71	13.28	33.37
Chiapas	41.17	274.52	223.30	113.52	50.63	35.78	31.26	50.58	39.96	34.40	22.10	86.73
Chihuahua	5.88	18.91	10.98	7.53	3.31	2.60	2.86	1.35	2.84	1.92	1.33	5.17
Distrito Federal	9.29	34.53	37.02	23.45	5.14	2.60	3.49	4.68	4.01	3.98	4.20	9.61
Durango	0.00	35.38	34.63	16.62	5.26	3.23	3.05	0.00	3.55	2.02	1.71	9.95
Guanajuato	1.77	16.16	13.29	8.73	3.98	2.88	2.20	2.64	2.01	3.21	2.50	5.37
Guerrero	294.87	1283.66	981.80	552.95	288.42	218.71	204.30	280.10	214.07	184.83	236.88	433.13
Hidalgo	27.60	295.79	221.98	125.04	61.84	38.73	34.33	47.11	41.84	54.15	49.92	87.41
Jalisco	5.42	33.07	23.94	12.15	4.98	4.88	5.83	4.95	4.50	3.01	3.51	9.66
México	6.89	27.91	21.95	14.24	6.77	3.61	2.73	3.24	2.08	1.91	1.91	7.94
Michoacán	13.52	39.73	28.09	14.18	9.22	6.29	5.83	6.38	6.77	6.69	5.64	12.10
Morelos	2.92	34.40	46.85	27.53	9.22	4.79	5.34	8.28	11.65	13.17	10.19	14.89
Nayarit	81.24	141.69	97.12	81.18	66.41	63.98	31.95	74.35	57.92	41.54	34.22	63.31
Nuevo León	1.17	11.19	6.75	3.64	1.63	2.17	1.61	0.65	0.89	2.00	0.32	2.77
Oaxaca	39.84	272.14	207.81	114.67	56.36	43.21	32.48	91.35	44.56	45.91	22.19	85.10
Puebla	47.12	167.62	127.97	71.51	26.75	22.27	19.62	27.52	19.88	23.68	18.76	49.99
Querétaro	2.69	35.61	31.77	5.28	3.19	1.67	1.68	7.41	5.83	1.99	7.67	8.69
Quintana Roo	79.65	528.68	452.31	269.67	126.62	97.37	70.44	94.85	94.91	92.62	109.19	175.36
San Luis Potosí	26.47	177.12	96.40	58.30	29.89	16.61	13.31	19.98	20.61	27.69	17.11	42.71
Sinaloa	24.27	95.05	49.57	18.06	7.62	4.72	6.96	6.53	4.22	4.27	7.85	18.21
Sonora	5.72	14.54	50.66	53.85	17.70	2.03	1.41	2.98	2.73	3.44	0.56	13.85
Tabasco	151.29	542.24	445.68	262.14	117.22	65.36	73.64	118.76	79.71	96.14	94.55	173.74
Tamaulipas	25.97	129.12	95.50	69.32	38.07	26.57	17.15	28.49	22.16	33.92	13.78	41.46
Tlaxcala	0.00	26.09	16.77	14.46	9.92	3.56	2.75	7.51	1.03	0.00	0.00	7.81
Veracruz	59.27	403.53	363.37	270.43	127.31	66.45	55.46	66.56	58.98	61.91	49.41	136.67
Yucatán	504.00	786.51	735.01	587.30	320.80	139.86	132.81	198.77	150.67	202.44	138.32	307.97
Zacatecas	9.81	37.82	12.99	2.60	1.99	1.45	2.11	1.23	1.21	0.00	4.26	1.10
<b>TOTAL GLOBAL</b>	<b>39.33</b>	<b>168.06</b>	<b>135.27</b>	<b>84.91</b>	<b>41.30</b>	<b>25.50</b>	<b>21.04</b>	<b>29.97</b>	<b>23.75</b>	<b>25.58</b>	<b>23.66</b>	<b>52.70</b>

FUENTE : SUIVE/DGE/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos 2013

\* Incidencia por 100 000 habitantes calculada con Proyecciones de la Población de México 1990-2030, Censo 2010. CONAPO

En la tabla número 5, se muestra la Incidencia por Estado en toda la República Mexicana por grupos de edad, durante el año 2013.

Tabla No. 7 Veinte principales causas de enfermedad en el D.F. por grupos de edad.

Veinte principales causas de enfermedad en el Distrito Federal, por grupos de edad  
Estados Unidos Mexicanos 2013  
Poblacion General

Número	Padecimiento	Código de la lista detallada CIE10a. Revisión	Grupos de edad											Ign.	Total
			< 1	1 - 4	5 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 24	25 - 44	45 - 49	50 - 59	60 - 64	65 y +		
1	Infecciones respiratorias agudas	J00-J06, J20, J21 excepto J02.0 y J03.0	138 121	330 659	220 207	138 314	89 826	109 159	376 553	108 702	200 655	92 224	165 255	353	1 970 028
2	Infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas	A04, A08-A09 excepto A08.0	17 552	48 744	31 512	23 249	17 615	28 782	100 621	23 430	41 566	17 955	37 850	81	388 957
3	Infección de vías urinarias	N30, N34, N39.0	2 343	12 870	17 175	13 072	19 568	29 402	102 038	28 329	56 408	25 177	62 128	282	368 792
4	Úlceras, gastritis y duodenitis	K25-K29	2	4	9	4 171	6 390	10 707	37 708	12 935	19 798	9 879	15 412	175	117 190
5	Gingivitis y enfermedades periodontales	K05	59	986	3 132	4 631	6 732	8 367	20 773	8 357	10 719	6 045	7 644	72	77 517
6	Conjuntivitis	B30, H10.0	2 477	4 270	3 390	2 518	2 287	2 492	7 710	3 366	4 770	2 600	3 864	23	39 767
7	Otitis media aguda	H65.0-H65.1	770	5 244	4 661	2 959	1 946	2 168	6 861	2 567	3 558	1 918	2 253	9	34 914
8	Hipertension arterial	I10-I15	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	92	313	5 813	4 014	7 700	4 183	6 615	38	28 768
9	Diabetes <i>melitus</i> no insulino dependiente (Tipo II)	E11-E14	N.A.	N.A.	N.A.	3	42	214	5 513	3 878	7 922	3 813	5 293	41	26 719
10	Asma y estado asmático	J45, J46	517	4 442	5 209	3 051	990	520	1 277	533	638	344	310	130	17 961
11	Otras helmintiasis	B65-B67, B70-B76, B78, B79, B81-B83	140	2 346	2 869	1 899	848	913	3 148	584	1 490	584	1 337	0	16 158
12	Varicela	B01	662	4 821	4 816	1 904	815	701	1 325	57	51	9	37	0	15 198
Total 20 principales causas			166 199	423 837	299 713	201 173	151 908	200 299	690 794	202 185	364 005	169 049	318 793	1 420	3 189 375
Otras causas			1 267	3 085	2 937	2 490	3 611	5 377	18 641	4 628	6 670	2 803	5 621	376	57 506
<b>TOTAL GLOBAL</b>			<b>167 466</b>	<b>426 922</b>	<b>302 650</b>	<b>203 663</b>	<b>155 519</b>	<b>205 676</b>	<b>709 435</b>	<b>206 813</b>	<b>370 675</b>	<b>171 852</b>	<b>324 414</b>	<b>1 796</b>	<b>3 246 881</b>

FUENTE: SIJIVE/DGE/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos 2013.

N.A.- No aplica para este grupo de edad

En la tabla número 7, se muestran las 20 principales causas de enfermedad durante el año 2013 por poblaciones de edad, destacando dos cosas; la primera que no se encuentra declarada la ascariasis dentro de los 20 lugares de esta lista y la segunda que la causas número uno son las infecciones respiratorias, pero que bien podrían ser casos asociados a las fases migratorias (L4 y L5) de *A. lumbricoides* subdiagnosticados.

Cabe mencionar que las posiciones 2,10 y 11 (Infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas, Ásma y estado asmático y Otras helmintiasis respectivamente) pueden llegar a ser relacionadas directamente con *A. lumbricoides*.

### **1.11 Prevención y control**

La reciente estrategia de los programas de control de helmintos ha sido enfocada a prevenir la enfermedad en lugar de la infección, con el objetivo de reducir las cargas del gusano debajo de un nivel asociado con morbilidad, y luego mantener ese nivel bajo (Scott M, 2008).

El desarrollo de antihelmínticos seguros, eficaces y de bajo costo, tales como el albendazol y mebendazol, ha propiciado las recomendaciones para el tratamiento masivo y periódico en población abierta cuando la prevalencia de nematodos intestinales en escolares se estime por arriba del 50%. Sin embargo, la prevalencia puede regresar en un periodo aproximado de seis meses posteriores a la intervención e incluso a los niveles pretratamiento (Olsen A., 2007).

Con base en lo anterior, la OMS recomendó que el tratamiento masivo se administre dos o tres veces al año, cuando la población de escolares muestre infecciones de alta intensidad. Desde que este umbral fue publicado en 1987, se han realizado varias investigaciones que han medido la carga de gusanos de *A. lumbricoides* después del tratamiento antihelmíntico. Estos datos se han usado para examinar la relación entre la carga parasitaria y los recuentos de huevos en materia fecal. Además, se han comparado estos estudios para examinar la relación entre la carga de helmintos y la fecundidad de gusanos hembras. (Hall A. y Holland C, 2000). Sin embargo, está bien demostrado que los tratamientos antiparasitarios masivos disminuyen las poblaciones parasitarias pero los parásitos que logran sobrevivir conservan su fecundidad y con ello la endemidad de dicha parasitosis, por lo que en la actualidad los mecanismos de prevención y control se circunscriben a la



vigilancia epidemiológica y búsqueda intencionada de casos en algunas zonas endémicas (Hong S-T, Chai J-Y, Choi M-H, et al, 2006).

### 1.12 Tratamiento

Existen varios fármacos eficaces contra esta parasitosis, los más adecuados son piperazina, pirantel, mebendazol, albendazol y nitazoxanida.

- **Albendazol:** Inhibe la polimerización de la tubulina, lo que provoca una alteración del metabolismo del parásito y la disminución en la producción de ATP. Esto ocasiona la inmovilización y muerte del parásito, la ruptura de las células y la pérdida de funcionalidad secretora y absorptiva. En consecuencia, disminuye la captación de glucosa y se consumen los depósitos de glucógeno del parásito. Estos cambios generan la acumulación de enzimas proteolíticas que son liberadas intracelularmente, lo cual provoca la lisis de la célula intestinal y la muerte del parásito. (Elba. R. P., 2013) Se administra en dosis de 400 mg/día, única dosis. Si no hay cura se recomienda repetir la dosis a la tercera semana. En embarazadas no es recomendable, aunque hasta ahora no hay literatura que mencione experiencias y efectos indeseables (Becerril MA, 2008).
- **Mebendazol:** Su mecanismo de acción implica el daño de forma selectiva de los microtubulos citoplasmáticos en las células intestinales de los parásitos, lo cual causa alteraciones en las funciones de absorción y secreción en las células del parásito. La rotura de los microtubulos causa acumulación de sustancias secretadas en el aparato de Golgi, al igual que su similar Albendazol (Elba. R. P., 2013). Puede emplearse en dosis de 100 mg/día por tres días consecutivos. Si no hay cura se puede volver a administrar en 3 a 4 semanas; tampoco se recomienda en mujeres embarazadas (Becerril MA, 2008).

- Piperazina es otro antiparasitario que puede emplearse, el principal efecto de la piperazina sobre los nematodos es una parálisis flácida resultante de la hiperpolarización de las membranas de los parásitos. Estos no son destruidos por el fármaco, sino que son eliminados del hospedero con la motilidad intestinal normal. Es significativo que los parásitos eliminados todavía estén vivos y puedan recuperarse si se incuban en un medio de cultivo (Mercedes B. G., 1996). Se recomienda en casos de obstrucción biliar o gastrointestinal, pues ocasiona parálisis flácida del gusano.
- Pamoato de pirantel: Actúa como un agente bloqueante neuromuscular despolarizante y causa una activación nicotínica persistente, la cual da como resultado la parálisis espástica de los nematodos susceptibles (Mercedes B. G., 1996) No es recomendable en casos de ascariosis masivas, ya que puede ocasionar asfixia (Becerril MA, 2008).

Piperazina y Pirantel son antagonistas, por lo que no deben usarse juntos.

- Ivermectina: Provoca un incremento de la entrada de iones cargados negativamente, sobre todo  $\text{Cl}^-$ , que producen hiperpolarización y parálisis muscular. Contra lo que se pensaba, la facilitación de la entrada de  $\text{Cl}^-$  es a través de canales independientes del receptor GABA. Es eficaz frente a la larva migratoria cutánea, en *A. lumbricoides* y, en menor grado, en *T. trichiura* y *E. vermicularis*. (Flórez J, 1997) además de dañar las células musculares y nerviosas del parásito (Becerril M.A., 2008).
- Levamisol inhibe la cópula entre machos y hembras (Becerril MA, 2008). El levamisol causa la parálisis del parásito por contracción muscular permanente y su eliminación pasiva. Estimula la estructura ganglionar nerviosa, provocando así inhibición por despolarización. A dosis elevadas inhibe la enzima fumarato reductasa al unirse a sus grupos sulfhidrilos y formar puentes disulfuro. Esta enzima forma parte del ciclo de Krebs y es de

vital importancia en la transferencia de los equivalentes de reducción provenientes del FADH<sub>2</sub>, por lo cual su inhibición afecta la síntesis de ATP en el parásito (Elba. R. P., 2013).

La oclusión y perforación intestinales, así como la penetración al apéndice y obstrucción de conductos biliares, se tratan quirúrgicamente.

**Tabla No. 8 Fármacos para el tratamiento de ascariosis.**

Antiparasitario	Dosis Pediátrica	Dosis en Adulto
Albendazol (1a. elección)	400mg/día, única dosis y 200 mg/ día en menores de 2 años	400mg/día, única dosis
Mebendazol (2a. elección)	100 mg/día, 3 días o 500 mg/día un solo día	100mg/día, 3 días o 500 mg/día un solo día
Piperazina	3.5g/día, 2 días	3.5 g/día, 2 días
Pamoato de pirantel	11 mg /Kg en una simple dosis	11mg/Kg en una simple dosis
Ivermectina (3a. elección)	150-200 mg/Kg una dosis	150-200mg/Kg, una dosis
Levamisol	2.5 mg/Kg una dosis	2.5 mg/Kg una dosis

Flórez, J., 1997.

## 2. Objetivos y Justificación

### 2.1 Objetivo General

- ✚ Estandarizar un ensayo inmunoenzimático (ELISA) para determinación de anticuerpos séricos en contra del nemátodo *Ascaris lumbricoides*.

### 2.2 Objetivos Particulares

- ✚ Obtener el antígeno somático a partir de gusanos adultos de *A. lumbricoides* y purificarlo con la finalidad de utilizarlo para la posterior sensibilización de placas de ELISA.
- ✚ Cuantificar la concentración proteica del antígeno y establecer la concentración para la sensibilización de la placa.
- ✚ Establecer las condiciones para el ensayo ELISA en sueros de población pediátrica.
- ✚ Establecer el punto de corte para el ELISA de captura de anticuerpos con sueros procedentes de individuos en edad pediátrica aparentemente sanos.
- ✚ Probar el sistema de ELISA frente a anticuerpos de otros patógenos intestinales para conocer la posible presencia de reacciones inespecíficas.

### 2.3 Justificación

En México la desparasitación masiva ha reducido la incidencia de ascariosis en poblaciones urbanas, no así en las comunidades rurales donde permanece según estudios epidemiológicos recientes, lo cual garantiza el abasto suficiente de las formas de transmisión (huevos larvados L2) para que esta parasitosis permanezca endémica.

Al laboratorio clínico del Hospital Infantil de México Federico Gómez, llegan pacientes provenientes de todo el territorio nacional con etiologías cada vez más

frecuentemente de origen oncológico, hematológico, inmunodeficiente o genético y a pesar de ello, se ven acompañadas por parasitosis intestinales como la ascariosis.

El objetivo del presente trabajo fue implementar un diagnóstico serológico para la detección de anticuerpos específicos contra el nematodo *Ascaris lumbricoides*; con énfasis en las fases extraintestinales pues como es bien conocido, para las fases intestinales el diagnóstico está bien resuelto mediante técnicas coproparasitológicas; sin embargo existen estadios larvarios durante el ciclo biológico que pueden provocar manifestaciones respiratorias inespecíficas y de carácter eosinofílico que en la práctica médica pueden ser confundidas con bronquitis, manifestaciones alérgicas, asmáticas ó pneumonias entre otras, con el riesgo para el paciente de no ser tratado adecuadamente; los reportes sobre morbilidad por complicaciones respiratorias y pulmonares en los últimos años, ponen en evidencia la necesidad de detección de las fases migratorias del parásito ya sea como diagnóstico definitivo ó diferencial.

### **3. Materiales y Métodos**

**3.1. Parásitos:** Gusanos adultos de *A. lumbricoides* obtenidos de seres humanos naturalmente infectados, expulsados espontáneamente vía fecal u oral en episodios de vómito.

**3.2 Preparación del Antígeno:** Los gusanos adultos se homogeneizaron utilizando desoxicolato de sodio. Se colocaron 50 mL de PBS pH 7,2 para ser homogenizados en un potter de vidrio y posteriormente sonicados a 60 Hertz con por 2 minutos y reposando 5 minutos, entre ciclo y ciclo hasta completar tres, el procedimiento fue realizado en baño de hielo; luego, el material sonificado que constituye los antígenos somáticos fue centrifugado a 15,000 rpm durante 1 hora y conservado a -20° C hasta el momento de su uso. La concentración de proteínas se determinó por el método colorimétrico de Bradford.

Una vez establecida la concentración, el antígeno se sometió a electroforesis en geles de poliacrilamida para verificar su integridad y se tiñó con azul de Coomassie para evidenciar los péptidos, la imagen se muestra en la figura 5.

**3.3 Conjugado enzimático:** Se usó el conjugado anti Ig-G humano marcado con peroxidasa marca SIGMA, lote 033K4824.

**3.4 Lectura de Placas:** Las placas se leyeron en un lector para placas de ELISA BioTek modelo: ELX800 con longitud de onda dual de 450 nm y referencia de 620 nm.

**3.5 Muestras:** 40 muestras de suero de población infantil aparentemente sana y libre de infecciones parasitarias recolectados y donados por el centro de salud de la delegación Tlalpan en México DF, zona urbanizada, de estrato socioeconómico medio-alto y aparentemente libre de infecciones por geohelminchos, fueron probados para determinar el punto de corte del ensayo.

5 sueros hiperinmunes de conejo obtenidos mediante protocolos convencionales de inmunización se probaron para asegurar la captura de anticuerpos en un sistema homólogo al antígeno de interés.

5 sueros de pacientes con ascariosis diagnosticada por expulsión espontánea y coproparasitoscópicos positivos a huevos del parásito.

### 3.6 Ensayo inmunoenzimático (ELISA):

Se estandarizó utilizando como fase sólida microplacas de poliestireno de alta afinidad de unión (Maxisorp, NUNC 80040LE).

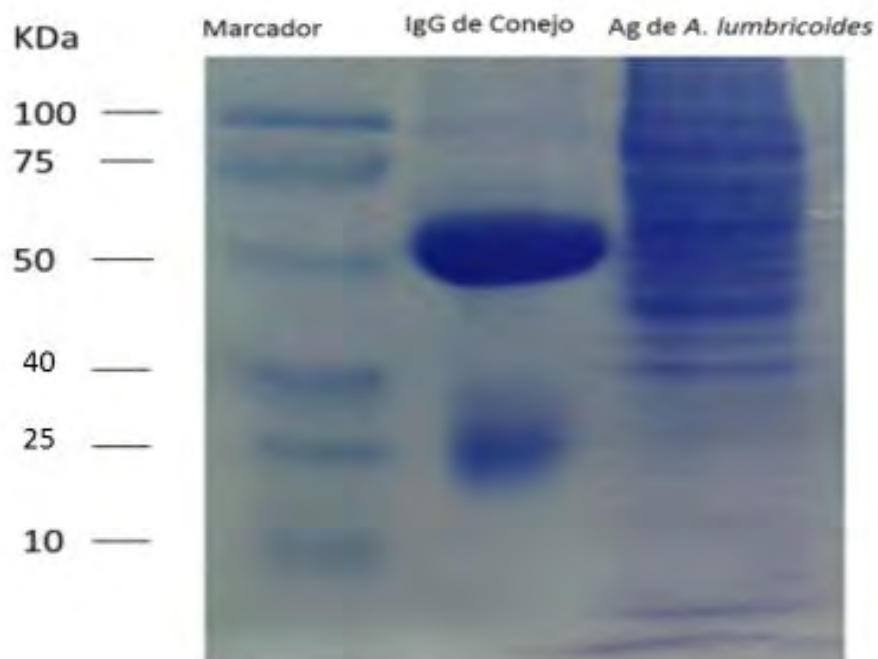
La concentración óptima de antígeno para sensibilizar el ensayo se determinó probando concentraciones en un rango desde los 3.75 µg/ml, hasta 50 µg/ml. El antígeno se colocó en una solución amortiguadora de carbonato-bicarbonato de sodio 0,1M, pH=9,6. Se incubó 24 horas a 4°C o bien 2 horas a 37°C agregando 100µL por pozo. Después de lavar tres veces con solución de fosfatos (PBS) pH 7,4 con Tween 20 al 0.5%, se agregó solución de bloqueo PBS 1X con leche descremada al 1 %, 200µL por pozo y se incubó durante 30 minutos a 37°C.

Posterior a eso se realizaron nuevamente 3 lavados como antes se indicó y se agregaron 100µL del suero a probar y se incubó una hora a 37°C. Pasada esta incubación se lavaron 3 veces más con PBS tween al 0.5% y se agregaron 100µL de conjugado anti-humano peroxidasa en cabra marca Sigma lote no. HW07, el cual se había titulado previamente para establecer la dilución óptima, que se estableció en 1:8,000.

Éste se incubó 1 hora a 37°C. Se repitió el proceso de lavado como se describió anteriormente y luego se agregaron 50 µL por pozo de TMB durante 15 minutos, posteriormente se agregaron 50 µL/pozo de ácido fórmico(0.2 mol/l) para detener la reacción enzimática y se leyó a 450/620 nm.

#### 4. Resultados.

##### 4.1 Electroforesis en gel de poliacrilamida 12%

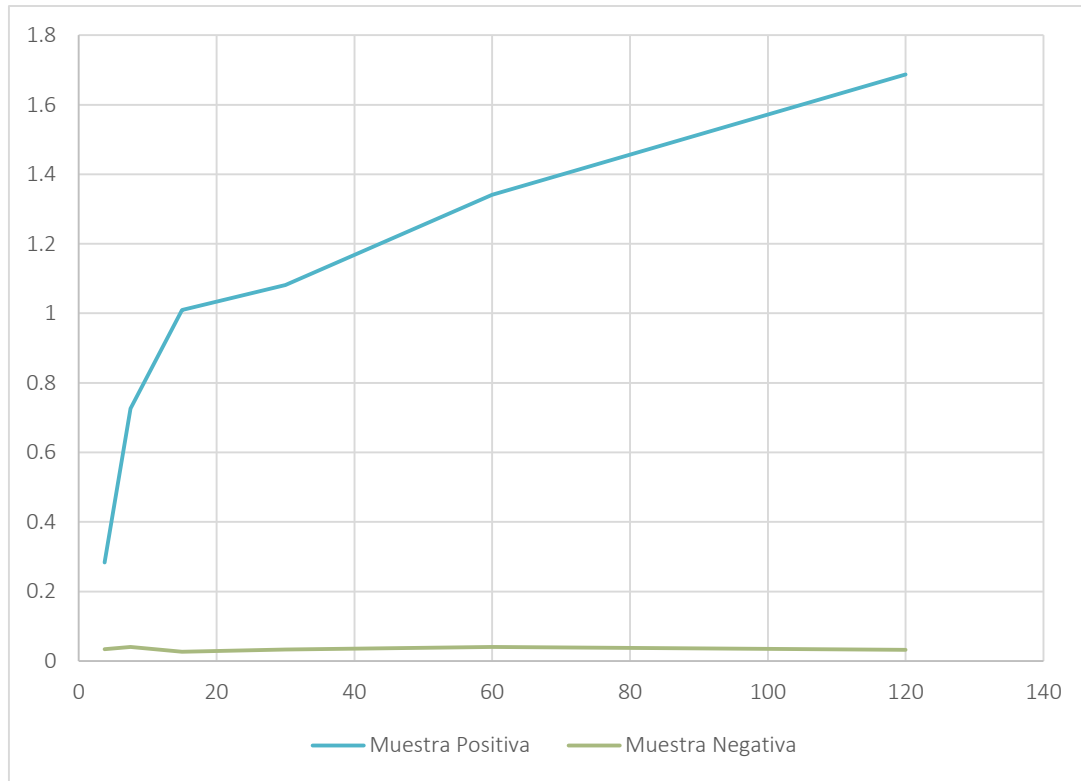


**Figura 5. Corrimiento electroforético de las inmunoglobulinas purificadas mediante cromatografía de afinidad anti-*Ascaris lumbricoides* y del antígeno de *A. lumbricoides***

En el primer carril se puede observar el marcador de peso molecular que va de 10-100 KDa, en el segundo carril IgG de conejo en condiciones reductoras ( $\beta$ -mercapto-etanol) que permite apreciar las cadenas pesadas (50KDa) y las cadenas ligeras (25KDa) y en el tercer carril se observan las bandas correspondientes al Ag somático de *A. lumbricoides*.



## 4.2 Titulación del Antígeno de *Áscaris lumbricoides*



**Figura 6. Concentración óptima del antígeno de *Áscaris lumbricoides*.**

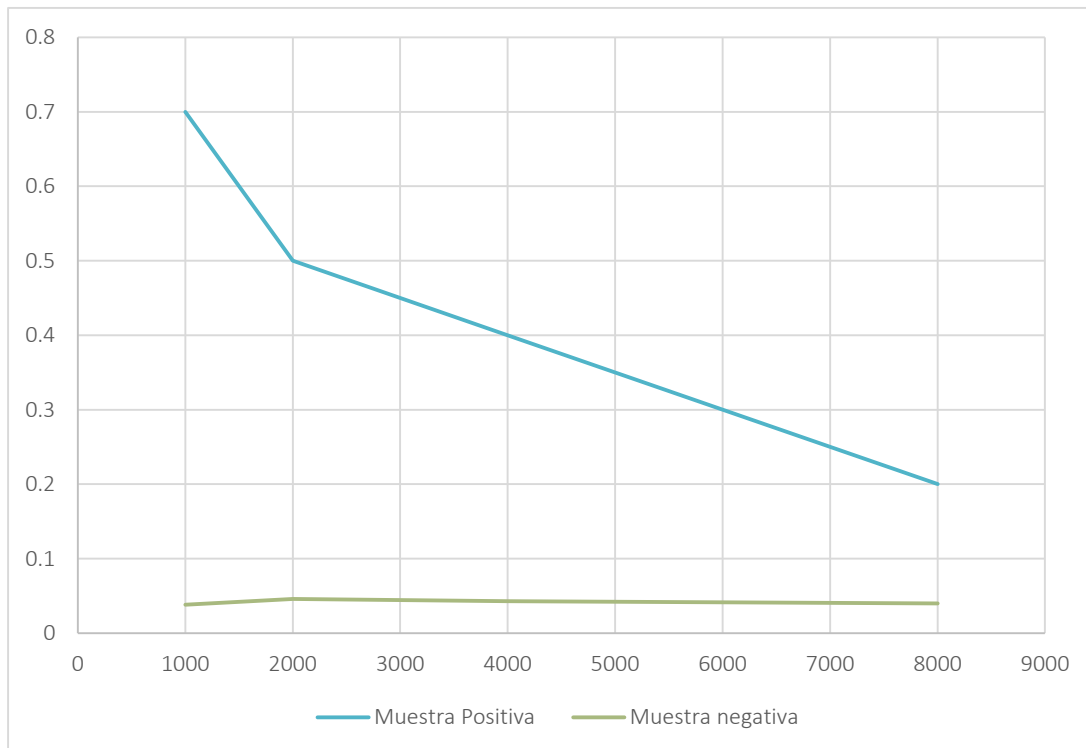
**Eje X: concentración de Antígeno µg/mL**

**Eje Y: Unidades de Densidad Óptica (U.D.O)**

La concentración de proteínas del antígeno se determinó por el método colorimétrico de Bradford (92.8mg/mL), posteriormente se tituló para determinar el límite de detección para el reconocimiento antígeno-anticuerpo a diferentes concentraciones: 120, 60, 30, 15, 7,5 y 3,75 µg/mL. Resultando la concentración óptima para la sensibilización del ensayo en 7,5 µg/mL. El ensayo fue un ELISA indirecto utilizando el antígeno somático de *A. lumbricoides* y IgG anti-*Áscaris* marcada con peroxidasa a una dilución de 1:1000.

### 4.3 Titulación del Suero Hiperinmune de conejo (SHC).

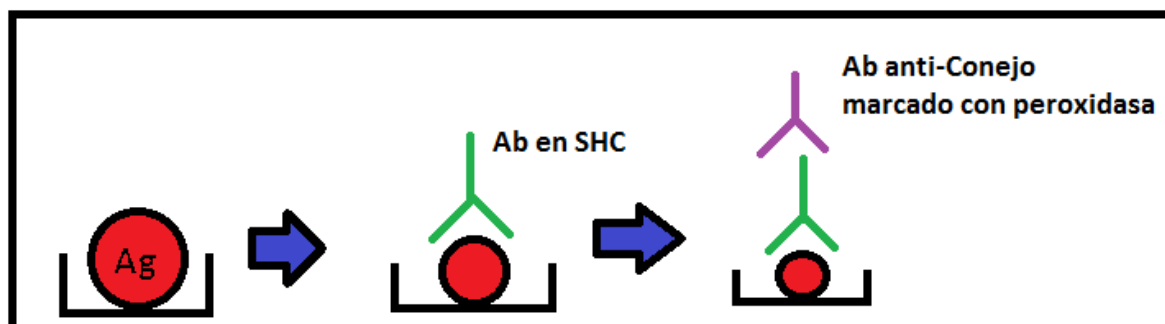
Se realizó una titulación del SHC utilizando diluciones seriadas: 1:1000, 1:2000, 1:4000 y 1:8000, así como un control negativo (suero de conejos no inmunizados). Resultando ser la dilución 1:8000 la elegida para trabajar; el ensayo fue un ELISA indirecto y se utilizó como sustrato IgG anti-conejo marcada con peroxidasa (previamente titulada) a una dilución 1:2000.



**Figura 7. Dilución Óptima de Suero Hiperinmune de Conejo**

**Eje X: Diluciones de suero**

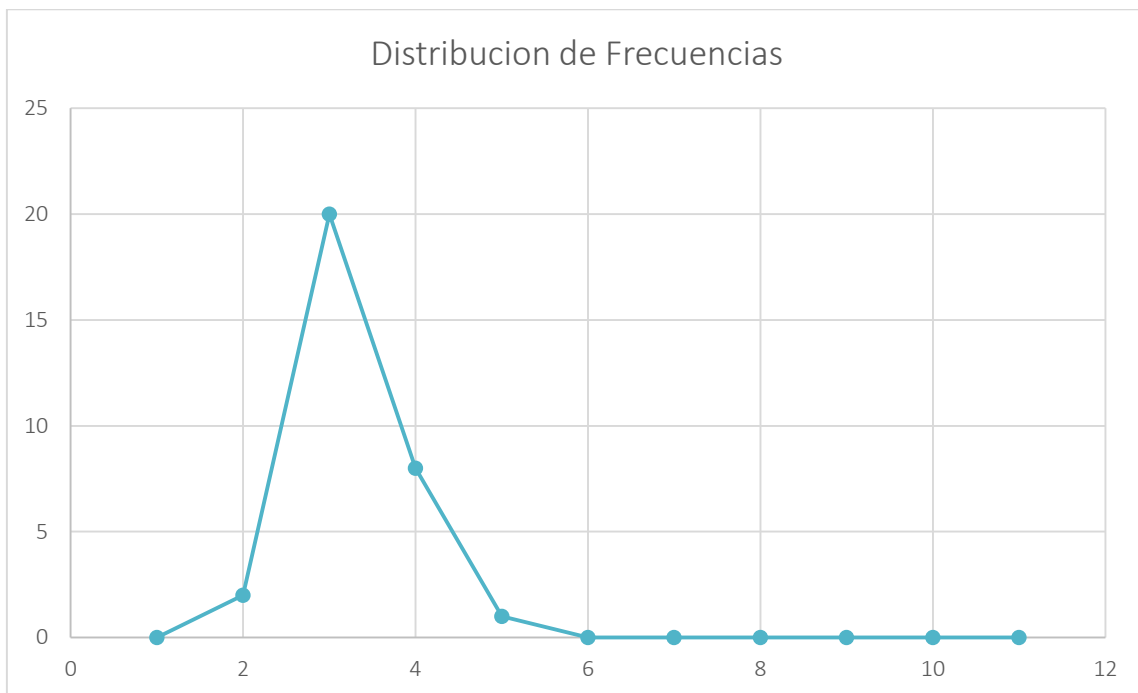
**Eje Y: Unidades de Densidad Óptica (U.D.O)**



#### 4.4 Punto de corte (PC).

El punto de corte para el ELISA del estudio se calculó probando en el ELISA los sueros de 24 niñas y 16 niños (n=40) aparentemente sanos referidos por el centro de salud de la delegación Tlalpan Ciudad de México; con las absorbancias de los mismos, se calculó la media a la que se sumaron 3 desviaciones estándar, dado que mostraron una distribución normal, éste valor (0.3 unidades de absorbancia) se considero como el punto de corte, por lo tanto todos los valores por encima del mismo se consideraran positivos, y por debajo negativos.

En la figura No. 8 se muestra la curva de absorbancias para las muestras de los sueros aparentemente sanos con simetría positiva y leptocúrtica.



**Figura 8. Distribución de Frecuencias.**

**Eje X: Ancho de clase**

**Eje Y: Número de niños del centro de salud**

**Tabla No. 9 Medidas de tendencia central y sus valores para las muestras séricas del centro de salud.**

Medidas de Tendencia Central	Valores
<b>Media</b>	0.17
<b>Mediana</b>	0.16
<b>Moda</b>	0.16
<b>Curtosis</b>	0.73
<b>Coefficiente de Asimetría</b>	0.9968
<b>Coefficiente de Dispersión</b>	0.04021949

#### 4.4.1 Cálculo del Punto de Corte.

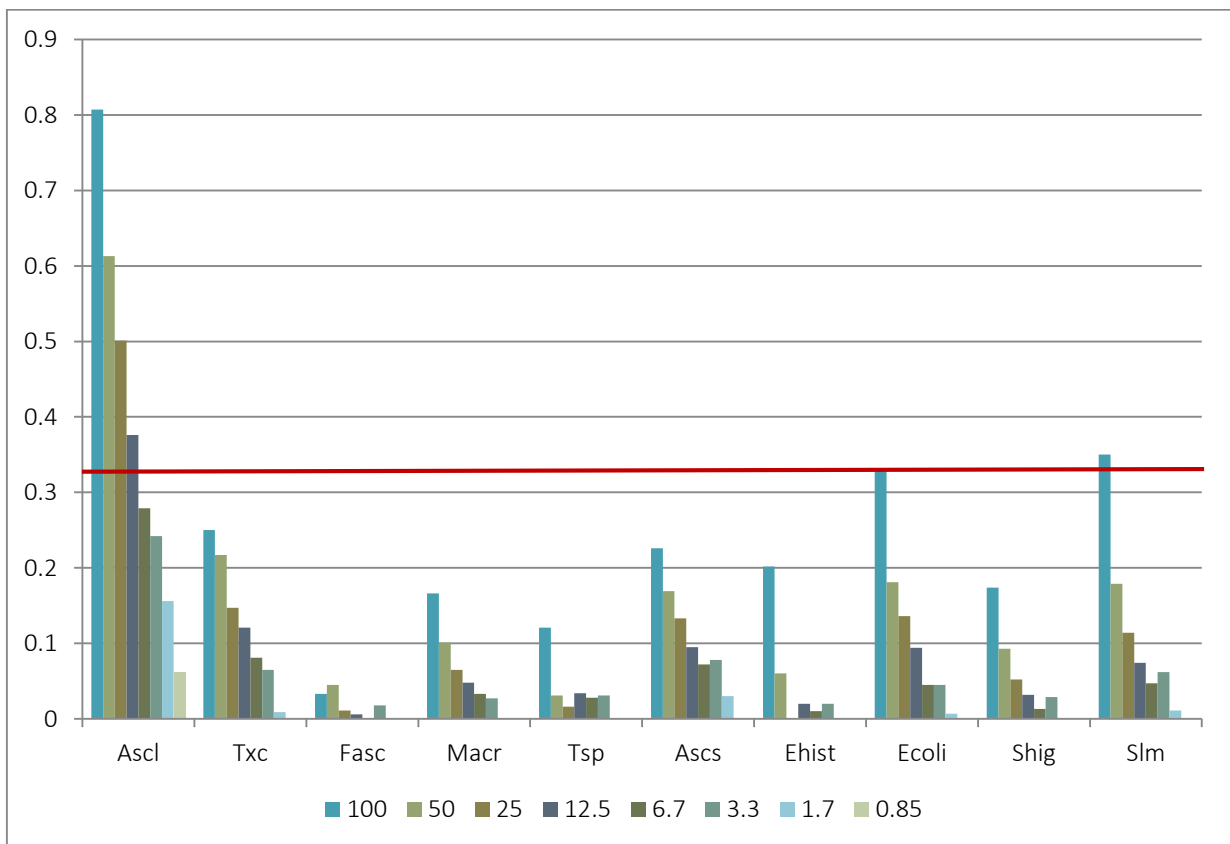
$$PC = Media + 3 \text{ Desviaciones Estandar}$$

$$PC = 0.17 + (3) \cdot 0.04021949$$

$$PC = 0.290658 \approx \mathbf{0.3}$$

#### 4.5 Reacciones cruzadas.

Se sometieron anti-sueros de *A. lumbricoides*, *T. canis*, *Fasciola hepática*, *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, *Taenia sp*, *A. suum*, *Escherichia coli*, *Shigella* y *Salmonella* al sistema de ELISA para *A. lumbricoides* a distintas concentraciones descendentes de 100-0.85mg/ $\mu$ L.



**Figura 11. Reacciones Cruzadas para *Áscaris lumbricoides*.**

**Eje X: organismos analizados (enterobacterias y enteroparásitos)**

**Eje Y: densidad óptica (450nm)**

## 5. Discusión.

La electroforesis es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por tamaños moleculares y carga eléctrica, dependiendo de la técnica que se use. La electroforesis en gel es una técnica muy utilizada con las proteínas y los ácidos nucleicos. Se coloca un gel que contenga una solución amortiguadora adecuada a modo de lámina entre dos placas de cristal. Los materiales más comunes son la poliacrilamida, un polímero entrecruzado soluble en agua, y la agarosa, un polisacárido (Van Holde, M. 2010).

Se corrieron en un gel de poliacrilamida, con el fin de observar la integridad de la IgG anti *Ascaris* producida en conejo y el Antígeno somático de *A. lumbricoides* junto con un marcador de peso molecular (10-100 KDa). En presencia de algunos compuestos químicos, las proteínas pierden su estructura nativa; tales compuestos, llamados agentes desnaturizantes, producen el desplegamiento de la proteína que queda, así, sin la organización tridimensional característica de su funcionalidad biológica (Cultek. 2006).

En el gel se observan dos grandes bandas para las inmunoglobulinas de conejo, esto debido a que la electroforesis se realizó en condiciones desnaturizantes (usando  $\beta$ -mercaptoetanol) por lo que se observan las bandas de 25 y 50 KDa a diferencia del antígeno somático de *A. lumbricoides* que no fue llevada a cabo en condiciones desnaturizantes y que como se observa en la figura 5 se separó en distintas bandas que van desde los 40-100 KDa.

Además de la electroforesis se cuantificó el antígeno utilizando el método de Bradford, éste emplea un colorante hidrofóbico cuyas disoluciones acuosas en presencia de ácido fosfórico tienen un color pardo y que, al encontrarse en el

entorno hidrofóbico del interior de una proteína, origina un color azul intenso que se puede medir fácilmente.

Se utilizó Bradford debido a que a pesar que existen varios métodos para determinar la concentración de proteínas de una muestra, tales como la determinación de la absorbancia a 280 nm, o mediante la formación de derivados coloreados de las proteínas, base de los métodos de BIURET o de LOWRY, éste método depende de la interacción relativamente inespecífica entre un colorante hidrofóbico y las proteínas, el método se basa en la unión específica del colorante Azul de Coomassie brillante G250 a los residuos de Arg, Trp, Tyr, His y Phe de las proteínas. Su principal ventaja es que resulta más rápido y fácil de emplear que otros métodos alternativos, y más sensible que la medida de absorbancia a 280 nm.

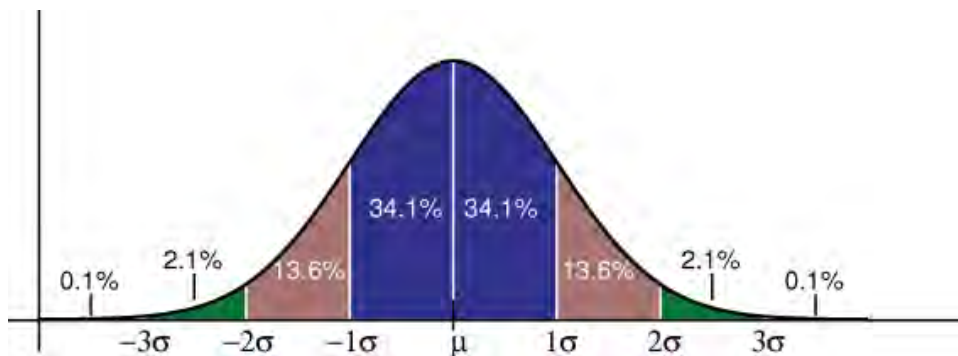
Al sensibilizar la placa (fase solida) con el antígeno somático de *A. lumbricoides* utilizando diluciones seriadas desde 120mg/μL hasta 3.75mg/μL se probó que las diluciones son proporcionales a la concentración de antígeno en el sistema, siendo 3.75mg/μL la concentración mínima que muestra unión antígeno-anticuerpo, se decidió como concentración para el sistema 7.5 mg/μL dado que la reacción es fácilmente observable y se puede optimizar así la cantidad de antígeno somático.

Posteriormente se probaron sueros hiperinmunes de conejo SHC con diluciones seriadas desde 1:1000 hasta 1:8000 y como se observa en la figura 7 aún en la mayor dilución (1:800) es apreciable la reacción; por lo tanto se eligió esa dilución para los ensayos posteriores.

Para el cálculo del punto de corte, se probaron en el sistema ELISA para *A. lumbricoides* 40 muestras de suero de población infantil aparentemente sana en función de que se sabía era un grupo de niños que acudieron al centro de salud por certificados de la misma para practicar deportes y actividades lúdicas, con poca probabilidad de exposición a parásitos dada la ubicación de sus viviendas en una zona urbanizada y de estrato económico medio alto en la Ciudad de México. Como se puede observar en la figura 8 la curva presenta un comportamiento asimétrico positivo (el valor de asimetría es mayor a 0, por lo que los valores se tienden a reunir más en la parte izquierda que en la derecha de la media) y leptocúrtico (la

concentración de los valores tiende a ser mayor que la media). Una manera simple de describir una distribución es en términos de su media y su desviación estándar.

La media  $\mu$  más una desviación  $\sigma$  estándar abarcan el 66% de la distribución. De manera que una desviación estándar más grande sugiere que la distribución es más amplia que aquella con una desviación estándar menor. Además el 95% de toda la distribución se encuentra entre dos desviaciones estándar a partir de la media y el 99% de la distribución se encuentra entre 3 desviaciones estándar, por lo que se decidió considerar como punto de corte a la media más tres desviaciones estándar pues así se incluyó al 99.9% de los sanos.



Una vez comprobada la normalidad se suele estimar como punto de corte el valor de la media más dos desviaciones estándar en una muestra de controles.

Un procedimiento muy empleado para fijar intervalos de referencia de pruebas analíticas, a partir de una muestra representativa de la población, se basa en seleccionar los valores de dos percentiles centrados en torno a la media de la distribución, que definen un intervalo de confianza del 95%, tomando como puntos de corte los valores extremos del intervalo respectivamente (Fuentes Smith, L. 2013). Tomando en cuenta lo anteriormente dicho para el cálculo del punto de corte se decidió tomar tres desviaciones estándar, con el fin de ampliar el intervalo de confianza al 99% y así aumentar la probabilidad de que los valores cayeran dentro



de la media de la curva; de ésta manera, y como se indica en el punto 4.4.1, la media  $\mu$  fue de 0.17 y la desviación estándar  $\sigma$  de 0.04021949 por lo que el cálculo del punto de corte fue 0.3, valor a partil del cual toda muestra que tenga un valor mayor a él se considerara positiva para el sistema ELISA para *A. lumbricoides*, y toda aquella que tenga un valor por debajo, negativa.

El ELISA para conocer las potenciales reacciones cruzadas con anti-sueros de distintos organismos patógenos endémicos del tracto entérico o que por su cuadro clínico produjeran eosinofilia y esto por ende pudiera llevar a dar falsos positivos en el sistema ELISA para *A. lumbricoides*. Los enteropatógenos elegidos fueron: *Toxocara canis*, es un nematodo que se ubica en el intestino delgado de perros, reportándose con mayor frecuencia en zonas urbano-marginales, es el más grande de los ascarideos encontrado en caninos, siendo considerado como el principal agente causal de la toxocarosis humana, cuando el hombre ingiere sus huevos, sus larvas liberadas se localizan en sus tejidos, órganos y vísceras produciéndole un cuadro clínico que en algunas oportunidades puede ser grave y que se denomina síndrome de Larva Migrante Visceral (Castillo, Y. 2001).

*Fasciola hepática*, responsable de la fasciolosis humana, zoonosis que, durante la fase aguda o migratoria, que dura aproximadamente de 8 a 12 semanas, produce sintomatología clínica principalmente fiebre, hepatomegalia e hipereosinofilia. En ocasiones la fasciolosis puede adoptar formas extrahepáticas, aunque esto último no es común (Flores, M. 2002).

*Macracanthorhynchus hirudinaceus*, helminto acantocéfalo, el adulto habita el yeyuno y duodeno de animales, como cerdo, pecarí y jabalí produce desde una reacción inflamatoria hasta una necrosis, excepcionalmente se ha señalado la infección humana pudiendo provocar enteritis simple sin invasión bacteriana, característica de eosinofilia por cúmulos alrededor de la proboscis (Beltran F. 1997).

*Taenia sp*, la teniosis es una infección producida por los helmintos de la familia *Taenidae* en su fase adulta, se ha demostrado que el hospedero desarrolla una respuesta inmune humoral sistémica contra la taenia, y en el intestino, los

anticuerpos de clase IgG aumentan al momento en que la taenia es expulsada (Sarti, E. 1997).

*Ascaris suum*, se encuentra en el intestino delgado de cerdos y ocasionalmente en humanos, al igual que *A. lumbricoides* se le puede asociar a problemas pulmonares y eosinofilia, por la migración larvaria, se ha encontrado homología en cuanto a niveles moleculares e inmunológicos entre la Ag E/S de *A. lumbricoides* y los de *A. suum* (Escalante, H. 2005).

*Entamoeba histolytica*, puede vivir en el intestino grueso o invadir la mucosa intestinal causando lesiones intestinales, produciendo síntomas como: dolor abdominal, fiebre y signos como: diarrea muco-sanguinolenta, además, puede llegar a colonizar otros órganos: hígado, cerebro, piel, y pulmón (Mora, L. 2005).

*Entamoeba coli*, puede vivir en el intestino del ser humano, se presenta mayormente como comensal, pero en pacientes inmunocomprometidos puede llegar a presentar sintomatología diarrea o dolor abdominal (Mora, L. 2005).

*Shigella spp* y *Salmonella spp*, son bacterias entero patógenas de transmisión exclusiva entre seres humanos, que invade la mucosa intestinal, caracterizado por causar disentería, siendo también frecuente la enfermedad diarreica aguda (EDA), principalmente infecciosa, sobre todo en lactantes (Perales, D. 2002).

Todos estos organismos, se probaron en el sistema a diferentes concentraciones, utilizando diluciones seriadas (desde 100mg/μL hasta 0.85mg/μL), los resultados pueden observarse en la figura 11 donde claramente de todos los organismos probados son francamente negativos con excepción de las dos enterobacterias, *Salmonella spp* y *Shiegella spp*, que presentaron lecturas de U.D.O por encima del punto de corte (0.3); sin embargo cabe considerar que éstas solo se presentaron para las mayores concentraciones (100mg/μL), lo que difiere muchísimo de una concentración probable dada en una infección natural en seres humanos, razón por la cual se espera un número bajo de falsos positivos.

## 6. Conclusiones y Perspectivas.

- ✚ Con base en la integridad antigénica comprobada en la electroforesis y la cuantificación proteica, el análisis estadístico para el cálculo del punto de corte en la población control y los resultados obtenidos en los ensayos para reacciones inespecíficas, se puede concluir que la prueba inmunoenzimática para la detección del parásito *Ascaris lumbricoides* se encuentra ya disponible para su realización en el laboratorio de parasitología del laboratorio clínico central del Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- ✚ La prueba puede emplearse tanto en muestras sospechosas para el diagnóstico de ascariosis o como diagnóstico diferencial de otras enfermedades con historial eosinofílico, autoinmune o de complicaciones pulmonares.
- ✚ El contar con esta prueba apoya el diagnóstico futuro de cuadros sospechosos, así como los casos de complicaciones respiratorias por geohelminchos y brinda oportunidad diagnóstica y de tratamiento a los pacientes.

## 7. Referencias.

A. Hall and C. Holland. (2000). Geographical Variation in *Ascaris lumbricoides* Fecundity and its Implications for Helminth Control, Focus. Parasitology Today, Vol. 16; 540-543. Disponible en: [http://www.cell.com/partod/abstract/S0169-4758\(00\)01779-8](http://www.cell.com/partod/abstract/S0169-4758(00)01779-8) , consultada el día 12/11/15.

Acevedo, N. (2011). IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. Parasite Immunology, 33, 309–321. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21388422> , consultada el día 12/11/15.

Adams VJ, Markus MB, Adams JFA, et al. (2005). Paradoxical helminthiasis and giardiasis in Cape Town, South Africa: epidemiology and control. Afr Health Sci ; 5: 276–280. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1831923/> , consultada el día 12/11/15.

Altamirano, A. M. (2000). Principales medidas en epidemiología. salud pública de méxico / vol.42, no.4, julio-agosto. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/spm/v42n4/2882.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Anderson RM, May RM. (1991) Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control. Oxford, Oxford University Press. Disponible en: [http://www.princeton.edu/~aglaser/lecture2007\\_diseases.pdf](http://www.princeton.edu/~aglaser/lecture2007_diseases.pdf) , consultada el día 12/11/15.

Atias, A. (2006). Parasitología Médica. Mediterraneo, 430-432.

Becerril, M. A. (2008). Parasitología Médica. Editorial McGrown Hill. México D. F. pp: 218-220.

Behar Gutierrez, R. (2011). 55 Respuestas a dudas típicas de estadística, segunda edición, Méxoc D.F. pp. 60-65. Disponible en: <https://books.google.com.mx/books?id=Jrz0VN6POXQC&pg=PA29&dq=curtosi>

[s&hl=es-419&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=curtosis&f=false](#) , Consultada el día 25/11/15.

Beltran F. (1997). Presentación del primer caso humano de parasitismo por *Macracanthorhynchus hirudinaceus* en el Perú y breve revisión. Rev. perú. med. exp. salud publica, Lima, v. 14, n. 2, jul. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46341997000200008&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46341997000200008&lng=es&nrm=iso) . Consultada el día 13/03/16.

Botero, J. (2001). Nemátodos intestinales de importancia médica en Colombia: ¿un problema resuelto?. IATREIA/VOL 14/No.1/ MARZO . 47-56. Disponible en: [http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=35256&id\\_seccion=2282&id\\_ejemplar=3641&id\\_revista=138](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=35256&id_seccion=2282&id_ejemplar=3641&id_revista=138) , consultada el día 12/11/15.

Brooker S, Alexander N, Geiger S, et all. (2006): Contrasting patterns in the small scale heterogeneity of human helminth infections in urban and rural environments in Brazil. Int J Parasitol ; 36: 1143–1151. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16814294> , consultada el día 12/11/15.

Brusca, R. C. & Brusca, G. J., 2005. *Invertebrados*, 2ª edición. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid , XXVI+1005 pp.

Caraballo, L. (2012). Consideraciones sobre la evolución de la respuesta inmunitaria Th2 y sus posibles relaciones con parasitosis y alergia. Instituto de Investigaciones Inmunológicas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia Biomédica 2012; 32:145-57. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572012000100017&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572012000100017&script=sci_arttext) , consultada el día 12/11/15.

Carswell F. (1976). Parasites and asthma in Tanzanian children. Lancet; 2:706–707. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/61392> , consultada el día 12/11/15.

Castillo, Y. (2001). Estudio epidemiológico de *Toxocara canis* en parques recreacionales del distrito de San Juan de Lurigancho, Lima- Perú. Parasitología

al día, 25(3-4), 109-114. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071607202001000300007&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071607202001000300007&script=sci_arttext&tlng=pt) , Consultado el día 13/03/16.

Cifuentes E., Blumenthal U., Ruiz G., Bennett S., Peasey A. (1994). *Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: El Valle del Mezquital, México*  
Contrera M. (2006). Eosinofiliyas pulmonares, Neumología y Cirugía de Tórax Vol. 65(S3):S47-S55. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/neumo/nt-2006/nts063f.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Crompton DWT, Nesheim MC. (2002). Nutritional impact of intestinal helminthiasis during the human life cycle. *Annu Rev Nutr* ; 22: 35–59. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/11319119\\_Nutritional\\_impact\\_of\\_intestinal\\_helminthiasis\\_during\\_the\\_human\\_life\\_cycle](https://www.researchgate.net/publication/11319119_Nutritional_impact_of_intestinal_helminthiasis_during_the_human_life_cycle) , consultada el día 12/11/15.

Cruz-Reyes. (2001). *Glosario de Términos en Parasitología y Ciencias Afines*. UNAM. pp. 116,174. Disponible en: [https://books.google.com.mx/books/about/Glosario\\_de\\_t%C3%A9rminos\\_en\\_Parasitolog%C3%ADa.html?id=Hqj4bbEdyUgC](https://books.google.com.mx/books/about/Glosario_de_t%C3%A9rminos_en_Parasitolog%C3%ADa.html?id=Hqj4bbEdyUgC) , consultada el día 12/11/15.

De la Rosa Arana, J. L. (2000). *Zoonosis, Manual de procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica. SSA. 32,117-119 p.

Duron, M. (2004). *Servicio de Anatomía Patológica*. Hospital «San Felipe», Tegucigalpa, D, C, Honduras. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/1966/pdf/Vol34-1-1966-3.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Elba. R. P. (2013). *Parasitología Médica*. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. México D. F. Capítulo 20.

Enrique Cifuentes, et all.(1994). *Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: El Valle del Mezquital, México*, *Salud Pública de México* 36[1]; 3-

9. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/106/10636102.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Escalante, H. (2005). Antígenos de larvas pulmonares de *Ascaris suum* reconocidos por anticuerpos producidos por *Oryctolagus cuniculus*, *Parasitol Latinoam* 60: 132-137. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-77122005000200004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-77122005000200004&script=sci_arttext) , consultada el día 12/11/15.

Fernández Reyes, E. (2005). Métodos para la cuantificación de proteínas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales. Disponible en: <http://documents.mx/documents/27-metodos-para-la-cuantificacion-de-proteinas.html> , consultada el día 12/11/15.

Flores, M. (2002). Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepática*. *Rev Med Hered*, Lima, v. 13, n. 2, abr. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018130X2002000200004&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018130X2002000200004&lng=es&nrm=iso) . Consultada el día 13/03/16.

Flórez, J. (1997). Fármacos antiparasitarios II. Helmintos y artrópodos. *Farmacología humana*, Masson, Editor, 1239-1241. Disponible en: [http://www.academia.edu/16674194/F%C3%A1rmacos\\_antiparasitarios\\_II.\\_Helmintos\\_y\\_artr%C3%B3podos](http://www.academia.edu/16674194/F%C3%A1rmacos_antiparasitarios_II._Helmintos_y_artr%C3%B3podos) , consultada el día 12/11/15.

Fuentes Smith, L. (2013). Metodología para la elección de punto de corte óptimo para dicotomizar covariables continuas. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v7n3/rcgc060313.html> , consultado el día 12/03/16.

Gómez-Dantés, O. (2001). Abastecimiento de medicamentos en unidades de primer nivel de atención de la Secretaría de Salud de México. *Salud Publica Mex* 2001; 43:224-232. Disponible en: <http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=001626> , consultada el día 12/11/15.

Goodman D, Haji HJ, Bickle QD, et al. (2007). A comparison of methods for detecting the eggs of *Ascaris*, *Trichuris*, and hookworm in infant stool, and the epidemiology of infection in Zanzibari infants. *Am J Trop Med Hyg* ; 76: 725–731. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17426179> , consultada el día 12/11/15.

Greenspon, L. W. (1986). Purification of *Ascaris suum* antigen: its allergenic activity in vitro and in vivo, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 77, 443 – 51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2419382> , consultada el día 12/11/15.

Grove, D. I. (1982). What is the relationship between asthma and worms? *Allergy*, 37, 139 – 48. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6753626> , consultada el día 12/11/15.

H.L. Guyatt . (1990). The relationship between the frequency of *Ascaris lumbricoides* and the prevalence and intensity of infection in human communities. *Parasite Epidemiology Research Group, Department of Biology, Imperial College, University of London, Parasitology / Volume 101 / Issue 01 / August*, pp 139-143. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2235069> , consultada el día 12/11/15.

Hong S-T, Chai J-Y, Choi M-H, et al.(2006). A successful experience of soil-transmitted helminth control in the Republic of Korea. *Korean J Parasitol* ; 44: 177–185. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2532657/> , consultada el día 12/11/15.

Hueso Ibáñez, R. (2011). Eosinofilia. *Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria. CAP Arenys de Mar. Barcelona. AMF*;7(5):282-286. Disponible en: [http://amf-semfyc.com/web/article\\_ver.php?id=847](http://amf-semfyc.com/web/article_ver.php?id=847) , consultada el día 12/11/15.

Ibáñez H. N. (2004). Prevalencia del enteroparasitismo en escolares de comunidades nativas del Alto Marañón, Amazonaz, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 21. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/363/36321303.pdf> , consultada el día 12/11/15.



Isabel Hagel. (2005). Factores inmunológicos protectores frente a la infección por *Ascaris lumbricoides* en niños indígenas y criollos de comunidades rurales de Venezuela. Boletín de Malariología y Salud Ambiental Vol. XLV, N° 1, Enero-Julio: 37 – 44. Disponible en: <http://www.iaesp.edu.ve/index.php/centro-de-descargas/finish/130-vol45-no1-ano-2005/1457-articulo-04> , consultada el día 12/11/15.

Isabel Noemi H. (1999). Eosinofilia y parasitosis, Rev. chil. pediatr. v.70 n.5 Santiago set. 40-49. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0370-41061999000500013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0370-41061999000500013&script=sci_arttext) , consultada el día 12/11/15.

Jarrett EE, Kerr JW. (1973). Threadworms and IgE in allergic asthma. Clin Allergy; 3:203–207. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4781380> , consultada el día 12/11/15.

Joubett, J. R. , De Klerk, H. C. & Malan, C. (1979). *Ascaris lumbricoides* and allergic asthma, South Africa Medical Journal, 56, 599 – 602. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/550409> , consultada el día 12/11/15.

Koneman. (2006). Diagnóstico Microbiológico, texto y atlas a color. Médica Panamericana ; 1222-1225.

Lastra, G. (2010). *Ascaris* pulmonar en paciente politraumatizado Pulmonary ascariasis in a polytraumatized patient. Rev Colomb Neumol ; 22(1): 22-25. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4163807/> , consultada el día 12/11/15.

Lejarza, J. & Lejarza, I. (2014). Distribución Normal. Universidad de València, Depto. De Estadística. Disponible en: <https://www.uv.es/ceaces/pdf/normal.pdf> , Consultada el día 12/11/15.

Liseti Solano. (2008). Influencia de las parasitosis intestinales y otros antecedentes infecciosos sobre el estado nutricional antropométrico de niños en situación de pobreza. Parasitol Latinoam 63: 12 - 19. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-77122008000100003](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-77122008000100003) , consultada el día 12/11/15.

Llanos Zavalaga, L. F. (2003). Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Instituto Nacional de Salud Lima Peru. 24p. Disponible en: [http://bvs.minsa.gob.pe/local/ins/165\\_nt37.pdf](http://bvs.minsa.gob.pe/local/ins/165_nt37.pdf) , consultada el día 12/11/15.

Lynch, N. R. (1987). Immediate Allergic Reactions (Ballieres Clinical Tropical Medicine of Communicable Diseases, Vol. 2),pp. 573 – 93, London: Balliere – Tindall. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1809184/> , consultada el día 12/11/15.

Mariela Contrera . (2006). Eosinofiliás pulmonares. Neumología y Cirugía de Tórax. Vol. 65(S3):S47-S55. Disponible en: <http://www.mediagraphic.com/pdfs/neumo/nt-2006/nts063f.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Marilyn E. Scott. (2008). Ascaris lumbricoides: Una revisión de su epidemiología y su relación con otras infecciones, Ann Nestlé [Esp]; 66:7–22. Disponible en: [https://www.nestlenutrition-institute.org/intl/es/resources/library/Free/anales/a66\\_1/Documents/03%20Ascaris%20lumbricoides%20Una%20revisi%C3%B3n%20de%20su%20epidemiolog%C3%ADa%20y%20su%20relaci%C3%B3n%20con%20otras%20infecciones.pdf](https://www.nestlenutrition-institute.org/intl/es/resources/library/Free/anales/a66_1/Documents/03%20Ascaris%20lumbricoides%20Una%20revisi%C3%B3n%20de%20su%20epidemiolog%C3%ADa%20y%20su%20relaci%C3%B3n%20con%20otras%20infecciones.pdf) , consultada el día 12/11/15.

Martínez-Barbabosa, I. (2000). Inmunoepidemiología sobre ascariasis en escolares de la Ciudad de México. Revista Mexicana de Patología Clínica, Vol. 47, Núm. 1, Enero – Marzo. Disponible en: <http://www.mediagraphic.com/pdfs/patol/pt-2000/pt001e.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Mercedes B. G. (1996). Parasitosis Intestinal Su manejo farmacológico. Fármacos 9 (2): 116-122, 1409-1240/96. Disponible en: <http://docplayer.es/4802755-Parasitosis-intestinal-su-manejo-farmacologico.html> , consultada el día 12/11/15.

Mora, L. (2005). Prevalencia del complejo Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar en pacientes con síntomas gastrointestinales de diarrea procedentes de

Cumaná, Estado Sucre. Kasma 33(1): 36 - 45, enero-junio. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Marcos\\_De\\_Donato/publication/262660660\\_Prevalencia\\_del\\_complejo\\_Entamoeba\\_histolyticaEntamoeba\\_dispar\\_en\\_pacientes\\_con\\_sntomas\\_gastrointestinales\\_de\\_diarrea\\_procedentes\\_de\\_Cuman\\_Estado\\_Sucre/links/55e5d16b08aede0b57375eb1.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Marcos_De_Donato/publication/262660660_Prevalencia_del_complejo_Entamoeba_histolyticaEntamoeba_dispar_en_pacientes_con_sntomas_gastrointestinales_de_diarrea_procedentes_de_Cuman_Estado_Sucre/links/55e5d16b08aede0b57375eb1.pdf) , Consultada el día 13/03/16.

Morales-Espinoza EM. (2003). Intestinal parasites in children, in highly deprived areas in the border region of Chiapas, Mexico Salud Publica Mex;45:379-388. Disponible en: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342003000500008](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342003000500008) , consultada el día 12/11/15.

Muñoz Batet, C. (2009). Infecciones pulmonares importadas, medicina respiratoria, (2) 3: 41-50. Disponible en: <http://www.neumologiaysalud.es/descargas/Volumen2/vol2-n3-5.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Olivas, E. (2004). Manual de practicas de Microbiologia I, II y Parasitologia. Universidad Autonoma de Ciudad Juarez. 101,102 p. Disponible en: [http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL\\_RAMOS MARIA DE LOS ANGELES Manual de practicas de.pdf](http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMOS MARIA DE LOS ANGELES Manual de practicas de.pdf) , consultada el día 12/11/15.

Olsen A. (2007). Efficacy and safety of drug combinations in the treatment of schistosomiasis, soil-transmitted helminthiasis, lymphatic filariasis and onchocerciasis. Trans R Soc Trop Med Hyg ; 101: 747–758. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17481681> , consultada el día 12/11/15.

Orr, T. S. & Blair, A. M. (1969). Potentiated regain response to egg albumin and con-albumin in *Nippostrongylus brasiliensis*- infected rats, Life Sciences, 8, 1073-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1408180/> , consultada el día 12/11/15.

Palmer, L.J. (2002). Ascaris lumbricoides Infection Is Associated with Increased Risk of Childhood Asthma and Atopy in Rural China. American Journal of

Respiratory and Critical Care Medicine Vol 165. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12045121> , consultada el día 12/11/15.

Perales D, (2002). Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de Diarrea Aguda Infecciosa en niños menores de dos años en el Distrito de la Victoria, Lima-Perú. *Rev. perú. med. exp. salud publica*, Lima, v. 19, n. 4, oct. Disponible en:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342002000400004&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342002000400004&lng=es&nrm=iso) .Consultado el día 13/03/16.

Philip J. Cooper. (2000). Human Infection with *Ascaris lumbricoides* Is Associated with a Polarized Cytokine Response. *The Journal of Infectious Diseases*; 182:1207–13. Disponible en: <http://jid.oxfordjournals.org/content/182/4/1207.full.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Ponce de Leon Patricia. (2005). H ANTIGEN PRESENCE IN AN *Ascaris lumbricoides* EXTRACT. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 47(3):159-160, May-June. Disponible en:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46652005000300008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652005000300008) , consultada el día 12/11/15.

Rodriguez-Garcia, A. J.(2004). Factores de Riesgo para oclusión y suboclucion intestinal por *Ascaris lumbricoides*, *Cir Ciruj*; 72: 37-40. Disponible en: <http://www.mediagraphic.com/pdfs/circir/cc-2004/cc041h.pdf> , consultada el día 12/11/15.

Romagnani, S. (1999). Interleuquinas TH1/TH2, *Dermatologia Peruana* - Vol. 9, Suplemento 1, Diciembre. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v09\\_sup1/interleuquinas.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v09_sup1/interleuquinas.htm) , consultada el día 12/11/15.

Salud Pública de México, vol. 36, núm. 1, enero-febrero, pp. 3-9. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10636102> , Consultada el día 15/10/15.

Sarti, E. (1997). La teniosis y cisticercosis por *Taenia solium*. *Salud Pública de México*, 39(3), 225-231. Retrieved March 16. Disponible en:

[http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36341997000300009&lng=en&tlng=pt](http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36341997000300009&lng=en&tlng=pt) . Consultada el día 13/03/16.

Taylor & Francis INC. (1992). *Allergy and Immunity to Helminths. Department of Allergy and Clinical Immunology National Heart & Lung Institute London*. P.p 72-75. Disponible en: <https://books.google.com.mx/books?id=bCLsm-4ipbIC&pg=PA97&lpg=PA97&dq=Taylor+%26+Francis++Allergy+and+Immunity+to+Helminths.&source=bl&ots=HYvO3xbAAy&sig=zYt6dvn0i370pimxr-B9Ri8NM2s&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjPnKba4qrKAhVQ2mMKHekYCGwQ6AEIHZA#v=onepage&q=Taylor%20%26%20Francis%20%20Allergy%20and%20Immunity%20to%20Helminths.&f=false> , consultada el día 12/11/15.

Van Dellen, R. G. & Thompson, J. H. (1971). *Absence of intestinal parasites in asthma*. New England Journal of medicine, 285, 146-8. Disponible en: [http://www.unboundmedicine.com/medline/citation/5087703/Absence\\_of\\_intestinal\\_parasites\\_in\\_asthma](http://www.unboundmedicine.com/medline/citation/5087703/Absence_of_intestinal_parasites_in_asthma) , consultada el día 12/11/15.

Velasco Castrejón, O. (1993). *Epidemiología de las helmintiasis intestinales en México: bases para su control*. Secretaría de Salud; ago. 1993. 123 p. Disponible en: [http://catalogoinsp.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=270&query\\_desc=au%3A%22Velasco%20Castrej%C3%B3n%2C%20Oscar.%22](http://catalogoinsp.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=270&query_desc=au%3A%22Velasco%20Castrej%C3%B3n%2C%20Oscar.%22) , consultado el día 12/11/15

Wei Chern G. R. (2014). *Acute airway obstruction by Ascaris lumbricoides in a 14-month-old boy*, *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 78: 1795-1798. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25129847> , Consultado el día 12/11/15.

## 8. Apéndice 1

**Parásito:** Del griego *parasito* = el que vive o come a expensas de otro. Organismo que habita y se alimenta de su hospedador durante toda o parte de su vida (parasito heteroxeno o monoxeno). (Cruz-Reyes, 2001)

**Nematodo:** Del griego νήμα nema, "hilo", ειδήεις eidés u οιδος oídos, "con aspecto de"), también conocidos como nemátodos, nematodes y nematelmintos, agentes causales de Enfermedades de transmisión alimentaria. Se conocen vulgarmente como gusanos redondos debido a la forma de su cuerpo en un corte transversal. (Brusca, R. C. & Brusca, G. J., 2005)

**Helmintos:** Del griego *elmins* o *helmins* = gusano, en sentido estricto. Nombre genérico que se aplica a organismos invertebrados de vida libre y parásitos. Los gusanos presentan un cuerpo plano sin apéndices, segmentados o no, con simetría bilateral. Son de diversos phyla: *Platyhelminthes* (gusanos aplanados), *Nematoda* (verdaderos gusanos redondos) y *Acantocephala* (gusanos con proboscis provista de espinas y ganchos). (Cruz-Reyes, 2001)

**Eosinofilia:** Eosinofilia significa la presencia en sangre periférica de más de 500 eosinófilos por  $\mu\text{L}$ . Se tiende a contar en números absolutos y no en porcentaje y se clasifican en leve ( $< 1.000/\mu\text{L}$ ), moderada ( $1.000-3.000/\mu\text{L}$ ) y grave ( $> 3.000/\mu\text{L}$ ) (Hueso Ibáñez, R., 2011).

**Incidencia:** Se define como el volumen de casos nuevos que aparecen en un periodo determinado, así como la velocidad con la que lo hacen. (Altamirano, A. M., 2000)

**Prevalencia:** Se refiere al número de individuos que, en relación con la población total, padecen una enfermedad determinada en un momento específico (Altamirano, A. M., 2000).

**Morbilidad:** Morbilidad es la proporción de personas que se enferman en un sitio y tiempo determinado (Altamirano, A. M., 2000).

**Uncinarias:** Las uncinarias pertenecen a la familia Ancylostomatidae que se caracteriza por la presencia de órganos cortantes. Las dos especies que parasitan el intestino delgado del hombre son: *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, cuyos huevos excretados en la materia fecal son morfológicamente indistinguibles (Antioquia University, 2011).

**Verme:** Gusano, especialmente lombriz intestinal (Pascual Foronda E. 2007).

## 9. Apéndice 2

### Electroforesis

1. Se prepara un gel de agarosa 1.2% en amortiguador TBE al 1%.
2. La mezcla de corrimiento se prepara con 7 $\mu$ L del Antígeno somático de *A. lumbricoides*; 3 $\mu$ L de azul de bromofenol y 5 $\mu$ L de agua con DEPC.
3. En el primer carril se coloca la mezcla del marcador de peso molecular con el colorante de corrimiento, en el carril intermedio la mezcla de las IgG de conejo con el colorante de corrimiento y en el carril final la mezcla con el antígeno somático y el colorante de corrimiento. La electroforesis se efectúa a 80V durante 90 minutos. Luego se tiñe en un recipiente con bromuro de etidio. En el transluminador se observa la posición de las bandas con respecto a los marcadores de tamaño (De la Rosa Arana, J. L., 2000).

### Inmuno-electrotransferencia o Western Blot

1. El gel separador (acrilamida 12%) se prepara mezclando, en este orden, 5.5mL de una solución de acrilamida al 29.2% que contiene n,n'-metileno-bis-acrilamida al 0.8%, 3mL de una solución de tris hidroximetil aminometano (TRIS-base) 2M pH8.8, 0.13mL de dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10% y 5.25mL de agua destilada.
2. El gel concentrador (acrilamida 5%) se prepara mezclando, en este orden, 1.17mL de una solución de acrilamida al 30% que contiene n,n'-metileno-bis-acrilamida al 0.8%, 0.22mL de una solución de tris hidroximetil aminometano hidrocloreto 2M pH6.8 (TRIS-HCl), 0.03mL de SDS al 10% y 3.83mL de agua destilada.
3. El sistema de geles se prepara con una cámara para electroforesis empleando cristales de 7.3 x 10.2cm y separadores de 1.5mm de espesor.



4. Se agregan al gel separador 0.50mL de persulfato de amonio (10mg/mL) y 0.030mL de n,n,n'n'-tetrametiletilendiamina (TEMED); después de mezclar vigorosamente, se colocan 10mL de la solución entre los dos cristales de la cámara y se deja polimerizar.
5. La solución no polimerizada se elimina con papel filtro. Se coloca el peine con 2 carriles, uno de 0.4 cm de largo que se usa para colocar el marcador de pesos moleculares y el otro de 14.4cm de largo para colocar la solución de antígeno.
6. Se agregan al gel concentrador 0.20mL de persulfato de amonio (10mg/mL) y 0.010mL de TEMED; después de homogeneizar, la mezcla se coloca sobre el gel separador, evitando burbujas. Después de la polimerización se quita el peine y se elimina el exceso de solución no polimerizada con agua. Antes de poner las muestras se secan los carriles con papel filtro grueso
7. Se emplean 100µg de antígeno diluido 1:2 en solución para desnaturalizar proteínas (1 mL de SDS 10% 7.4 mg de ácido etilendinitrilotetracético(EDTA), 1 mL de glicerina, 250 µL de TRIS-HCl 2M, pH 6.8, 1 mg de azul de bromofenol y agua destilada para completar 10mL). Antes de usarse, a cada mililitro de solución para desnaturalizar proteínas se le adicionan 100 µL de 2-mercaptoetanol.
8. La mezcla de antígeno-solución para desnaturalizar proteínas, se hierve en baño maria durante 10 minutos. El marcador de pesos moleculares se prepara de acuerdo a su instructivo.
9. La electroforesis se efectúa en presencia de una solución de TRIS-base 20mM, pH 8.8; glicina 150 mM; SDS 10%, 8 mL, aplicando 200 volts durante 2 horas en refrigeración o cuando el color de la solución para desnaturalizar proteínas alcanza el borde de los cristales.
10. Después de la electroforesis se llenan dos recipientes grandes con amortiguador de transferencia (3.08 g de TRIS-base, 25 mM, 14.48 g de glicina, 193mM, 200 mL de metanol y 800 mL de agua destilada), en uno se coloca el gel y en otro, la membrana de nitrocelulosa de 0.45 mm de poro

con los aditamentos de la cámara de transferencia. Se deja remojar durante 15 min.

11. El cassette de transferencia se arma de acuerdo a su instructivo de operación y la transferencia se lleva a cabo con una corriente de 400 mA durante 70 minutos a 4°C.
12. La membrana se tiñe con rojo de Ponceau al 0.2% en ácido tricloroacético 0.3% para observar si la transferencia de las proteínas fue la adecuada. Se retira el exceso de colorante con agua destilada y luego de identificar el carril con los marcadores de peso molecular, se corta.
13. La membrana de nitrocelulosa, colocada en un recipiente, se bloquea con leche semidescremada al 5% en PBS-Tween 20 al 5% (PBS-T) toda la noche a 4°C.
14. Al día siguiente, la membrana se lava 3 veces con PBS-T y 2 veces con PBS durante 5 minutos en cada ocasión. Luego se cortan tiras en sentido vertical de 4 mm de ancho y se colocan en una incubadora de tiras de 500µL de capacidad por canal.
15. Cada tira se incuba con un suero diluido 1:50 en PBS-T y durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación suave.
16. Después de lavar 3 veces con PBS-T, 5 minutos cada una, las tiras se incuban con un conjugado diluido en PBS-T, durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación suave; se repiten los lavados. El conjugado son anticuerpos de cabra contra IgG humana acoplados a peroxidasa (comercial) y la dilución óptima se determina previamente.
17. La reacción se revela empleando 50 mg de 4-cloro-1-naftol diluido en 10 mL de metanol, 50 mL de PBS y 5µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y se deja incubar durante 5 minutos. Luego se retira la solución de substrato y la reacción se detiene con agua destilada.
18. Las tiras se secan sobre papel filtro y se calcula el peso molecular de cada banda, de acuerdo a las instrucciones de los marcadores de peso molecular (De la Rosa Arana, J. L., 2000).

### Técnica colorimétrica de Bradford

1. Reactivo de Bradford (“Muy importante”. No confundir el coomasie G-250 con el coomasie R-250). Mezclar en, el siguiente orden, 5mg de Azul de coomasie G-250, 2.5mL de Etanol, 5mL de ácido fosfórico y agua destilada hasta llegar a un volumen de 50mL.
2. Disolver 10 mg de albúmina bovina en 10 ml de agua destilada, con lo que tenemos una disolución madre con una concentración de 1 mg/ml.
3. -Preparar la curva patrón de albúmina bovina en un rango desde 0 hasta 60  $\mu\text{g}$ ; de tal manera que el volumen final en cada tubo sea de 300  $\mu\text{l}$ . Mezclar para ello el volumen adecuado de la disolución madre de albúmina bovina de un 1 mg/ml y el correspondiente volumen necesario de agua, de acuerdo con la siguiente tabla:

$\mu\text{g}$ (prot)	0	10	20	30	40	50	60
$\mu\text{l}$ (alb)	0	10	20	30	40	50	60
$\mu\text{l}$ (agua)	300	290	280	270	260	250	240
$\mu\text{l}$ total	300	300	300	300	300	300	300

4. Hacer una dilución 1:20 de la leche comercial; a continuación, realizar las diferentes diluciones de acuerdo con la siguiente tabla:

Leche diluida	A	B	C
V. leche ( $\mu\text{l}$ )	20	25	30
V. agua ( $\mu\text{l}$ )	280	275	270
V. total	300	300	300

5. añadir 3 ml del reactivo de Bradford a todos los tubos; tanto a las diluciones que contienen la albúmina como a las que contienen la leche diluida. Agitar los tubos y a continuación proceder a la lectura de la absorbancia a 595 nm en el colorímetro. (Fernández Reyes, E., 2005)

### **Técnica de Faust (concentración por flotación)**

1. Con un abatelenguas se toma aproximadamente 1 g de heces (del tamaño de un cacahuate) y se deposita en un vaso que contenga de 10 a 15 mL de agua y se mezcla con un agitador.
2. La suspensión se filtra a través de una coladera o malla y se recibe el filtrado en un tubo de centrifuga de 14 mL. Se le adicionaran 1-2 mL de éter. Se tapa con un corcho y agita vigorosamente. Se adiciona agua hasta que la muestra quede 1 cm por debajo del borde superior del tubo.
3. Se centrifuga por 45 segundos a 2 500 rpm. Debe romperse cualquier acumulo que pudiera haberse formado en la parte superior y se decanta el sobrenadante.
4. Se añaden de 2-3 mL de agua y se agita para resuspender el sedimento hasta que quede la muestra a 1cm del borde superior del tubo. Se centrifuga nuevamente.
5. Se decanta el sobrenadante y se agrega al sedimento 2-3 mL de sulfato de zinc (densidad 1.180) moviendo con un aplicador para resuspender. Se agrega más sulfato de zinc hasta que llegue a unos 0.5 cm del borde superior del tubo.
6. Se centrifuga a 2300 rpm durante 2 min y no se saca el tubo.
7. Sin sacar el tubo de la centrifuga se recogen algunas gotas del material que flota en a la superficie con un asa de platino (se debe cuidar que el asa no penetre demasiado a la superficie).
8. Se deposita la gota en un portaobjetos y se monta una gota de lugol entre porta y cubre.
9. Se observa al microscopio 10X y 40X.

## **Técnica de Kato-katz**

1. Con un aplicador (abatelengua) transferir la muestra fecal (0,5-1g) sobre el papel absorbente.
2. Colocar una malla o nylon de 2 x 3 cm. sobre la muestra.
3. Con el aplicador del kit comprimir la malla para tamizar la muestra.
4. Colocar el molde de plástico sobre la lámina portaobjeto y rellenar la perforación con la muestra tamizada.
5. Levantar el molde dejando el "cilindro" de la muestra en la lámina portaobjeto.
6. Colocar la laminilla glicerizada con verde de malaquita sobre la muestra y con ayuda de un tapón de jebe presionar sobre la laminilla, buscando extender la muestra.
7. Dejar para la diafanización (aclaramiento) a temperatura ambiente de 30 a 45 minutos.

## **Examen Directo Microscópico**

1. Colocar en un extremo de la lámina portaobjeto una gota de suero fisiológico y, con ayuda de un aplicador, agregar 1 a 2 mg de materia fecal, emulsionarla y cubrirla con una laminilla cubreobjeto.
2. Colocar en el otro extremo de la lámina portaobjeto, una gota de lugol y proceder a la aplicación de la muestra fecal como en el párrafo anterior.
3. Con el suero fisiológico, los trofozoítos y quistes de los protozoarios se observan en forma natural, y con lugol, las estructuras internas, núcleos y vacuolas.
4. En algunos casos, se recomienda el uso de colorantes vitales, debido a que no alteran la actividad del trofozoíto. Los más usados son verde brillante 0,2% y rojo neutro 0,01%.

5. Observar al microscopio a 10X ó 40X. No es aconsejable usar objetivo de inmersión (100X), pues se puede ensuciar el microscopio.
6. Recorrer la lámina siguiendo un sentido direccional, ejemplo: de derecha a izquierda, o de arriba a abajo.