



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**

**“EVALUACION DE LA TRANSMISIÓN DE ASCARIOSIS PORCINA Y SU
RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE ASCARIOSIS HUMANA, EN UNA
COMUNIDAD RURAL DEL ESTADO DE GUERRERO”**

TESIS

QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

MVZ DIANA NOLASCO PÉREZ

TUTOR PRINCIPAL:

DR. JOSÉ JUAN MARTÍNEZ MAYA, FMVZ, UNAM

COMITÉ TUTORAL:

MVZ, MSC. ALINE S. DE ALUJA, FMVZ, UNAM
DR. JULIO MORALES SOTO, IIB, UNAM

MÉXICO, D.F. 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA

A mi amado hijo Pedro David, por llegar a mi vida, por todo su amor y por ser la razón para superarme cada día.

A mi madre y padre, por su apoyo incondicional a pesar de mis errores.

A mi hermanas A. Carolina, por darme ánimo para continuar cuando me sentí decaída y María Guadalupe (†) que siempre esta con nosotros.

A mis sobrinos: Ana y Emmanuel, por sus travesuras y alegría de vivir.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fuerza para seguir adelante a pesar de los tropiezos que pudieron presentarse.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a mi facultad, por brindarme el privilegio de realizar mis estudios en sus aulas.

A mi madre, gracias por darme la vida y tu amor incondicional.

A mi hijo, mi hermana y mis sobrinos, por estar siempre dispuestos para mí.

A la Dra. Aline S. De Aluja, por darme la oportunidad de colaborar y trabajar con ella.

A mis asesores de tesis: el Dr. José Juan Martínez Maya y el Dr. Julio Morales Soto, por la confianza.

A los integrantes de mi jurado, por otorgarme un poco de su tiempo para la revisión y enriquecimiento de esta tesis con sus observaciones.

A Sara Claudia Herrera García, por sus recomendaciones, por su amistad y apoyo incondicional.

A la Sra. Isabel Aguilar, por sus atenciones y acertados consejos.

A mis colegas: MMVVZZ Arturo López Rodríguez, Antonio de Jesus Celis Trejo, C. Raúl Suárez Marín, Armando Trejo Torres, Juanita G. Pérez Gómez, Miguel Galarde, Alejandro Gallegos y Luis David Arroyo Aguas, por su colaboración durante mi trabajo de campo.

A la Dra. Martha Ponce Macotela, por abrir las puertas de su laboratorio para llevar a cabo la parte molecular del proyecto, así como su orientación para realizar el trabajo. Además del empeño en la revisión de esta tesis.

Al Biol. Mario Martínez Gordillo, por el diseño de los oligos para la realización de la parte molecular del experimento.

A Aaron Rodríguez Caballero, por las indicaciones y el adiestramiento para realizar el proceso de tipificación molecular.

A Gustavo Peralta y Laura Soto, por su ayuda para realizar el diagnóstico coproparásitoscopico de las muestras recolectadas en las comunidades.

A los practicantes del CONALEP y colaboradores del Instituto Nacional de pediatría que brindaron su apoyo en la realización del estudio.

A los encargados de los Centros de Salud y a los habitantes de las comunidades estudiadas que colaboraron en el proyecto.

A la beca para realizar los estudios de maestría que otorgó el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Al apoyo económico del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) No. IN226611.

Al apoyo económico del Convenio por parte de SAGARPA-SENASICA-UNAM No. 31367-591-21-III-12 del Proyecto de Control de la Teniasis-Cisticercosis en México.

CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| I. RESUMEN | 12 |
| Abstract | 13 |
| II. INTRODUCCIÓN | 14 |
| Taxonomía de <i>Ascaris</i> | 14 |
| Morfología | 14 |
| Ciclo biológico | 16 |
| Signos clínicos | 18 |
| Diagnóstico | 19 |
| Tratamiento | 19 |
| Epidemiología | 20 |
| Tipos de investigación en torno a la ascariosis | 21 |
| Epidemiología molecular | 22 |
| III. JUSTIFICACIÓN | 24 |
| IV. HIPÓTESIS | 25 |
| V. OBJETIVOS | 25 |
| Objetivo General | 25 |
| Objetivos Específicos | 25 |
| VI. MATERIAL Y MÉTODOS | 26 |
| Selección del lugar para llevar a cabo el estudio | 26 |
| Identificación y registro de la población porcina | 27 |
| Situación epidemiológica de la población porcina y humana | 27 |
| Diagnóstico morfológico de huevos de <i>Ascaris</i> | 28 |
| Concentración de huevos de <i>Ascaris</i> | 29 |
| Extracción de ADN de huevos larvados de <i>Ascaris</i> | |

| | |
|---|-----------|
| mediante el kit..... | 29 |
| Extracción de ADN de huevos larvados de <i>Ascaris</i> mediante fenol-cloroformo | 31 |
| Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) | 31 |
| Electroforesis | 32 |
| Polimorfismos de los fragmentos de restricción (RFLP's) ... | 32 |
| Análisis de la información..... | 34 |
| VII. RESULTADOS | 35 |
| Región Norte | |
| Identificación y registro de la población porcina | 35 |
| Determinación de la frecuencia de ascariosis porcina | 35 |
| Observación y seguimiento de los porcinos | 36 |
| Frecuencia de ascariosis humana | 38 |
| Región Costa Chica | |
| Identificación de la población porcina | 39 |
| Determinación de la frecuencia de ascariosis humana en dos comunidades | 40 |
| Frecuencia de ascariosis porcina | 41 |
| Frecuencia de ascariosis humana en las tres comunidades estudiadas | 41 |
| Comparación entre las frecuencias de ascariosis en niños y adultos | 42 |
| Relación entre ascariosis en humanos y la tenencia de porcinos | 42 |
| Relación entre la positividad a ascariosis humana y la forma de obtención de agua para consumo | 43 |
| Relación entre la ascariosis en humanos y el tipo de baño utilizado | 43 |
| Observación de otros parásitos | 44 |

| | |
|--|----|
| Reacción en cadena de la polimerasa | |
| Amplificación de ADN de huevos de <i>A. lumbricoides</i> | 46 |
| Polimorfismos de los fragmentos de restricción | 47 |
| VIII. DISCUSIÓN | 50 |
| IX. CONCLUSIÓN | 54 |
| X. REFERENCIAS | 55 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Fig. 1 Fotografía que muestra un huevo de <i>Ascaris sp.</i> | 14 |
| Fig. 2 Fotografía que muestra un huevo no fecundado de <i>Ascaris sp.</i> | 15 |
| Fig. 3 Fotografía donde se observa un huevo larvado de <i>Ascaris sp.</i> | 15 |
| Fig. 4 Fotografía donde se observa una larva recién emergida de un huevo de <i>Ascaris sp.</i> | 15 |
| Fig. 5 Fotografía que muestra varios ejemplares adultos de <i>Ascaris suum</i> | 16 |
| Fig. 6 Esquema que ilustra el ciclo biológico de <i>Ascaris suum</i> | 17 |
| Fig. 7 Esquema del mapa de Guerrero, señalando las dos regiones en las que se realizó el estudio | 26 |
| Fig. 8 Fotografía que muestra la secuencia de 470 pb del gen ITS-1, 5.8S rRNA de <i>Ascaris lumbricoides</i> | 32 |
| Fig. 9 Fotografía que muestra la secuencia de 470 pb del gen ITS-1, 5.8S rRNA de <i>Ascaris suum</i> | 33 |
| Fig. 10 Fotografía que muestra los sitios de corte de <i>Hae III</i> , para determinar la especie de <i>Ascaris</i> | 33 |
| Fig. 11 Fotografía que muestra porcinos (primer grupo) con pobre y mediana condición corporal, San Martín Pachivia, Guerrero | 35 |
| Fig. 12 Fotografía donde se observan algunos integrantes del segundo grupo de cerdos en convivencia con otros animales. San Martín Pachivia, Guerrero | 36 |
| Fig. 13 Fotografía donde se observan porcinos en busca de alimento, en el basurero de San Martín Pachivia, Guerrero | 37 |

| | |
|---|----|
| Fig. 14 Fotografía que muestra la salida del "drenaje" de una casa habitación hacia la calle. San Martín Pachivia, Guerrero | 37 |
| Fig. 15 Gráfica en la que se muestra la frecuencia de ascariasis en la población humana de San Martín Pachivia | 38 |
| Fig. 16 Fotografía donde se observan porcinos deambulando por un depósito de desechos. Yoloxóchitl, Guerrero | 39 |
| Fig. 17 Fotografía que muestra varios porcinos reposando en la parte trasera de una vivienda. Yoloxóchitl, Guerrero | 39 |
| Fig. 18 Gráfica que muestra la frecuencia de <i>Ascaris</i> en humanos en Yoloxóchitl | 40 |
| Fig. 19 Gráfica que muestra la frecuencia de <i>Ascaris</i> en humanos en Zentixtlahuaca | 41 |
| Fig. 20 Fotografía en la que se observa un huevo de <i>Taenia sp.</i> de una muestra de humano, técnica directa, 40X | 45 |
| Fig. 21 Fotografía en la que se observa un huevo de <i>Hymenolepis nana</i> , Técnica de concentración-flotación, 40X | 45 |
| Fig. 22 Fotografía de un gel de agarosa al 1.5 % teñido con bromuro de etidio, que muestra la amplificación de un segmento de 470 pb del gen ITS de <i>Ascaris</i> | 46 |
| Fig. 23 Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, que muestra la amplificación de un segmento de 470 pb del gen ITS de <i>Ascaris lumbricoides</i> | 46 |
| Fig. 24 Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% (Gel 1) teñido con bromuro de etidio, que muestra la restricción de un segmento de 470 pb del gen ITS de <i>Ascaris con Hae III</i> | 47 |

Fig. 25 Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% (Gel 2) teñido con bromuro de etidio, que muestra la restricción de un segmento de 470 pb del gen ITS de *Ascaris con Hae III*..... 48

Fig. 26 Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% (Gel 3) teñido con bromuro de etidio, que muestra la restricción de un segmento de 470 pb del gen ITS de *Ascaris con Hae III* 48

LISTA DE CUADROS

| | Página |
|--|--------|
| Cuadro 1. Frecuencia de ascariasis porcina en San Martín Pachivia | 36 |
| Cuadro 2. Frecuencia de ascariosis porcina en las regiones analizadas de la Costa Chica | 40 |
| Cuadro 3. Frecuencia de ascariosis en porcinos de tres comunidades | 41 |
| Cuadro 4. Ascariosis humana en tres localidades del estado de Guerrero | 42 |
| Cuadro 5. Frecuencia de ascariosis en niños y adultos de las comunidades estudiadas en Guerrero | 42 |
| Cuadro 6. Casos de ascariosis humana relacionados con la presencia de porcinos .. | 43 |
| Cuadro 7. Relación entre la forma de obtención de agua potable y la ascariosis en humanos | 43 |
| Cuadro 8. Relación entre el tipo de baño y la ascariosis humana | 44 |
| Cuadro 9. Hallazgos de diferentes parásitos intestinales encontrados en los análisis coproparásitoscópicos (CPS) | 44 |
| Cuadro 10. Polimorfismos de las muestras analizadas | 49 |

I. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue realizar la tipificación molecular de huevos de *Ascaris lumbricoides* y de *Ascaris suum*, con la finalidad de indagar acerca de la posibilidad de una infección cruzada entre humanos y cerdos. El estudio se llevó a cabo en 3 comunidades rurales de 2 regiones del estado de Guerrero, México (Región Norte: San Martín Pachivia y Región Costa Chica: Zentixtlahuaca y Yoloxóchitl). Se aplicó una encuesta epidemiológica, se determinó la frecuencia de ascariosis porcina y humana por el análisis de muestras de heces de personas y si tenían porcinos también de éstos. Las muestras se procesaron mediante análisis coproparasitoscópicos de concentración-flotación (*Faust*). De las muestras positivas se concentraron los huevos de *áscaris* y se extrajo el ADN, el cual se amplificó para obtener un segmento de 470 pb del gen ITS de *áscaridos* y se restringió con la enzima *Hae III* para determinar la especie: *A. lumbricoides* o *A. suum*. Se obtuvieron 693 muestras de humanos, de las cuales 179 (2.82%) fueron positivas a *áscaris*; en el caso de los cerdos, de 199 muestras, en 88 (44.2%) se encontraron huevos de *áscaris*. Posteriormente se amplificaron y restringieron 21 muestras procedentes de humanos: en 14 se encontró el patrón característico de *A. lumbricoides* mientras que en siete se encontró una mezcla de *A. lumbricoides* y *A. suum*. En siete muestras de porcinos: cinco tuvieron el patrón de *A. lumbricoides* y en dos una mezcla de *A. suum* y *A. lumbricoides*. Al final del estudio llamó la atención, la alta frecuencia de ascariosis en humanos, particularmente en adultos (22.04%). De acuerdo a los datos obtenidos mediante la tipificación molecular, se sugiere que en estas comunidades existe la posibilidad de que se lleven a cabo infecciones cruzadas entre porcinos y humanos, aunque para confirmarlo se tienen que realizar estudios más detallados.

Palabras clave: Ascariosis, cerdos, humanos, comunidades, tipificación, amplificación, restricción y zoonosis.

Abstract

The aim of this study was to perform molecular typing of eggs of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum*, in order to inquire about the possibility of cross- infection between humans and pigs. The study was conducted in 3 rural communities in two regions of the state of Guerrero, Mexico (Northern Region San Martin Pachivia, Costa Chica: Zentixtlahuaca and Yoloxóchitl). An epidemiological survey was conducted, the frequency of porcine and human ascariasis by analyzing stool samples from people determine if they also had pigs . The samples were processed by analysis coproparasitoscopic concentration-flotation (Faust). Positive samples *Ascaris* eggs were concentrated and the DNA, which was amplified to obtain a 470 bp segment of the ITS gene roundworms and restricted with enzyme *Hae III* for determining extracted species: *A. lumbricoides* or *A. suum* 693 human samples, of which 179 (25.82%) were positive for *Ascaris* were obtained ; in the case of pigs, of 199 samples, 88 (44.2 %) *Ascaris* eggs were found. Subsequently amplified and restricted samples from 21 humans: 14 the characteristic pattern of *A. lumbricoides* was found in seven while a mixture of *A. lumbricoides* and *A. suum* was found. In seven samples of pigs: five had the pattern of *A. lumbricoides* and two a mixture of *A. suum* and *A. lumbricoides*. At study drew attention, the high frequency of ascariasis in humans, particularly in adults (22.04%). According to data obtained by molecular typing, it is suggested that in these communities there is the possibility of conducting cross between pigs and human infections, although they have to confirm that more detailed studies.

Keywords: *ascariasis, pigs, humans, communities, typing, amplification, restriction and zoonosis.*

II. INTRODUCCIÓN

Taxonomía de *Ascaris*

Los nematodos son gusanos cilíndricos, con simetría bilateral, color nacarado, dioicos y con dimorfismo sexual. Sistema digestivo completo, sistema nervioso, excretor y reproductor. Tienen cutícula, hipodermis, capas musculares y pseudocele (Soulsby, 1991).

Reino: Animalia

Phylum: Nematoda

Clase: Secernentea

Orden: Ascaridida

Familia: Ascarididae

Género: *Ascaris*.

Especies: *lumbricoides* (Linneo, 1758)

suum (Goeze, 1782)

Morfología

Huevo

El huevo de *A. suum* es ovoide, mide 60-75 micras X por 50-55 micras, está formado de tres capas: la capa externa es mamelonada, albuminoide y generalmente teñida de color café dorado, la capa media es transparente y gruesa, la interna (vitelina) es lipoidea e impermeable. Fig. 1



Figura 1. Fotografía que muestra un huevo de *Ascaris* sp.
Técnica directa, 40X

Los no fertilizados son más largos (85-90 micras X 30-40 micras) no tienen membrana vitelina ni mamelones (Beaver, *et al.*, 1986). Fig. 2



Figura 2. Fotografía que muestra un huevo no fecundado de *Ascaris sp.* 40X Disponible en: <http://goo.gl/BkXqIZ>

El huevo de *A lumbricoides* tiene características semejantes al de *A. suum* (Borchert, 1981).

Larva

Las larvas de *A. suum* presentan tres labios y distintos orgánulos, como aparato bucal, esófago, anillo nervioso, glándulas esofágicas, célula excretora, intestino y primordio genital. El intestino carece de lumen y se estructura en siete células poseedoras de gránulos retráctiles. El núcleo de la célula excretora es una estructura oval de unos 6 μm de longitud. En estas larvas también pueden observarse unas pequeñas columnas secretoras. Fig. 3-4



Figura 3. Fotografía donde se observa un huevo larvado de *Ascaris sp.* Técnica directa 10X

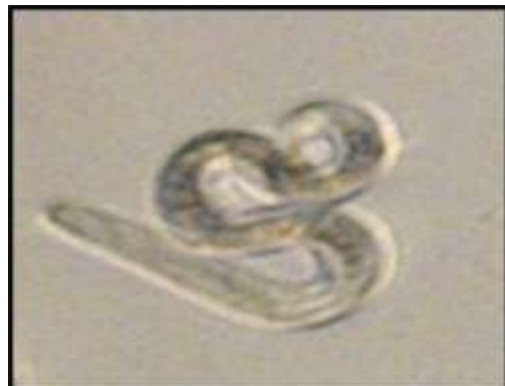


Figura 4. Fotografía donde se observa una larva recién emergida de un huevo de *Ascaris sp.* Técnica directa 10X

Las larvas de *A. lumbricoides* son semejantes a las de *A. suum*.

Adultos

Son elongados y fusiformes, de color rosado amarillento, tienen tres labios con denticulos en el margen anterior. El labio dorsal es más ancho que los lateroventrales con una doble papila en cada uno. Carecen de interlabia y su esófago puede alcanzar los 6,5 mm de longitud. Las hembras pueden medir de 20-49 cm de longitud por 3-6 mm de diámetro. El extremo posterior posee un apéndice cónico redondeado y dos anchas papilas post-anales, situadas lateralmente. La vulva se sitúa en el tercio medio del cuerpo, en una constricción anular característica que facilita la unión durante la cópula. Los machos miden entre 15-31 cm y 2-4 mm de diámetro. Su extremidad posterior es cónica y curvada ventralmente (Soulsby, 1991). Fig. 5



Figura 5. Fotografía que muestra varios ejemplares adultos de *Ascaris suum*, Preparación en fresco.

Ciclo Biológico

Debido a que *A. suum* es un geohelminto, los huevos que se encuentran en el ambiente, en condiciones de humedad relativa del 100% y 18 a 20°C alcanzan la fase de huevo L₁ a los 10 días. La fase infectante (huevo larvado de segundo estadio) la alcanzan de 30 a 40 días (Lewine, 1978). Los huevos infectantes ingeridos pasan por el pH ácido del estómago y pH alcalino del duodeno; las larvas eclosionan, penetran en la pared del intestino y pasa por el sistema porta al hígado.

Algunas larvas pasan a través de los vasos quilíferos a los linfonódulos mesentéricos; otras pueden encontrarse en la cavidad peritoneal y otras localizaciones (Lewine, 1978). Las larvas que llegan al hígado (2º o 3er día después de la ingestión) mudan a L₃. Migran a pulmones y pasan a los alveolos, bronquiolos, bronquios y tráquea, son deglutidas y llegan al intestino delgado (10-15 días) que es su hábitat. Las larvas mudan a L₄ y adultos jóvenes L₅ (21-30 días), los machos fecundan a las hembras y éstas oviponen de cientos de miles hasta cerca de 2 millones de huevos por día. Los huevos salen al ambiente con la materia fecal de los porcinos y no son infectantes (Acha, 2003). Fig. 6 El ciclo biológico de *A. lumbicoides* se lleva a cabo en el ser humano y es muy semejante al de *A. suum*.

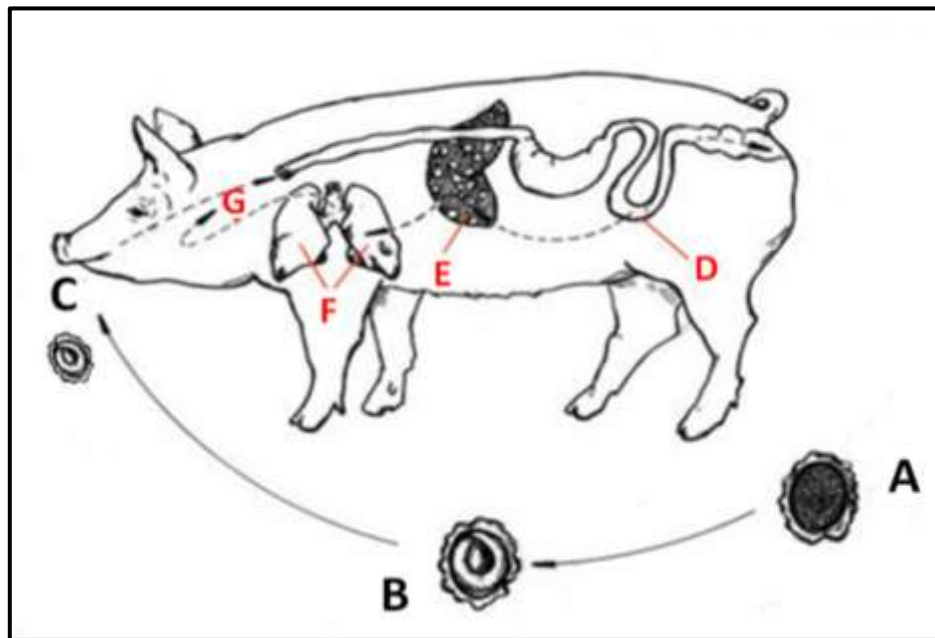


Figura 6. Esquema que ilustra el ciclo biológico de *Ascaris suum*

Modificado de Agro y Veterinaria <http://www.vetuy.com/articulos/cerdos/050/0033/porc033.htm>

A. Huevo con blastómeros; **B.** Huevo en suelo húmedo que incita su desarrollo a L₂; **C.** Ingestión de huevo con L₂ infectante; **D.** L₂ en I.D. va hacia el sistema porta para llegar al hígado, **E.** En hígado la L₂ muda a L₃, 24 hrs después. **F.** La L₃ migra al corazón y de ahí hacia los pulmones, 4-6 días después. **G.** Por el árbol bronquial las L₃ llegan a tráquea donde son deglutidos a través de la laringe para llegar al intestino delgado y mudar de L₄ a adultos 3-4 semanas después.

Signos Clínicos

Durante la fase de migración larvaria de *Ascaris suum*, es frecuente observar porcinos febriles con tos y respiración abdominal. Al principio las larvas de los ascáridos provocan solo daños mecánicos, pero rápidamente se produce hipersensibilidad y reacciones alérgicas con infiltrado eosinofílico que caracteriza la reacción del hospedador a las parasitaciones siguientes. En los hígados de los cerdos, la inflamación da lugar a una fibrosis cicatricial, dando lugar a las lesiones denominadas “manchas de leche”, que hacen que el órgano sea decomisado por los inspectores de mataderos por no ser apto para el consumo humano (Bowman, 2011).

La gravedad de las manifestaciones clínicas se asocia a la edad de los animales (siendo los jóvenes, los más afectados), la carga parasitaria, el estado nutricional y sanitario e incluso la presencia de otras infecciones concomitantes (Frontera, *et al.*, 2006).

Puede haber diarrea, pero el efecto más importante es la interferencia con la nutrición apropiada y el crecimiento normal. Ocasionalmente pueden aparecer accidentes como la oclusión del conducto biliar o perforación de la pared intestinal, consecuencia de la tendencia de los ascáridos a migrar. Los porcinos con una infección masiva no permiten obtener beneficios económicos (Bowman, 2011).

En el caso de *Ascaris lumbricoides* las larvas en proceso de migración producen el síndrome de Löeffler, caracterizado por fiebre, neumonía (disnea, cianosis, hemoptisis e infiltrados pulmonares) y marcada eosinofilia. Adicionalmente hay hipergammaglobulinemia y títulos altos de isohemaglutininas anti A y anti B (Vijayan, 2007; Beaver, *et al.*, 1952).

En la fase intestinal los síntomas dependen del número de parásitos. Las infecciones leves en general son asintomáticas, pero cuando la carga parasitaria es elevada, puede haber dolores abdominales, cólicos, diarreas y vómito. Las complicaciones más graves que se presentan en niños son: oclusión intestinal por una gran masa de parásitos, obstrucción del colédoco o conducto pancreático y las que pueden resultar de migración aberrante hacia otros órganos (Acha, 2003).

Diagnóstico

Para detectar la ascariasis en porcinos o humanos se utilizan los mismos métodos:

a) Coproparásitoscopicos (CPS): Se realizan los CPS de concentración flotación (Faust, Ferreira), para la detección de huevos. Se realizan las técnicas de Stoll, Kato Katz y uso de la cámara de McMaster, para cuantificar el número de huevos por gramo de heces.

b) Inmunológico: Se utiliza con más frecuencia en la ascariosis humana para la detección de larvas en aparato respiratorio. Los antígenos excretores-secretores (ES) de L₃ han demostrado ser los de mayor especificidad comparados con los antígenos (ES) de L₃/L₄. La migración de *Ascaris suum* produce un abundante depósito selectivo de antígenos en los órganos de tránsito, que pueden ser detectados mediante biopsia y posterior análisis inmunohistoquímico.

c) Biometría hemática para la detección de eosinofilia (30% - 50%) en la fase migratoria.

d) En el caso de los parásitos adultos, cuando existe migración errática hepatobiliar o pancreática o pulmonar, son necesarios estudios radiológicos, por ultrasonido o Tomografía Axial Computarizada (Facultad de Medicina, 2011).

e) Examen post mórtem: Los ejemplares adultos se recuperan del porcino durante la necropsia. Para la recuperación de larvas (sobre todo de hígado y pulmón), se utilizan técnicas como la de Baermann, la de agar gel y por digestión pepsino-clorhídrica de los tejidos afectados. Se pueden observar también las lesiones de "manchas de leche" en la superficie del hígado. (Frontera, *et al.*, 2006).

Tratamiento

A. suum es el nematodo económicamente más importante del porcino, aunque tiene sensibilidad a la Piperazina, Diclorvos, Fenbendazol, Levamisol, Ivermectina y Tartrato de Pirantel, estos fármacos por sí solos no son suficientes para controlar a este parásito ubicuo. Sin embargo, en unidades de producción tecnificadas sí las cerdas se tratan y lavan con jabón y agua caliente 2 semanas antes de llevarlas a la nave de partos se

reduce la contaminación a la que se exponen los lechones. Posteriormente en el área de destete, deberán cuidarse las condiciones de higiene en los alojamientos. El continuo suministro de alimentos con tartrato de pirantel previene la migración y establecimiento del parásito, ya que es el único fármaco aprobado que mata a la larva infectante inmediatamente después de eclosionar en el intestino delgado (Bowman, 2011).

En el caso de *Ascaris lumbricoides*, es sensible al Albendazol, Mebendazol, Piperazina y Pamoato de pirantel (Facultad de Medicina, 2011).

Epidemiología

La ascariosis es la helmintosis más frecuente e importante en la producción porcina, ya que ocasiona la mayoría de las pérdidas en la producción de carne por la disminución en la ganancia diaria de peso y aumento en el índice de conversión. Su distribución es cosmopolita y la prevalencia va del 20 al 70%. Es más común en cerdos en crecimiento que en adultos (Ortega M, 1998).

A esto hay que sumar las pérdidas económicas por decomiso de hígados y bajo rendimiento de los cerdos. En estudios realizados en los Estados Unidos, se calcularon pérdidas superiores a \$385 millones de dólares anuales. En cuanto a las pérdidas solo por la disminución de la conversión alimenticia desde bajos niveles de infecciones con *A. suum* fueron estimadas en \$155 millones en ese país (Stewart TB, 1988). No hay estimación del valor de las pérdidas ocasionadas por la potenciación o exarcebación de otras enfermedades por las larvas migrantes de áscaris (Ortega M, 1998).

La explotación extensiva del cerdo, con todas las variables derivadas de las condiciones edáficas, climáticas y zootécnicas, favorece la presentación de parásitos de ciclo directo (no necesitan hospedador intermediario) al posibilitar la transmisión por la ruta fecal-oral (Euzéby, 1963).

En el caso de la infección por *A. lumbricoides*, ésta es la helmintiasis con mayor prevalencia a nivel mundial, se calcula que alrededor del 25% de la población la padece

y su prevalencia es mayor en áreas tropicales y subtropicales, principalmente en países en vías de desarrollo (Crompton, 1988). Afecta principalmente a los niños y se estima que unos 1,472 millones de habitantes de distintas edades están infectados con *A. lumbricoides* (Lakes, *et al.*, 2005). También se ha asociado a la disminución de la capacidad de aprendizaje (O´Lorcain & Holland, 2000; Crompton, 2001).

La infección por *Ascaris* constituye un problema de salud pública (Otero, 1991). Las tasas de prevalencia varían considerablemente de acuerdo con el estado de saneamiento ambiental, la educación sanitaria de la población, la higiene personal y de los alimentos, el tipo de suelo y el clima entre otros factores. La tasa más alta de infección se encuentra entre los niños, probablemente por sus hábitos de jugar con tierra y no lavar sus manos (Acha, 2003). La ascariosis es endémica en regiones de clima cálido y húmedo así como en regiones templadas y húmedas en las que las condiciones del suelo favorecen el desarrollo de los huevos hasta su fase infectante, permaneciendo viables en este estado (huevo larvado) durante varios años (Martínez, *et al.*, 2000).

Los agentes de la ascariosis humana son los nematodos *A. lumbricoides*, aunque también se ha mencionado la posibilidad de que *A. suum* de los cerdos pueda ocasionarla ya que este último se encuentra en todos los lugares donde se crían porcinos (Acha, 2003).

Tipos de investigación en torno a la ascariosis

Mientras muchos estudios epidemiológicos se han centrado en patrones de infección relacionados con la edad y, en ocasiones, en cambios temporales en la presentación de casos de infección, más recientemente la base de los estudios se ha desplazado hacia patrones espaciales de infección, tanto a pequeña escala, a nivel de población, como a gran escala, es decir, al país entero.

Este tipo de investigación transversal se ha beneficiado considerablemente de metodologías en el análisis de sistemas geográficos, las grandes bases de datos

espaciales que actualmente están disponibles y la facilidad del uso de sistemas de geoposicionamiento manuales (Brooker R y Michael, 2000; Brooker, *et al.*, 2006).

Los índices de vegetación están fuertemente asociados a la información sobre la temperatura y las precipitaciones, capaces de explicar partes o regiones enteras dentro de un país donde la prevalencia de *Ascaris* puede ser muy elevada o inusualmente baja (E. Scott, 2008).

Los avances recientes que implican sistemas de información geográfica y detección remota, proporcionan una enorme oportunidad para supervisar y hacer predicciones a escalas tanto regional como local, de programas implantados para la investigación de la ascariosis (E. Scott, 2008).

Epidemiología molecular

Criscione *et al.*, (2007) examinaron 23 *loci microsatélites* de 129 *Ascaris* colectados de porcinos y humanos en China y Guatemala y de humanos en Nepal. Utilizando los métodos de agrupación bayesiana para detectar patrones de colonización de hospedadores e identificar gusanos híbridos, sus análisis indicaron que el 4% de los gusanos de Guatemala y el 7% de los gusanos de China eran híbridos de *A. suum* y *A. lumbricoides*, dato que en la opinión de los autores significa que la transmisión cruzada entre cerdos y humanos puede acontecer más frecuentemente de lo que se había supuesto anteriormente.

Arizono *et al.*, (2010) mencionan también, que *Ascaris suum* puede infectar a humanos y desarrollarse en ellos hasta el estado adulto, por lo anterior analizaron 9 *Ascaris* de pacientes japoneses y 9 áscaris de cerdos para determinar la secuencia genética del ITS-1, posteriormente restringieron con la enzima *Hae III*.

Seis de los 9 aislados de humanos mostraron el genotipo de áscaris que infecta principalmente en países endémicos, mientras que los otros 3 aislados de humanos y los 9 de cerdo mostraron el genotipo predominante en cerdos en todo el mundo. Con

estos resultados concluyeron que algunos casos de ascariosis humana en Japón son resultado de infecciones por *Ascaris* derivados del cerdo.

Zhou *et al.*, (2012), realizaron un estudio con 20 *loci* *microsatélites* de 258 muestras de humanos y cerdos para detectar si había infección cruzada entre humanos y cerdos en varias localidades de China y agruparon los genotipos encontrados en G1, G2 y G3. De los 20 casos 19 fueron originados por áscaris de cerdos, en tanto que un solo caso en cerdos fue debido a áscaris de humanos. De acuerdo a lo anterior, la convivencia estrecha es un factor de riesgo para la alta frecuencia de ascariosis en ambas especies, por lo que concluyeron que es necesario implementar medidas de prevención y control en humanos y porcinos.

Anderson & T.J.C, menciona que después de hacer la tipificación molecular de parásitos adultos de ascáridos de humanos y cerdos por medio del gen ITS, fue restringido con la enzima *Hae III*, de acuerdo a los resultados obtenidos se ha visto que pueden aparecer infecciones por áscaris entre humanos y cerdos, ya éstos últimos pueden actuar como una fuente importante para la ascariasis humana.

III. JUSTIFICACIÓN

Se estima que en México, la población de porcinos es de \approx 15 millones y el 30% es cría de traspatio (FAO, 2008). En las comunidades rurales, la crianza se hace de manera rústica, los porcinos por lo general deambulan por las calles buscando su alimento; en algunos casos se les brinda alojamiento y se aplican algunas medidas sanitarias ya que estos animales son vistos como cajas de ahorro y se invierte lo mínimo en su manutención (Gutiérrez-Ruiz, *et al.*, 2012). La ascariosis en porcinos es frecuente en condiciones de traspatio y es importante porque son potentes diseminadores de huevos de *A. suum*. En México, no hay reportes recientes de ascariosis en porcinos, el último dato fue de 9.4% en rastro, reportado por Ceja, (1980).

La ascariosis en la población infantil de comunidades rurales sigue prevaleciendo; en México de 1990 a 2010, se reportaron 6'601,590 casos de ascariosis de los que 4'850,612 (64.2%) fueron detectados en pacientes menores de 15 años de edad (Salud, 2011), mientras que en el estado de Guerrero se registraron 141,907 casos de infecciones intestinales, y 13,541 con ascariosis (Epidemiología, 2011).

Debido a que en las comunidades con alto grado de marginación existe una estrecha convivencia de los habitantes con los porcinos y en nuestro país no hay estudios que demuestren la infección cruzada por áscaris, se planteó realizar un estudio para determinar si los humanos se infectan con *A. suum* y los porcinos con *A. lumbricoides*, ya que algunos estudios han reportado que debido a la gran similitud que existe entre estas dos especies puede haber infección cruzada, según lo publicado por Anderson & T.J.C (1995); Nejsun, *et al.*, (2005); Arizono, *et al.*, (2010) y Zhou, *et al.*, (2012).

IV. HIPÓTESIS

En comunidades rurales existe la posibilidad de que los porcinos se infecten con *Ascaris lumbricoides* y los seres humanos con *Ascaris suum*.

V. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar a través de la tipificación molecular de huevos de ascáridos, la posibilidad de que humanos y cerdos se infecten entre sí, por la estrecha convivencia entre ellos.

Objetivos Específicos

- Determinar la estructura poblacional en porcinos de tres comunidades del estado de Guerrero, caracterizada por número, edad, género y distribución espacial.
- Determinar el número de sub-poblaciones de porcinos en semiconfinamiento y su estructura por edad, género y jerarquía (Copado, *et al.*, 2004), en una comunidad rural del estado de Guerrero.
- Determinar la frecuencia de ascariosis humana mediante coproparásitoscopicos, en las comunidades visitadas.
- Determinar la frecuencia de ascariosis porcina mediante coproparásitoscopicos, en las comunidades visitadas.
- Demostrar mediante análisis molecular la especie de *Ascaris* en las muestras de heces obtenidas de humanos y porcinos.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Selección del lugar para llevar a cabo el estudio

Se eligieron tres comunidades del estado de Guerrero, una en la región Norte y dos en la región Costa Chica. Fig. 7

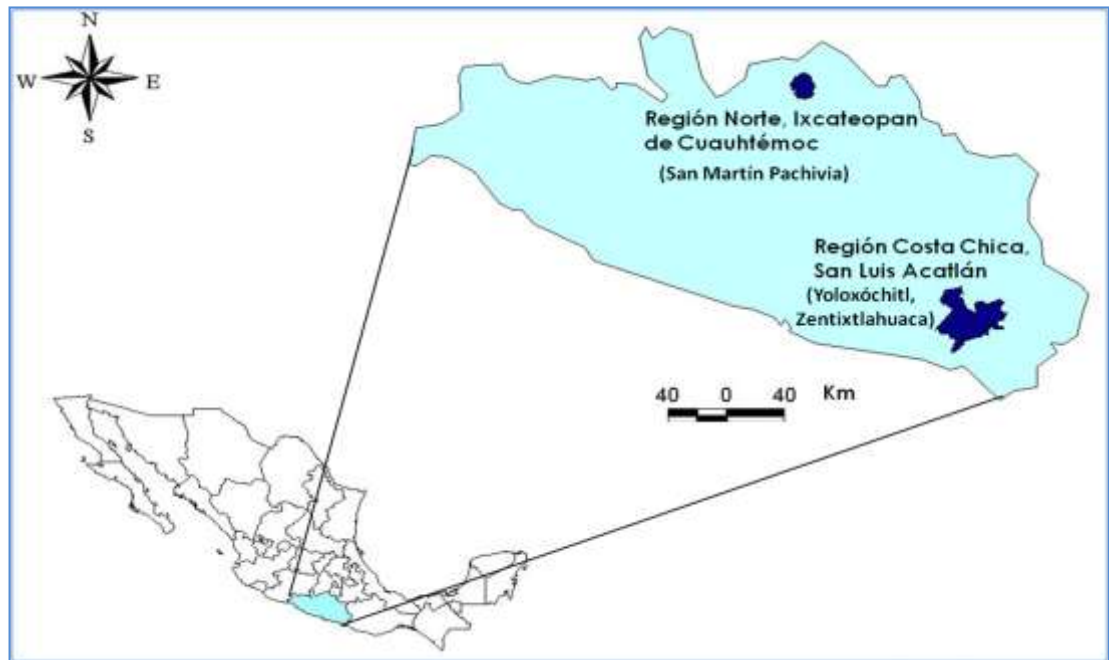


Figura 7. Esquema del mapa de Guerrero, señalando las dos regiones en las que se realizó el estudio. Elaborado con el programa ArcView 3.2

Región Norte

La primera comunidad elegida fue San Martín Pachivia, perteneciente al municipio de Ixcateopan de Cuauhtémoc y se encuentra ubicada en las coordenadas: 99°47'15" longitud y 18°24'32" latitud, a una altura de 1,382 metros sobre el nivel del mar (Nuestro México, 2011).

Tiene una población total de 1,141 habitantes, de los cuales 539 son hombres y 602 son mujeres. El 22.07% de las viviendas no tienen inodoro y el 42.21% no cuentan con agua potable entubada (SEDESOL, 2010). La comunidad cuenta con un jardín de niños, dos escuelas primarias y una escuela secundaria. Existe un Centro de Salud Comunitario y un consultorio médico particular.

Las principales actividades económicas que se llevan a cabo son la agricultura, el comercio y la crianza de ganado (porcino, bovino y caprino) mayormente. También crían gallinas de corral y guajolotes.

Región Costa Chica

La primera comunidad en la que se trabajó fue Yoloxóchitl, municipio de San Luis Acatlán localizada en las coordenadas: 98°41'16" longitud y 16°48'57" latitud, a una altura de 600 metros sobre el nivel del mar (Nuestro México, 2011). La población total es de 3,191 habitantes, de los cuales 1557 son hombres y 1634 son mujeres. El 76.84% de las viviendas no tiene escusado y el 34.73% no cuentan con agua potable entubada) (SEDESOL, 2010).

La segunda comunidad fue Zentixtlahuaca, municipio de San Luis Acatlán ubicada en las coordenadas: 98°42'05" longitud, 16°46'47" latitud, a una altura de 530 metros sobre el nivel del mar (Nuestro México, 2011). La población total es de 231 habitantes, de los cuales 123 son hombres y 108 mujeres. El 76% de las viviendas no tiene escusado y el 42.86% no tiene acceso a agua potable entubada (SEDESOL, 2010).

Identificación y registro de la población porcina

Se llevó a cabo en la comunidad de San Martín Pachivia, donde se levantó un censo de porcinos especificando datos acerca de su edad, género y fenotipo. En Yoloxóchitl y Zentixtlahuaca, solo se registraron los datos de los porcinos de los que se obtuvo la muestra de heces.

Situación epidemiológica de la población porcina y humana

Con el fin de determinar algunas características epidemiológicas de la población porcina y humana, se llevaron a cabo las siguientes actividades:

3.1 Programación de reuniones en colaboración con personal del ayuntamiento en cada municipio, con la finalidad de reunir a la población y darles a conocer el proyecto.

3.2 Información referente al ciclo de vida del parásito, el peligro para la salud humana y las medidas de prevención y control de la ascariosis en humanos y en porcinos.

3.3 Solicitud de muestras de heces a los asistentes a las reuniones informativas y entrega de recipientes para la colecta de muestra individual de los integrantes de cada familia.

3.4 Aplicación de una encuesta epidemiológica para conocer los hábitos de higiene de la población, las condiciones de las viviendas, fechas de desparasitación en caso de que la realicen y las características de los porcinos en caso de tenerlos.

3.5 A los asistentes que tenían porcinos, se les pidió autorización para tomar una muestra de heces de los animales, para la búsqueda de huevos de *Ascaris*.

3.6 Al día siguiente se regresó al punto de reunión acordado con los habitantes y se hizo la recolección de recipientes con la muestra de heces que se conservaron en refrigeración hasta su procesamiento.

Diagnóstico morfológico de huevos de *Ascaris*

Los coproparásitoscopicos (CPS) de concentración-flotación (Faust), se realizaron siguiendo el Manual de Procedimientos del Laboratorio de Parasitología Experimental del Instituto Nacional de Pediatría (Ponce, *et al.*, s.f.) utilizando el siguiente material:

Solución de Sulfato de Zinc al 33% con una densidad de 1.180

Agua destilada

Lugol

Asa de alambre con círculo de 2-3 mm de diámetro

Portaobjetos

Cubreobjetos

Tubos de 13 x 100 ml

Centrífuga clínica

Copropacks

Abatelenguas

Microscopio Olympus Mod. BX41, con los objetivos 10X y 40X

Procedimiento:

4.1 Se hizo una suspensión homogénea en una fanera, con 1-2 g de materia fecal y 10 ml de agua destilada, luego se paso a través de un tamiz y se recolecto la suspensión directo en un tubo y se centrífugo a una velocidad de 1200 rpm durante 1 minuto.

4.2 Transcurrido ese tiempo se decanto el sobrenadante y se resuspendió el sedimento con 10 ml de agua destilada, se homogenizó la suspensión y se procedió a centrifugar a 1200 rpm durante 1 minuto, por dos ocasiones más.

4.3 Al final de la tercera decantación del sobrenadante, se agregaron 3 ml de Sulfato de Zinc al 33% a un tubo nuevo para homogenizar la mezcla, luego se lleno el tubo hasta 1 cm por debajo de los bordes con la solución de Sulfato de Zinc al 33%.

4.4 Se metió el tubo preparado a la centrifuga a una velocidad de 800 rpm durante 1 minuto.

4.5 Al salir de la centrifuga el tubo, se observo un menizco en la parte superior de éste, con una asa limpia y flameada se recogió la capa superficial en 2 ocasiones y se colocó en un portaobjetos al que se agregaron 2 gotas de Lugol y se homogenizó con el ángulo de un cubreobjetos antes de colocarlo sobre la preparación.

4.6 Se llevó el portaobjetos al microscopio y se observó con los objetivos de 10X y 40X para identificar los huevos de áscaris.

Concentración de huevos de *Ascaris* de muestras positivas

Las muestras con huevos de *Ascaris* se procesaron para su concentración mediante la técnica de concentración flotación. Con pipeta Pasteur se obtuvo la parte superficial y se colocó en otro tubo, para eliminar el exceso de sulfato de zinc, los huevos se lavaron con solución salina amortiguada pH 7.2. Se incubaron con formol al 1.5% a temperatura ambiente.

Extracción de ADN de huevos larvados de *Ascaris* mediante el kit

Al concentrado (200 ul) de huevos de cada muestra se le adicionó 1.0 ml de la solución de lisis y cada tubo se sometió a tres ciclos de congelación y descongelación durante 5 minutos; posteriormente se le agregó la proteinasa K (10 ul) y se incubó a 50°C durante toda la noche.

- 6.1 El ADN se extrajo siguiendo el Protocolo del kit ("*Isolation of DNA from Stool for Pathogen Detection*") (QIAGEN, 2007) con algunas modificaciones.
- 6.2 Aproximadamente 200 mg de las heces se colocaron en un tubo de 2 ml, se le adicionó 1.0 ml de Buffer ASL (incluido en el Kit), se agitó durante 1 minuto hasta homogeneizar completamente y se incubó a 95°C/5min.
- 6.3 La muestra se mezcló en vortex durante 15 segundos y se centrifugó a 12,000 rpm/1 minuto. Se obtuvieron 900 *ul* del sobrenadante, se depositaron en un tubo nuevo y se le añadió una tableta InhibitEX (incluida en el Kit), se mezcló en vortex durante 1 minuto. Posteriormente, la suspensión se incubó durante 1 minuto a temperatura ambiente para permitir la absorción de los inhibidores de la taq.
- 6.4 La muestra se centrifugó a 12,000 r.p.m/ 3 minutos y el sobrenadante se colocó en un tubo nuevo de 1.5 ml y se centrifugó a 12,000 rpm durante 3 minutos.
- 6.5 En un tubo nuevo de 1.5 ml se pusieron 15 *ul* de proteinasa K (incluida en el Kit), 400 *ul* del sobrenadante y 400 *ul* de Buffer AL (incluido en el Kit), se mezcló utilizando vortex durante 15 segundos y se incubó durante toda la noche a 50°C.
- 6.6 Al día siguiente, el tubo se centrifugó a 12,000 r.p.m/10 minutos. El sobrenadante se pasó a un tubo nuevo y se le agregaron 400 *ul* de etanol (100%), se mezcló utilizando el vortex durante 1 minuto.
- 6.7 La tapa de la columna (incluida en el kit) se etiquetó y se colocó en un tubo de 2 ml, y se agregó la suspensión. La tapa de la columna dentro del tubo se cerró y se centrifugó a 12,000 r.p.m/4 minutos. La columna se puso en un tubo nuevo, se abrió la tapa y se agregaron 500 *ul* del Buffer AW1 (incluido en el Kit), se cerró la tapa y se centrifugó a 12,000 r.p.m/4 minutos. La columna se puso en otro tubo nuevo y se le agregaron 500 *ul* del Buffer AW2 (incluido en el Kit), se cerró la tapa y se centrifugó a 12,000 r.p.m/4 minutos y la columna se colocó en un tubo nuevo 5.1.19 Se centrifugó a 12,000 r.p.m/1 minuto para eliminar los cambios que el Buffer AW2 pudo ocasionar.
- 6.8 La columna se transfirió a un tubo nuevo y se agregaron 50 *ul* de Buffer AE (incluido en el kit) y se dejó incubar durante 1 minuto a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 minutos para eluir el ADN.
- 6.9 Una vez centrifugado el contenido, se agregaron 25 *ul* de Buffer AE (incluido en el kit) y se centrifugó nuevamente a 12,000 rpm durante 5 minutos.
- 6.10 Se obtuvieron 75 *ul* de ADN, se almacenó a -20°C, hasta su uso.

Extracción de ADN de huevos larvados de *Ascaris* mediante formol-cloroformo

EL ADN de las muestras que se obtuvieron mediante el kit de QIAmp-QIAGEN y que no amplificó, se sometió a una segunda extracción siguiendo la técnica de Fenol-Cloroformo que se realiza en el laboratorio de Parasitología Experimental del Instituto Nacional de Pediatría:

- 7.1 En un tubo de 1.5 mL, se pusieron 400 ul de muestra, 400 ul de fenol y 400 ul de cloroformo, se homogeneizó durante 10 minutos y se centrifugó a 12000 rpm/ 5 minutos,
- 7.2 El sobrenadante (transparente) se depositó en un tubo nuevo y se repitió dos veces el procedimiento de extracción con fenol-cloroformo.
- 7.3 El sobrenadante se puso en un tubo nuevo y se le puso una décima de acetato de sodio 10M y 800 ul de etanol a -20°C. El tubo se incubó durante toda la noche a -20°C.
- 7.4 Al día siguiente, el tubo se centrifugó a 12000rpm/10 minutos. El sobrenadante se eliminó y al precipitado se le agregaron 50 ul de TE (Tris-EDTA) y se almacenó en el congelador a -20°C hasta su amplificación.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se amplificó un segmento de 460 pb del gen ITS (espaciador transcrito interno) de *Ascaris*, con los oligos 22F 5'-GTCTCCGAACGTGCACATAAGTACTATTTGCGC-3' y 484R 5' -TTCATCGATCCACGAACCCGAGTGATCCACCG-3'. (basado en la secuencias con número de acceso: JF837180 y EF153619) :

El volumen final de la mezcla de la reacción contenía: Agua: 34.25 ul; amortiguador (10X): 5.0 ul; MgCl₂ (25 mM): 6.0 ul; DNTPS: 1.0 UL; oligonucleótidos: 0.25/0.25 ul; Taq-gold: 0.25 ul (5U/ uL); ADN: 3.0 ul.

El control positivo fue una muestra de ADN somático de un parásito adulto de *Ascaris suum* y el control negativo fue la mezcla de la reacción sin ADN.

Se estableció el volumen de cada reactivo para realizar la solución madre para la amplificación de ADN de áscaris la cual contenía: Agua: 137 ul; amortiguador (10X): 20 ul; MgCl₂ (25 Mm): 24 ul; DNTPS: 4.0 UL; oligonucleótidos: 1/1 ul; Taq-gold: 1 ul (5U/ uL); ADN: 12 ul.

El programa que se utilizó fue: una etapa de desnaturalización a 95°C/4min, 40 ciclos a 94°C/20s; 56°C/30s; 72°C/1min. Seguido de una extensión final de 72°C/6min, en un termociclador Perkin Elmer (*GeneAmp PCR System 9600*).

Electroforesis

Los productos de la PCR se analizaron en geles de agarosa al 1.5% con 2 ul (10 ug/mL) de bromuro de etidio, en amortiguador de Tris-boratos EDTA (TBE). En cada pozo se pusieron las muestras (8 ul del amplicón y 2 ul de Stop Mix (amortiguador de carga). El marcador de pares de bases (100 pb DNA Ladder, 250 ul): 6 ul (1 ul de Blue/Orange 6X Loading y 5 ul de 100 bp DNA Ladder), se pusieron 2 ul en cada extremo del gel.

El corrimiento electroforético fue a 60 volts, 30 miliamperes y 10 watts, durante 1:30 hrs, con una fuente de poder (*Power Supply Model 1000/500, BioRad*). Los productos amplificados se observaron y registraron con un digitalizador de imágenes (*Epichemi3 Darkroom UVP Biomaging Systems*).

Polimorfismos de los fragmentos de restricción (RFLP's)

Se busco la secuencia de ADN para *A. lumbricoides* y para *A. suum* en la base de datos de *GenBank* de la *International Nucleotide Sequence Database Collaboration* (GenBank, 2013): Figs. 8-9

```

1  cagaaaaaaaa aaagtctccg aacgtgcaca taagtactat ttgcgcgtat acgtgagcca
61  catagtaaat tgcacacaaa tgtggtgatg taatagcagt cggcggtttc ttttttttg
121 gcggacaatt gcatgcgatt tgctatgtgt tgagggagaa taggtggcat gttgggcttg
181 ttagaaaggc atgccgctag cgcttatctt cccgctattt cgtaacaacg gtgtccattt
241 tggcgtctac gttcaccga gctatcgctt ggaccgtcgg tagcgatgaa aggtggagag
301 aaagctcctc gtttcgagtc gagtagactc aatgagcctc agcttggagg ccgccccaac
361 tcaaaaaaca caatcacttt tgaaaatcta ttctaataaa agatgctaaa ttttgtttag
421 tatcttcgaa ttgtaagatg aacaaatctt agcgggtgat cactcggttc gtggatcgat
481 gaagaacgca gctagctgcg ataaatagtg cgaattgcag ac
//

```

Figura 8. Fotografía que muestra la secuencia de 470 pb del gen ITS-1, 5.8S rRNA de *Ascaris lumbricoides*

```

1 aaaaaaaaaa aagtttccga acgtgcacat aagtactatt tgggggtata cgtgagccac
61 atagtaaatt gcacacaaat gtggtgatgt aatagccgtt ggcggttttt tttttttttg
121 gccgacaatt gcatgcgatt tgctatgtgt tgagggagaa taggtggcat gttgggcttg
181 ttagaaaggc atgccgctag cgcttatttt cccgctattt cgtaacaacg gtgtccaatt
241 tggcgtctac gcttcaccga gctatcgect ggaccgtcgg tagcgatgaa aggtggagag
301 aaagctctc gtttcgagtc gagtagactc aatgagcctc agcttggagg ccgccaaaac
361 tcaaaaaaca caatcacttt tgaaaatcta ttctaataa gatagctaaa ttttgtttag
421 tatcttcgaa ttgtaagatg aacaaatctt agcggtggat cactcggttc gtggatcgat
481 gaagaacgca gc

```

Figura 9. Fotografía que muestra la secuencia de 470 pb del gen ITS-1, 5.8S rRNA de *Ascaris suum*

Se utilizó la enzima *Hae III* (10X Buffer M, 1 ml, 10X Loading Buffer 1 ml de Invitrogen) la cual reconoce la secuencia de ADN 5'-GGCC-3', para hacer la diferenciación entre el ADN de *A. lumbricoides* y el de *A. suum*. Para la digestión se estableció el volumen final de la mezcla: Agua: 5.75 ul; amortiguador 10 mg/ml: 2 ul; *Hae III*: 10 U/uL, ADN amplificado: 12 ul. Una vez preparados los tubos con la solución de restricción se dejaron incubar toda la noche a 37°C.

El sitio de corte en la secuencia de *A. lumbricoides* es en 337 y los productos esperados son de 337 y 133 pb mientras que para *A. suum* tiene dos sitios de corte en 109 y 228 y los productos esperados son de 228, 133 y 109 pb. Fig. 10

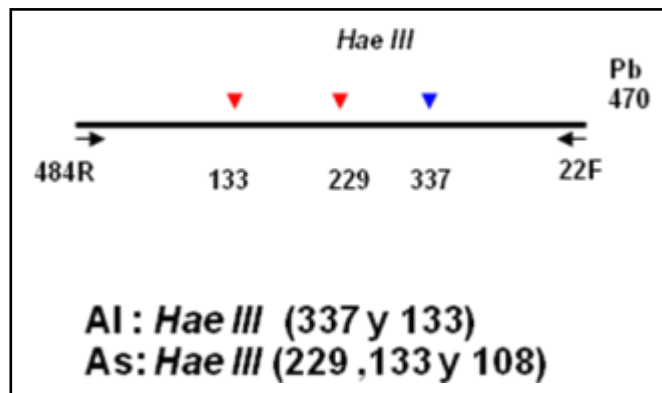


Figura 10. Fotografía que muestra los sitios de corte de *Hae III*, para determinar la especie de *Ascaris*.

Al día siguiente, los productos de la digestión se analizaron en geles de agarosa al 1.5% con 2 ul (10 ug/mL) de bromuro de etidio, en amortiguador de Tris-boratos EDTA (TBE).

En cada pozo se pusieron 8 ul del amplicón y 4 ul de Stop Mix (amortiguador de carga), el marcador de pares de bases (100 pb DNA Ladder, 250 ul): 6 ul (1 ul de Blue/Orange 6X Loading y 5 ul de 100 bp DNA Ladder), se pusieron 2 ul en cada extremo del gel.

El corrimiento electroforético fue a 60 volts, 30 miliamperes y 10 watts, durante 1:30 hrs, con una fuente de poder (*Power Supply Model 1000/500, BioRad*). Los productos de la restricción se observaron y registraron con un digitalizador de imágenes (*Epichemi3 Darkroom UVP Biomaging Systems*).

Análisis de la información

Se llevó a cabo mediante estadísticas descriptivas para la determinación de frecuencias en las características de la población humana y porcina de acuerdo a su edad así como la positividad a ascariosis.

Para determinar las diferencias entre la frecuencia de ascariosis humana de las tres comunidades, se utilizó una prueba de Ji cuadrada de homogeneidad. Para establecer la relación entre la tenencia de cerdos y la positividad a ascariosis humana se utilizó una prueba de Ji cuadrada de independencia. De igual forma se utilizó esta prueba para determinar la relación entre la frecuencia de ascariosis humana y las condiciones de las comunidades (obtención de agua potable y tipo de baño utilizado).

Los datos se recopilaron en una base de datos en una hoja de cálculo de Excel, versión 2010 y las pruebas estadísticas se realizaron con el programa SPSS versión 16, 2007.

VII. RESULTADOS

Región Norte del estado de Guerrero, San Martín Pachivia

Identificación y registro de la población porcina: Se registraron 137 porcinos de traspatio. La mayoría deambula, la mayor parte del día, por la comunidad, el resto permanecía en alojamientos improvisados por sus dueños. Del total de cerdos registrados en la comunidad, el 2.23% de los animales consumían concentrado, mientras que el 96.26% se alimentaba de maíz, tortilla, suero de leche y escamocha.

Determinación de la frecuencia de ascariosis porcina: Se encontraron aproximadamente 24 grupos de porcinos de traspatio, formados por un promedio de 5.7 animales. En un primer muestreo se recolectaron 90 muestras de los porcinos de la comunidad y 28 tuvieron huevos de *Ascaris sp.* Posteriormente se seleccionaron otros dos grupos, con un total de 31 animales (lechones, menores de seis meses, machos y hembras) y la frecuencia de ascariosis fue del 38.7%. Algunos de los porcinos se observaron con pobre condición corporal. Fig. 11-12, Cuadro 1



Figura 11. Fotografía que muestra porcinos (primer grupo) con pobre y mediana condición corporal, San Martín Pachivia, Guerrero. México, 2011.



Figura 12. Fotografía donde se observan algunos integrantes del segundo grupo de cerdos en convivencia con otros animales. San Martín Pachivía, Guerrero, México, 2011.

Cuadro 1. Frecuencia de ascariasis porcina en San Martín Pachivía

| Porcinos | Población | Positivos a Ascariosis | Porcentaje % |
|-------------------------|------------------|-------------------------------|---------------------|
| Primer muestro | 90 | 28 | 31.2 |
| Segundo muestreo | 31 | 12 | 38.7 |
| Total | 121 | 40 | 33.05 |

Observación y seguimiento de los porcinos: las principales conductas durante la mañana y medio día eran:

- Recorridos alrededor de la zona de descanso en busca de comida y agua
- Amamantamiento de sus lechones
- Peleas leves entre los cerdos del grupo y cerdos ajenos a este
- Descanso y dormir

Durante las primeras horas de la mañana, los cerdos se dedicaban a consumir los alimentos que les llevan sus dueños hasta el lugar de reposo, posteriormente las madres amamantaban a los lechones y otras iniciaban su recorrido por los alrededores en busca

de otros alimentos y agua, ocasionalmente se detenían para orinar, defecar y amamantar nuevamente.

Cerca de los lugares de descanso de la comunidad, se encuentran los sitios en donde las personas tiran sus desechos y se encuentran los desagües de aguas negras. Los porcinos buscaban más alimento entre éstos, consumían heces humanas y en ocasiones había cadáveres (perros) y también los consumían. Figs. 13-14



Figura 13. Fotografía donde se observan porcinos en busca de alimento, en el basurero de San Martín Pachivia, Guerrero, México 2012.



Figura 14. Fotografía que muestra la salida del “drenaje” de una casa habitación hacia la calle. San Martín Pachivia, Guerrero, México, 2010.

Frecuencia de ascariosis humana.

Se obtuvieron 229 muestras de heces y el 2.18% tuvo huevos de *Ascaris* sp. Fig 15

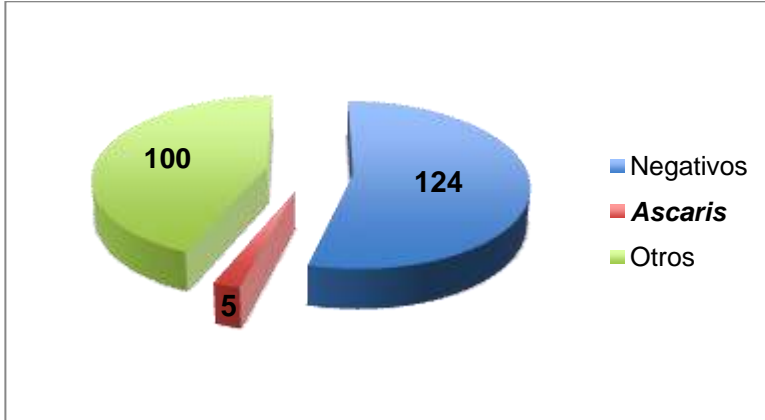


Figura 15. Gráfica en la que se muestra la frecuencia de ascariasis en la población humana de San Martín Pachivía.

Región Costa Chica

Identificación de la población porcina: La alimentación de los porcinos era a base de maíz, tortilla, suero de leche y solo los animales con fenotipos de razas definidas (*Yorkshire*, *Duroc*) eran alimentados con concentrado. La mayoría de los porcinos muestreados eran criollos y de traspatio, solo unos cuantos fueron mejorados. La mayor parte del día estaban en libertad y solo algunos están confinados en corrales improvisados, los propietarios no les aplican medidas sanitarias de vacunación o desparasitación, solo en cerdos mejorados se aplican desparasitantes en forma esporádica. Figs. 16-17 La frecuencia de ascariosis se muestra en el Cuadro 2



Figura 16. Fotografía donde se observan porcinos deambulando por un depósito de desechos. Yoloxóchitl, Guerrero, México, 2012. Foto tomada por MVZ Arturo López R.



Figura 17. Fotografía que muestra varios porcinos reposando en la parte trasera de una vivienda. Yoloxóchitl, Guerrero, México, 2012. Foto tomada por MVZ Arturo López R.

Cuadro 2. Frecuencia de ascariosis porcina en las regiones analizadas de la Costa chica

| Región | Población | N/infectados (%) |
|----------------|------------|-----------------------|
| Yoloxóchitl | 512 | 50/33 (66) |
| Zentixtlahuaca | 33 | 28/16 (57.16) |
| Total | 545 | 78/749 (62.82) |

Determinación de la frecuencia de ascariosis humana en dos comunidades:

En Yoloxóchitl se recolectaron 343 muestras, en 157 (45.77%) se encontraron huevos de *Ascaris* y en 38 (11.07%) se observaron otros parásitos. Fig. 18

En Zentixtlahuaca se obtuvieron 121 muestras, 17 (14.04%) tuvieron huevos de *Ascaris* y 33 (27,27%) restantes, otros parásitos. Fig. 19

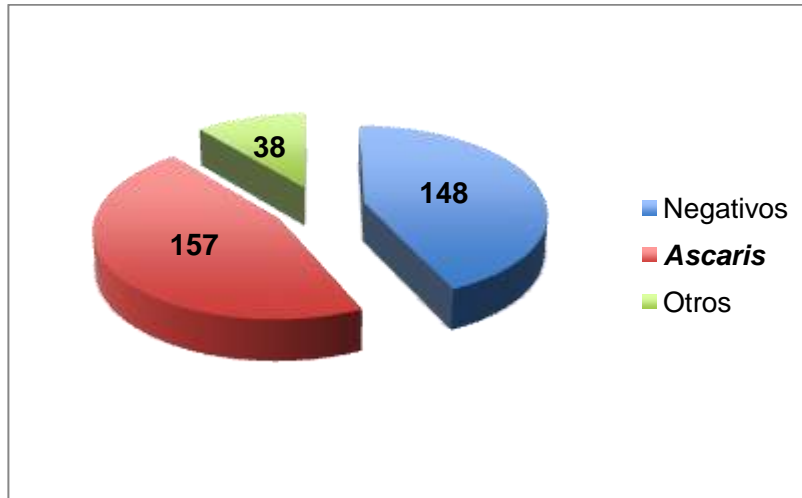


Figura 18. Gráfica que muestra la frecuencia de *Ascaris* en humanos en Yoloxóchitl

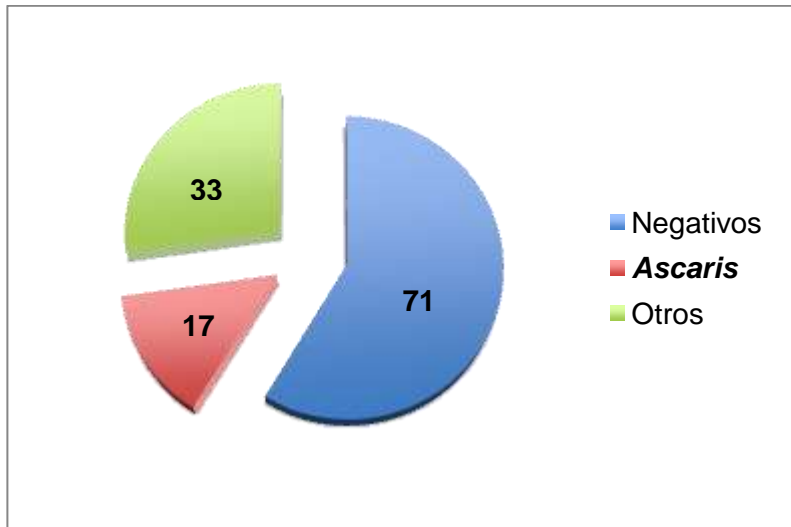


Figura 19. Gráfica que muestra la frecuencia de *Ascaris* en humanos en Zentixtlahuaca

Frecuencia de ascariosis porcina

La frecuencia de ascariasis en porcinos de las tres comunidades fue del 44.2%. La comunidad con menor frecuencia fue San Martín Pachivia. Cuadro 3

Cuadro 3. Frecuencia de ascariasis en porcinos de tres comunidades.

| Localidad | N | Positivos (%) |
|----------------|------------|------------------|
| Pachivia | 121 | 40 (33.05) |
| Yoloxóchitl | 50 | 33 (66.0) |
| Zentixtlahuaca | 28 | 15 (57.16) |
| Total | 199 | 88 (44.2) |

Frecuencia de ascariosis humana en las tres comunidades estudiadas

La frecuencia de ascariasis en humanos de las tres comunidades fue del 25,82%. Cuadro 4. Con la prueba de Ji cuadrada de homogeneidad, con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$, se encontraron diferencias significativas entre las tres comunidades ($P < 0.0000$).

Cuadro 4. Ascariosis humana en tres localidades del estado de Guerrero

| Localidad | N | Ascariosis | | Frecuencia % |
|----------------|------------|------------|------------|--------------|
| | | Positivos | Negativos | |
| Pachivia | 229 | 5 | 224 | 2.18 |
| Yoloxóchitl | 343 | 157 | 185 | 45.77 |
| Zentixtlahuaca | 121 | 17 | 104 | 14.04 |
| Total | 693 | 179 | 514 | 25.82 |

Comparación entre las frecuencias de ascariosis en niños y adultos

En la población infantil se encontró una mayor frecuencia de ascariasis (30.21%). Cuadro 5. El análisis estadístico (Ji cuadrada de homogeneidad, $\alpha=0.05$) evidenció una diferencia significativa ($P<0.014$).

Cuadro 5. Frecuencia de ascariosis en niños y adultos de las comunidades estudiadas en Guerrero

| Grupos de edad | Ascariosis | | Total | Frecuencia % |
|----------------|------------|------------|------------|---------------|
| | Positivos | Negativos | | |
| Niños | 97 | 224 | 321 | 30,21 |
| Adultos | 82 | 290 | 372 | 22,04 |
| Total | 179 | 514 | 693 | 25,82% |

Relación entre ascariosis en humanos y la tenencia de porcinos

La relación entre la frecuencia de ascariosis en humanos y la tenencia de porcinos se muestra en el Cuadro 6. Hubo relación entre ascariosis humana y la tenencia de porcinos (Ji cuadrada de independencia, con un nivel de significancia de 0.05), $P<0.0000$.

Cuadro 6. Casos de ascariosis humana relacionados con la presencia de porcinos

| Tenencia de cerdos | Ascariosis | | Total |
|--------------------|------------|------------|------------|
| | Positivos | Negativos | |
| Sí | 124 | 200 | 324 |
| No | 55 | 314 | 369 |
| Total | 179 | 514 | 693 |

Relación entre la positividad a ascariosis humana y la forma de obtención de agua para consumo.

En las comunidades estudiadas, se observó que existe una carencia de servicios públicos adecuados, entre ellos la falta de agua potable. La mayoría obtiene el agua de pozos. No hubo diferencias significativas entre las formas de la obtención del agua de beber y la frecuencia de ascariosis (Ji cuadrada de independencia, con un nivel de significancia de 0.05) $P= 0.096$. Cuadro 7

Cuadro 7. Relación entre la forma de obtención de agua potable y la ascariosis en humanos

| Obtención de agua | Casos de ascariosis humana | | Total |
|---------------------|----------------------------|------------|------------|
| | Positivo | Negativo | |
| Red de agua pública | 35 | 27 | 62 |
| Pozo | 64 | 82 | 146 |
| Total | 99 | 109 | 208 |

Relación entre la ascariosis en humanos y el tipo de baño utilizado

En las comunidades visitadas se observó que la mayoría de los habitantes no cuentan con instalaciones sanitarias adecuadas y aún se sigue llevando a cabo la defecación al aire libre, lo que se consideró también como un factor predisponente para la frecuencia de

ascariosis en humanos. De acuerdo a los resultados obtenidos no hubo diferencias significativas entre el tipo de baño utilizado y la frecuencia de ascariosis (Ji cuadrada de independencia, con un nivel de significancia de 0.05) P= 0.0154. Cuadro 8

Cuadro 8. Relación entre el tipo de baño y la ascariosis humana

| Tipo de baño | Casos de ascariosis humana | | Total |
|--------------|----------------------------|------------|------------|
| | Positivo | Negativo | |
| Sanitario | 27 | 45 | 72 |
| Letrina | 80 | 112 | 192 |
| Aire libre | 7 | 23 | 30 |
| Total | 114 | 180 | 294 |

Observación de otros parásitos: Como se mencionó anteriormente, además de huevos de ascaris, se hallaron en su mayoría protozoarios como *Blastocystis hominis* y *Giardia lamblia*, huevos de nematodos como *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* y un caso de uncinaria (solo se observó el huevo pero no se hizo la identificación de *Necator americanus* o *Ancylostoma duodenale*), huevos de céstodos como *Taenia sp.* e *Hymenolepis nana*. Figs. 20, 21 Cuadro 9

Cuadro 9. Hallazgos de diferentes parásitos intestinales encontrados en los análisis coproparásitoscopicos (CPS)

| Huevos y quistes de otros parásitos | San Martín Pachivia n= 229 Positivos (%) | Zentixtlahuaca n= 121 Positivos (%) | Yoloxóchitl n=343 Positivos (%) |
|-------------------------------------|--|---|---------------------------------------|
| <i>Giardia lamblia</i> | 2 (0.87) | 3 (2.48) | 5 (1.46) |
| <i>Enterobius vermicularis</i> | - | 1 (0.83) | - |
| <i>Hymenolepis nana</i> | - | 4 (3.31) | 3 (0.87) |
| <i>Trichuris trichura</i> | - | - | 2 (0.58) |
| <i>Taenia sp*</i> | - | - | 2 (0.58) |

* Se obtuvo el parásito adulto y se hizo la identificación de *Taenia solium*, por la observación del escólex, su corona de ganchos y por el conteo de ramas uterinas.



Figura 20. Fotografía en la que se observa un huevo de *Taenia* sp. de una muestra de humano, técnica directa, 40X



Figura 21. Fotografía en la que se observa un huevo de *Hymenolepis nana*, Técnica de concentración-flotación, 40X

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se amplificó el segmento de ≈ 470 pb del gen ITS de *Ascaris* de 43 muestras. *A. suum* (As) y *A. lumbricoides* (Al). De las que, 16 fueron obtenidas de porcinos y 27 de humanos.

Fig. 22

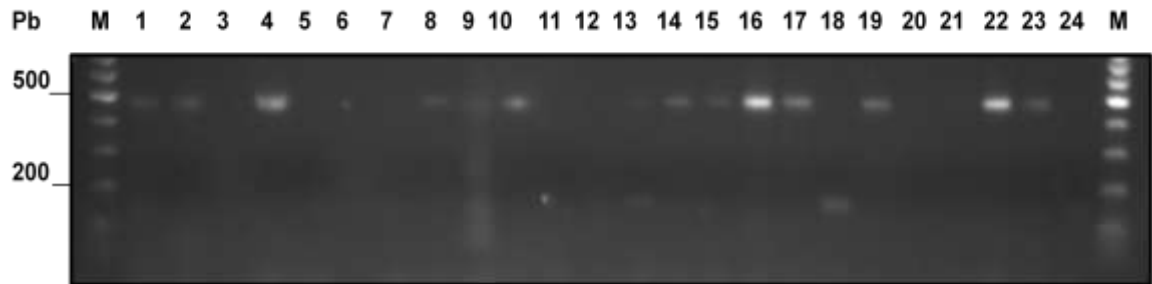


Figura 22. Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, que muestra la amplificación de un segmento de ≈ 470 pb del gen ITS de *Ascaris*. Pb: pares de bases; M: marcador de pares de bases (escalera de 100pb); Carriles 1 y 2: Controles positivos

Carriles: 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 23 corresponden a muestras obtenidas de porcinos.

Carriles: 7, 12, 14, 16, 19 corresponden a muestras obtenidas de humanos.

Amplificación de ADN de huevos de *A. lumbricoides* Fig. 23

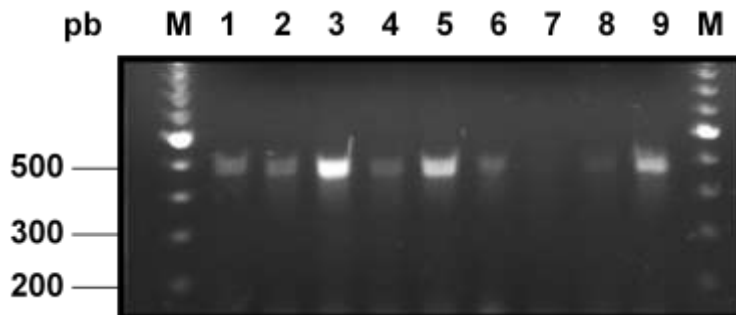


Figura 23. Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, que muestra la amplificación de un segmento de ≈ 470 pb del gen ITS de *Ascaris lumbricoides*

Pb: pares de bases; M: marcador de pares de bases (escalera de 100pb); Carriles 1 y 2: Controles positivos

Carriles: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 corresponden a muestras obtenidas de humanos.

Polimorfismos de los fragmentos de restricción

El producto de 470 pb de la PCR, del ITS de *Ascaris* se restringió con la enzima *Hae III* y se generaron bandas características de *A. lumbricoides* (337 y 133) y de *A. suum* (229, 133 y 105).

Gel 1

Carril 1: muestra obtenida de humanos, bandas de 133, 229, 337 (Al + As); carril 2: muestra obtenida de humanos, bandas de 133, 337 (Al); carril 3: muestra obtenida de humanos, bandas de 133, 229, 337 (Al + As); carril 4, 6-9: muestra obtenida de humanos, bandas de 133, 227 (Al); carril 5: muestra obtenida de porcino, bandas de 133, 337 (Al).

Fig. 24

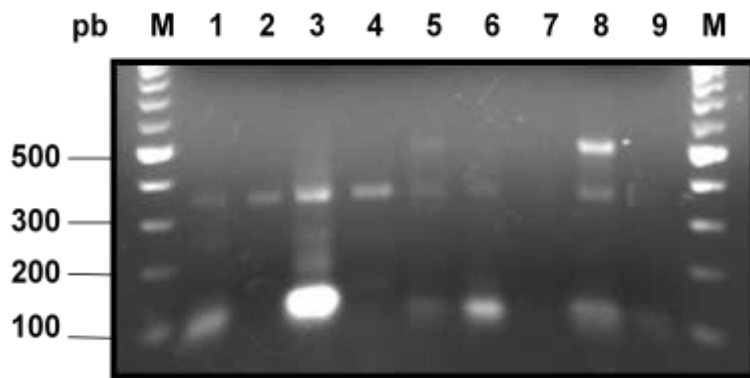


Figura 24. Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, que muestra la restricción de un segmento de ≈ 470 pb del gen ITS de *Ascaris* con *Hae III*.

Pb: pares de bases; M: marcador de pares de bases (escalera de 100pb)

Gel 2

Carril 1: Control positivo, carril 2: muestra obtenida de humanos, bandas de 133, 337 (Al); carril 3: muestra obtenida de porcinos, bandas de 337 (Al); carril 4: muestra obtenida de humanos, bandas de 337 (Al); carril 5: muestra obtenida de porcino, bandas de 337 (Al).

Fig. 25

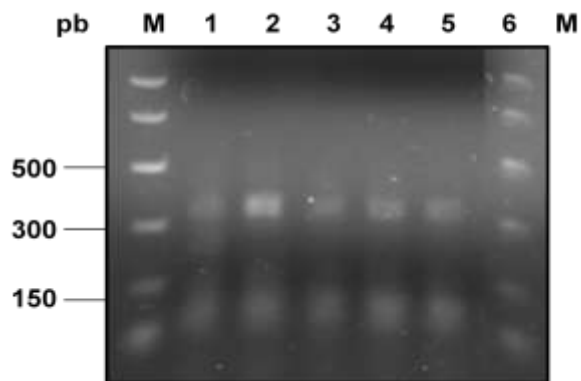


Figura 25. Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, que muestra la restricción de un segmento de ≈ 470 pb del gen ITS de *Ascaris lumbricoides* con *Hae III*.
Pb: pares de bases; M: marcador de pares de bases

Gel 3

Carril 1: muestra obtenida de porcinos, bandas de 337, 133 (Al + As); carril 2: muestra obtenida de porcinos, no restringió; carril 3: muestra obtenida de porcino, bandas de 337, 229 y 133 (Al + As). **Fig. 26**

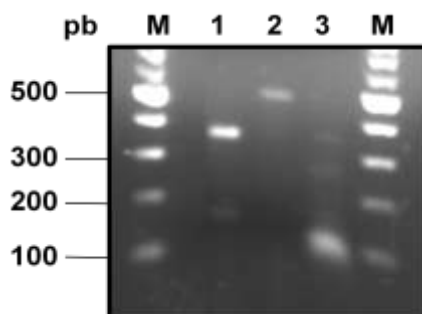


Figura 26. Fotografía de un gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, que muestra la restricción de un segmento de ≈ 470 pb del gen ITS de *Ascaris* con *Hae III*.
Pb: pares de bases; M: marcador de pares de bases (escala de 100pb)

Finalmente, se obtuvo el patrón electroforético de 21 muestras de *Ascaris* obtenidas de humanos, la mayoría tuvieron el patrón característico de *A. lumbricoides* excepto 7 muestras que mostraron el patrón de *A. lumbricoides* y de *A. suum*. En las muestras de porcinos, ninguna mostró el patrón característico de *A. suum*. En cambio, 5 muestras

mostraron el patrón característico de *A. lumbricoides* y las 2 restantes, mostraron una combinación entre el patrón de *A. suum* con *A. lumbricoides*. Cuadro 10

Cuadro 10. Polimorfismos de las muestras analizadas.

| Muestras | Amplificaron | PCR RFLP <i>A. suum</i> | PCR-RFLP <i>A. lumbricoides</i> | PCR-RFLP <i>A. lumbricoides/A. suum</i> |
|-----------------|---------------------|------------------------------------|--|--|
| Humanos | 21 | - | 14 | 7 |
| Porcinos | 7 | - | 5 | 2 |

VIII. DISCUSIÓN

En porcinos se encontró alta frecuencia (44.2%) de ascariasis, probablemente debida a que los propietarios mantienen a los porcinos de manera ordinaria, con poca inversión en su manutención, sin medidas de prevención, ni control de enfermedades. Se pudo observar que algunos animales infectados presentaron pobre o mediana condición corporal (Fig. 10). Se ha documentado que la ascariosis interfiere con el estado de salud y apariencia de los porcinos (Forsum *et al.*, 1981; Stewart y Hale 1988). En comunidades rurales la crianza de los porcinos constituye una especie de “caja de ahorro” para el propietario, por lo que solamente invierte en lo indispensable para su manutención hasta el sacrificio (Gutiérrez-Ruiz *et al.*, 2012).

A nivel mundial la frecuencia de ascariasis en porcinos va del 20-70 % (Ortega M, 1998), mientras que en México se reportó una frecuencia del 9.6% en rastros (Ceja, 1981). En este trabajo se encontró una frecuencia mayor (44.2%).

Se ha registrado en África, Asia, Centro y Sudamérica una prevalencia del 80% de ascariosis en humanos (Hotez, 2000).

En este trabajo se encontró una frecuencia del 25.82% de ascariosis en humanos (Tabla 4). La baja frecuencia registrada en San Martín Pachivia, probablemente se debió a que esta comunidad cuenta con calles pavimentadas y letrinas adecuadas. Además tienen tratamientos antihelmínticos periódicos. La comunidad con mayor frecuencia de ascariasis fue Yoloxóchitl (45.77%), probablemente se debió a que esta comunidad carece de servicios públicos, como pavimento y agua potable, y predomina el piso de tierra en las habitaciones y la defecación al aire libre. Es importante mencionar que a esta comunidad también se les proporciona el tratamiento antihelmíntico periódico. La alta frecuencia indicaría que en la comunidad los habitantes no está tomando el tratamiento por lo que se reinfectan por las condiciones ambientales o pueden estar generando resistencia a los antihelmínticos.

Hall & Holland, (2000) señalan que el tratamiento masivo de las parasitosis de forma periódica, es simple, de bajo costo y resulta eficaz, especialmente cuando va dirigido a grupos en edad escolar y adultos. Sin embargo, no analizan la posibilidad de generar cepas resistentes con tratamientos masivos.

En tres comunidades de Chiapas se encontró del 8.9% al 53.2% de ascariosis en niños menores de 5 años (Gutierrez-Jimenez *et al.*, 2013). En nuestro caso, como era de esperarse la mayor frecuencia de ascariasis fue en la población infantil (Tabla 5); pero fue importante encontrar que el 22.04% de adultos tuvo esta parasitosis. Llama la atención porque la ascariosis es un geohelminto que fundamentalmente se adquiere por geofagia (Acha, 2003).

En este trabajo fue importante encontrar una evidencia significativa ($P < 0.05$) entre las personas con ascariasis y la tenencia de porcinos. En estas comunidades se observó una estrecha convivencia entre los habitantes y sus porcinos; regularmente, éstos deambulan en varios grupos por la comunidad, consumen desechos, basura, y materia fecal de porcinos, otros mamíferos y de humanos. Debido a que los porcinos defecan en las calles, éstos son potentes diseminadores de la ascariosis. Además, las condiciones ambientales también favorecen su infección con huevos larvados de *Ascaris*. Esto puede considerarse como un factor de riesgo para la alta frecuencia de ascariosis, tanto en humanos como en porcinos (Cuadro 6) Fig. 15-16.

Debido a la estrecha convivencia entre porcinos y los habitantes de comunidades rurales, y a que la morfología de *A. suum* y *A. lumbricoides* (huevos y adultos) es semejante, se ha sugerido la infección cruzada, es decir que los porcinos se pueden infectar con *A. lumbricoides* y los seres humanos con *A. suum*, con datos publicados por Anderson & T.J.C., (1995); Nejsun, *et al.* (2005), Arizono, *et al.* (2010) y Zhou, *et al.* (2012). A través del uso de técnicas moleculares (amplificando un segmento del gen ITS de *Ascaris*, polimorfismos de los fragmentos de restricción y secuenciación).

Nejsun, *et al.*, (2005) utilizaron la amplificación de fragmentos polimórficos (AFLP) y el análisis de polimorfismos de fragmentos de restricción (PCR-RFLP), del ITS del ADN obtenido de ascáridos, para identificar a pacientes humanos con infecciones por ascariosis en Dinamarca, de acuerdo a los resultados que obtuvieron concluyeron que la infección había sido adquirida a partir del *Ascaris* del cerdo.

Por otro lado, Leles, D. *et al.*, (2009) probaron un método de extracción de ADN a partir de 1, 5, 10, 30, 50 y 80 huevos de *Ascaris*, para luego realizar una PCR utilizando el gen *cytb* y el ITS-1 como blancos moleculares. El método fue sensible para detectar *Ascaris*

sp. de un huevo aislado o cuatro huevos en una muestra fecal. Finalmente, el análisis de la secuencia ITS-1 reveló los genotipos: G1, el más prevalente en el ser humano y un el G6, nuevo genotipo en muestras de Brasil.

En este trabajo, se diseñaron oligos para la amplificación de un segmento de 470 pb del gen ITS de *Ascaris*. Posteriormente se amplificó el segmento de 470 pb del DNA del ITS, directamente de los huevos de *Ascaris* obtenidos de porcinos y humanos (Fig. 23).

Fue importante demostrar, mediante los RFLP's (*Hae III*) que las muestras procedentes de porcinos presentaron un patrón electroforético (337 y 133 pb) característico de *Ascaris lumbricoides* (Fig. 25, Carriles: 3 y 5). Por otro lado, las muestras de huevos de *Ascaris* procedentes de humanos presentaron bandas características de *A. lumbricoides* (Fig. 23, Carriles: 2,3,4,5,6,7,8,9), también hubo muestras con bandas características de *A. suum* y *A. lumbricoides* (bandas de 229, 133 y 108 pb para *A. suum* y bandas de 337 y 133 pb para *A. lumbricoides*) (Fig. 26, Carriles: 1 y 3)

Aunque el tamaño de muestra para la tipificación molecular fue pequeño, este trabajo es pionero en la detección de infección cruzada por *Ascaris* utilizando ADN obtenido de huevos, se demostró que los porcinos se pueden infectar con huevos de *A. lumbricoides* y los seres humanos con *A. suum*. También se demostró que puede haber infección mixta. Es necesario hacer más estudios con un tamaño de muestra mayor.

Por otro lado, en las comunidades estudiadas es necesario implantar estrategias para el control de la ascariasis por medio de educación para la salud, para modificar las conductas de los habitantes, ya que esta parasitosis se trasmite mediante la ingestión de tierra y está muy asociada a condiciones de pobreza.

En estudios como el de Sanzón *et al.*, (1999) señalan que una buena estrategia antiparasitaria debe basarse en la educación, tratamiento farmacológico y construcción y uso letrinas, con ello, se logró disminuir el número de casos de pacientes con *Ascaris lumbricoides*. Aunque la educación para la salud es determinante para controlar cualquier enfermedad, la modificación de los hábitos de higiene de los habitantes contribuye a obtener mejores resultados. En el caso de la ascariosis humana, Chun-Hai Fung y

Cairncross, (2009) hicieron una revisión de varios artículos en los que se relacionaba el lavado de manos con o sin jabón con la disminución de la parasitosis en localidades afectadas, concluyeron que esta práctica es una medida efectiva para disminuir la presencia de ascariasis en una población.

Una dificultad para su aplicación en las comunidades visitadas del estado de Guerrero, es que en ocasiones el acceso a agua limpia para el lavado de manos es difícil por la poca disponibilidad de los servicios públicos en el lugar SEDESOL, (2010).

Para el caso de los cerdos, se recomienda aplicar algunas medidas sanitarias como la administración de desparasitantes, mantener el área de los animales limpia así como el agua que beben, mantenerlos confinados y evitar el consumo de heces humanas, ya que como lo mencionan Linares *et al.*, (2011) a pesar de que la producción de cerdos en el medio rural es numerosa, no hay una visión gubernamental para capacitar y ayudar a mejorar las condiciones de producción, por lo que es importante que los propietarios reciban asesoría profesional sobre todo del sector oficial, ya que muchas veces es difícil para los dueños pagar por servicios veterinarios privados.

IX. CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos:

- 1) Se demostró que los porcinos se pueden infectar con *A. lumbricoides*.
- 2) Se demostró que los seres humanos se pueden infectar con *A. suum*.
- 3) Se pudo caracterizar molecularmente a las muestras procedentes de huevos de *Ascaris*.
- 4) La tenencia de porcinos tuvo significancia con la frecuencia de ascariasis en humanos.
- 5) Se observó una diferencia entre la frecuencia de ascariasis humana entre las comunidades de las dos regiones estudiadas del estado de Guerrero.
- 6) Se encontró una frecuencia alta de ascariasis en adultos en la Costa Chica de Guerrero.
- 7) A pesar de que los habitantes de las comunidades con alta frecuencia de ascariasis, reciben tratamiento antihelmíntico, la parasitosis persiste.
- 8) Se recomienda instruir a los propietarios de los porcinos, para mejorar las prácticas de manejo en cuanto al alojamiento, limpieza de sus instalaciones cuando existan y aplicar medidas sanitarias como la desparasitación periódica, ya que hay que considerar el papel del porcino en el ciclo de infección ya que hemos visto que puede actuar como medio de transporte para los huevos de *Ascaris* dentro de la casa de su propietario y también por los alrededores de la comunidad.

X. REFERENCIAS

1. Acha, P., 2003. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales*. 3a ed. s.l.:Organización Panamericana de la Salud.
2. Anderson & T.J.C., 1995. *Ascaris* infections in humans from North America: molecular evidence for cross-infection. *Parasitology*, Issue 110, pp. 215-219.
3. Arizono, N.; Yoshimura, Y.; Tohzaka, N.; Yamada, M.; Tegoshi, T.; Onishi, K.; Uchikowa, R.; Ascariasis in Japan: Is Pig-Derived *Ascaris* Infecting Humans?. *Japan Journal Infections Diseases*, Issue 63, pp. 447-448.
4. Beaver, PC., Snyder, CH., Carrera, GM., Dent, JH., Lafferty, JW., 1952. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. Report of three cases. *Pediatrics*, Volumen 9, pp. 7-19.
5. Borchert, A., 1981. *Parasitología Veterinaria*. 3a ed. España: Acribia Zaragoza.
6. Bowman, D. D., 2011. *Georgis Parasitología para veterinarios*. 9a ed. España: Elsevier.
7. Brooker R, S. & Michael, E., 2000. The potencial of geographical information systems and remote sensing in the epidemiology and control of human helminth infections. *Advances in Parasitology*, Issue 47, pp. 245-288.
8. Brooker, S., Clements, A. & Bundy, D., 2006. Global epidemiology, ecology and control of soil-transmitted helminth infecciones. *Advances in Parasitology*, Issue 62, pp. 221-261.
9. Ceja, B., 1981. *Frecuencia de A. suum y pérdidas económicas que representa en cerdos del Valle de Mexicali*. Mexicali, Baja California: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Pags. 1-30.
10. Chun-Hai, Fung Issac, Cairncroos Sandy, 2009, Ascariasis and handwashing *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Volume 103, Issue 3, Pages 215-222.

11. Copado, F., Aluja, S., Mayagoitia, L. & Galindo, F., 2004. The behaviour of free ranging pigs in the Mexican tropics and its relationships with human faeces consumption. *Applied Animal Behaviour Science*, 88(3-4), pp. 243-252.
12. Criscione, C., Anderson, J. & Sudimack, D., 2007. Disentangling hybridation and host colonization in parasitic roundworms of humans and pigs. *Proc Biol Sci*, Issue 274, pp. 2669-2677.
13. Crompton, D., 1988. The prevalence of ascariosis. *Parasitology*, Volumen 4, pp. 162-168.
14. Crompton, D., 2001. *Ascaris* and ascariosis. *Advances in Parasitology*, Volumen 48, pp. 285-375.
15. E., Scott. M., 2008. *Ascaris lumbricoides*: Una revisión de su epidemiología y su relación con otras infecciones. *Annales Nestlé*, Issue 66, pp. 7-22.
16. Euzeby, J., 1963. *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine*. París: Vigot Frères.
17. Facultad de Medicina, U., 2011. *Depto de Microbiología y Parasitología - Recursos en Parasitología*. [Online] Available at: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/ascariosis.html> [Accessed 24 Junio 2014].
18. FAO, O. r. d. I. F. p. A. L. y. e. C., 2008. *Peste Porcina Clásica*. [En línea] Available at: <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/ppc/mexico.htm> [Último acceso: 10 Diciembre 2012].
19. Forsum, E., Nesheim, M. & Crompton, D., 1981. Nutritional aspects of *Ascaris* infection in young protein-deficient pigs. *Parasitology*, Volumen 83, pp. 497-512.
20. Frontera, E. M., Alcaide, M. & Reina, D., 2006. *3tres3.com la página del cerdo*. [Online] Available at: http://www.3tres3.com/atlas_parasitologia/5-ascariosis_1432/ [Accessed 23 Junio 2014].

21. GenBank, 2013. *National Center for Biotechnology Information*. [Online] Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> [Accessed 20 Septiembre 2013].
22. Gutierrez-Jimenez, J., Torres-Sanchez, M.G.C., Fajardo-Martínez, L.; Schlie-Guzmán, M.; Luna-Cazares, L.; Gonzalez-Esquinca, A.; Guerrero-Fuentes, S.; Vidal, J., 2013. Malnutrition and the presence of intestinal parasites in children from the poorest municipalities of Mexico. *J Infect Dev Ctries*, 7(10), pp. 741-747.
23. Gutiérrez-Ruiz, E.J., Aranda-Cicerol, F.J., Rodríguez-Vivas, R.F., Bolio-Gonzalez, M.E., Ramírez-Gonzalez, S., Estrella-Tec J., 2012. Factores sociales de la crianza de animales de traspatio en Yucatán, México. *Bioagrociencias*, Enero-Junio, 5(1), pp. 20-28.
24. Hall, A. & Holland, C., 2000. Geographical Variation in *Ascaris lumbricoides* Fecundity and its Implications for Helminth Control. *Parasitology Today*, 16(12), pp. 540-544.
25. Hotez, P., 2000. Pediatric Geohelminth Infections: Trichuriasis, Ascariasis, and Hookworm Infections. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, Octubre, 11(4), pp. 236-244.
26. INEGI, 2010. *Censo de población y vivienda*. [En línea] Available at: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?src=487&e=12> [Último acceso: 5 Marzo 2013].
27. Lakes, J., Horak, A., Scholz, T., 2005, Helminth genome projects: all or nothing, *Trends in Parasitology*, 21 (6), pp. 265-266.
28. Leles, D., Araujo, A., Paulo Vicente, A. C. & Mayo Iñiguez, A., 2009. Molecular diagnosis of ascariasis from human feces and description of a new *Ascaris* sp. genotype in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 163(1-2), pp. 167-170.
29. Lewine, N., 1978. *Tratado de Parasitología Veterinaria*. Zaragoza, España: Acribia.
30. Linares-Ibañez, J.A., Sciutto-Conde, E., Trujillo-Ortega, M.E., Pérez-Rivero, J.J., Martínez-Maya, J.J., 2011. Estructura Etaria, comportamiento productivo y

- reproductivo de una población de cerdos criados en semiconfinamiento, en una comunidad rural del estado de Morelos, México. *Veterinaria México*, 42(4), pp. 259-267.
31. Martínez-Barbabosa, I., Gutiérrez-Quiroz, M., Fernández-Presas, A.M., Vázquez-Tsuji, O., Pérez-León, M.J., García-Yañez, Y., 2000. Inmunoepidemiología sobre ascariasis a escolares de la Ciudad de México. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, Enero-Marzo, 47(1), pp. 20-25.
 32. Nejsum, P., Parker, Jr. E.D., Frydenberg, J., Roepstorff, A., Boes, J., Ingrid, A., Prag, J., Skov, U.B. 2005. Ascariasis Is a Zoonosis in Denmark. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(3), pp. 1142-1148.
 33. Nuestro México, 2011. *Estados, municipios y localidades de todo México*. [En línea] Available at: <http://www.nuestro-mexico.com/Guerrero/> [Último acceso: 20 Junio 2011].
 34. O'Lorcain, P. & Holland, C., 2000. The public health importance of *Ascaris lumbricoides*. *Parasitology*, Issue 121, pp. S51-S71.
 35. Ortega M, L., 1998. Las parasitosis en la producción porcina actual (I): etiología y principales factores epidemiológicos implicados en el control. *Revista Anaporc*, Issue 182, pp. 157-187.
 36. Otero, C., 1991. Obstrucción intestinal por *Ascaris*. *Archivos Dominicanos de Pediatría*, Mayo-Agosto, 27(2), pp. 53-55.
 37. Ponce, M. M., Martínez, M. N., Rufino, G. Y. & Peralta, A. G., 2011. *Manual de Procedimientos del Laboratorio de Parasitología Experimental*. México, D.F.: Instituto Nacional de Pediatría.
 38. QIAGEN, S. & A. T., 2007. *QIAamp DNA Stool Handbook*. 2a ed. s.l.:s.n.
 39. SALUD, S. D., 2011. *Dirección General de Epidemiología*. [En línea] Available at: <http://www.dgepi.salud.gob.mx> [Último acceso: 13 Junio 2011].

40. Salud, S. N. d. V. E., 2011. *Boletín Epidemiológico*. [Online] Available at: [p://www.dgepi.salud.gob.mx](http://www.dgepi.salud.gob.mx) [Accessed 22 Febrero 2012].
41. Sanzón, F.; Vela, J.C.; Valencia, H.F.; Montenegro, L. 1999, Una estrategia antiparasitaria original en Arboleda, Nariño, *Colombia Médica*, 30 (003), pp. 112-117.
42. SEDESOL, M., 2010. *Catalogo de localidades*. [En línea] Available at: www.microrregiones.gob.mx [Último acceso: 16 Junio 2011].
43. Soulsby, E., 1991. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos*. 7a ed. México: Interamericana.
44. Stewart, T. & Hale, O., 1988. Losses to internal parasites in swine production. *Journal Animal Science*, Issue 66, pp. 1548-1554.
45. Vijakan, V., 2007. How to diagnose and manage common parasitic pneumonias. *Curr Opin Pulm Med*, Volumen 13, pp. 218-224.
46. Zhou, Ch., Li, M., Yuan, K., Deng, S., Peng, W., 2012. Pig *Ascaris*: An important source of human ascariasis in China. *Infection, Genetics and Evolution*, Issue 12, pp. 1172-1177.