

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Seroprevalencia de equinocosis quística y
factores de riesgo asociados en población escolar
del distrito de Hualla. Ayacucho, 2013.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA CON MENCIÓN EN LA ESPECIALIDAD DE
MICROBIOLOGÍA**

**Presentado por la:
Bach. YANINA ZARATE SULCA**

**AYACUCHO - PERÚ
2014**

Tesis
B-735
Zar
G.2

Acta de sustentación de tesis

Bach: Yanina Zarate Sulca

RDN°: 176 - 2014

En la ciudad de Ayacucho el día veintiuno de noviembre del año dos mil catorce, siendo las cuatro de la tarde con quince minutos, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, reunidos los miembros del jurado evaluador, presidido por el Dr. Homero Ango Aguilar como encargado mediante memorando N° 557-2014 UNSCH-FCB, a su vez en calidad de miembro de jurado evaluador, además estuvieron presentes los profesores Mg. José Alarcón Guerrero como jurado, Mg. Víctor Luis Cárdenas López asesor, como secretario docente Blgo. Elbert Hermosa Valdivia, con la finalidad de recepcionar en acto público la sustentación de tesis "Seroprevalencia de equinococosis quística y factores de riesgo asociados en población escolar del distrito de Hualla. Ayacucho 2014", presentado por la bachiller en Ciencias Biológicas Yanina Zarate Sulca, con la que pretende optar al título profesional de Bióloga, en la especialidad de Microbiología.

Con la finalidad que la sustentante pueda hacer uso de la palabra y exponer su tema, habiendo constatado que la documentación se encuentra en orden, el Sr. Presidente del jurado evaluador Dr. Homero Ango Aguilar autoriza que la sustentante pueda dar inicio con su exposición, en el tiempo reglamentario de cuarenta y cinco minutos.

Es así que la Srta. Sustentante da inicio con su exposición iniciando con el agradecimiento a su familia, profesores y universidad.

Terminada su exposición, el Sr. Presidente pide a cada uno de los miembros del jurado hagan la pregunta o aclaraciones que crean convenientes, a las mismas que la sustentante da respuesta.

Concluido con esta parte de preguntas, el presidente del jurado evaluador solicita a la sustentante y público asistente abandonen el ambiente con la finalidad de hacer las discusiones y la calificación respectiva, obteniendo los siguientes resultados.

Miembro evaluador	Exposición	Respuesta a preguntas	Promedio
Dr. Homero Ango Aguilar	18	18	18
Mg. José Alarcón Guerrero	17	18	18
Mg. Víctor Luis Cárdenas López	18	18	18

Promedio: 18

Concluida la calificación se obtiene el promedio de Dieciocho (18), que es aprobatorio, invitándose a la sustentante y público asistente puedan ingresar al ambiente, con la finalidad de dar a conocer el resultado y a su vez colocar la medalla y toma de juramento respectivo.

Concluido con el acto los miembros del jurado evaluador, firman al pie de la presenta acta dando fe a la misma.

Finaliza la sustentación siendo las Seis de la tarde.



Dr. Homero Ango Aguilar
Presidente (e) Miembro



Mg. José Alarcón Guerrero
Miembro



Mg. Víctor Luis Cárdenas López
Miembro Asesor



Blgo. Elbert Hermoza Valdivia
Secretario Docente

Este trabajo lo dedico a CRISTO, a mis queridos padres y hermanos, por darme la libertad de escoger las cosas que quiero hacer, por haberme guiado hacia el camino del bien y por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma Mater*, fuente de sabiduría y enseñanza, por brindarme la oportunidad de lograr mi anhelo y sueño, ser Bióloga.

Al Instituto Nacional de Salud, por aceptarme y permitir la ejecución del presente proyecto en el Laboratorio de Zoonosis Parasitaria.

Al M.Sc. Víctor Luis Cárdenas López, por su asesoramiento, amistad, comprensión y apoyo en hacer realidad este trabajo de investigación.

Al M.Sc. William Quispe Paredes, Biólogo coordinador del Área de Zoonosis Parasitaria del Instituto Nacional de Salud, por brindarme su apoyo incondicional como asesor externo.

Así mismo expreso mi gratitud, al personal colaborador en las actividades realizadas en el laboratorio de Zoonosis Parasitaria; M.Sc. Isidro Antitupac, Blga. Nury Vargas Mayuri, Blgo. Jhon Mayo Alvites, TM. Fanny Valverde Ticlla, Blga. Katia Tarqui Terrones.

De igual manera expreso mi agradecimiento a Laboratorio de Referencia Regional Ayacucho, en la persona del Blgo. Avelino Cordero Condori y en especial al Licenciado Gaudencio Arone Huamani, por su apoyo y orientación en la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I.INTRODUCCIÓN	1
II.MARCO TEÓRICO	3
2.1.Antecedentes	3
2.2.Biología del <i>Echinococcus granulosus</i>	7
2.3.Mecanismos patógenos	16
2.4.Inmunidad	16
2.5.Respuesta inmunitaria a hidatidosis humana	16
2.6.Manifestaciones clínicas	17
2.7.Evasión de la respuesta inmune	19
2.8.Distribución	19
2.9.Epidemiología	20
2.10.Diagnóstico de laboratorio	21
III.MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1.Ubicación de la zona de estudio	25
3.2.Población y muestra	25
3.3.Metodología y recolección de datos	27
3.4.Tipo de investigación	35
3.5.Análisis estadístico	35
3.6.Aspectos éticos y legales	36
IV.RESULTADOS	37
V.DISCUSIÓN	49
VI.CONCLUSIONES	63
VII.RECOMENDACIONES	65
VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXOS	71

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Variantes intraespecíficas de <i>Echinococcus granulosus</i> distribución mundial 2007.	9
Tabla 2. Población y marco muestral de las 5 instituciones educativas, del distrito de Hualla, Ayacucho.	27
Tabla 3. Número de muestras de cada institución educativa del distrito de Hualla, Ayacucho.	28
Tabla 4. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, según edad y sexo. Ayacucho, 2013.	40
Tabla 5. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, según localidad, nivel de educación e Institución Educativa. Ayacucho, 2013.	41
Tabla 6. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, y conocimiento del quiste hidatídico. Ayacucho, 2013.	42
Tabla 7. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, y el saneamiento básico de su vivienda. Ayacucho, 2013.	43
Tabla 8. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, y presencia del hospedero definitivo. Ayacucho, 2013.	44
Tabla 9. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, y presencia de los hospederos intermediarios. Ayacucho, 2013.	45
Tabla 10. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, en relación al beneficio del ganado y disposición de las vísceras contaminadas. Ayacucho, 2013.	46
Tabla 11. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, con relación a la higiene personal. Ayacucho, 2013.	47
Tabla 12. Seroprevalencia de equinococosis quística en relación al consumo de vegetales de tallos cortos en escolares del	48

distrito de Hualla. Ayacucho, 2013.

Tabla 13.	Coordenadas y Altitud del distrito de Hualla.	72
Tabla 14.	Población total del distrito de Hualla.	72
Tabla 15.	Población del distrito de Hualla y centros poblados.	72
Tabla 16.	Número de Instituciones Educativas del distrito de Hualla.	72

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Ciclo biológico.	10
Figura 2. Parásito adulto de <i>Echinococcus granulosus</i> .	11
Figura 3. Diagrama del huevo de <i>Echinococcus ssp.</i>	12
Figura 4. El protoescólex.	12
Figura 5. Microfotografía (40x) de gancho rostelar.	14
Figura 6. Corte de quiste hidatídico.	14
Figura 7. Diagramación de las vesículas hijas al interior de la hidátide madre.	15
Figura 8. Membrana adventicia del quiste hidatídico obtenido de un hígado humano.	15
Figura 9. Distribución geográfica de <i>Echinococcus granulosus</i> .	20
Figura 10. Placa de reacción de ELISA.	22
Figura 11. Equipo para electroforesis en gel de poliacrilamida y perfil proteico de antígenos.	23
Figura 12. Transferencia del antígeno del gel a nitrocelulosa mediante electroforesis.	23
Figura 13. Bandas de precipitación Ag-Ac en el Inmunoblot.	24
Figura 14. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla determinado por la técnica de ELISA. Ayacucho, 2013.	38
Figura 15. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla determinado por la técnica de Inmunoblot.	39

ÍNDICE DE ANEXOS

	Páginas
Anexo 1 Datos geográficos y demográficos del distrito de Hualla.	72
Anexo 2 Consentimiento informado.	73
Anexo 3 Asentimiento informado.	74
Anexo 4 Ficha de investigación epidemiológica para el diagnóstico de equinococosis quística.	75
Anexo 5 Charlas de sensibilización a padres y escolares del distrito de Hualla, Ayacucho 2013.	76
Anexo 6 Registro de calidad de toma de muestra sanguínea en tubos al vacío.	77
Anexo 7 Registro de calidad de técnica de Elisa IgG.	78
Anexo 8 Registro de calidad de la técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de equinococosis quística.	79
Anexo 9 Registro de densidades ópticas y resultados de la prueba de Elisa IgG.	81
Anexo 10 Registro de resultados de la prueba confirmatoria de Inmunoblot.	87
Anexo 11 Extracción de líquido hidatídico para la obtención de antígeno hidatídico de <i>Equinococcus granulosus</i>	91
Anexo 12 Técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de equinococosis.	92
Anexo 13 Constancia de aprobación de protocolo de tesis por el comité de Ética del Instituto Nacional de Salud.	93
Anexo 14 Matriz de consistencia.	94

RESUMEN

La hidatidosis o equinococosis quística es una zoonosis parasitaria, que afecta principalmente a la sierra central y sur del Perú, donde se ubican las regiones con mayor actividad agrícola en las cuales cohabitan el huésped definitivo (perro) e intermediarios tales como bovinos, ovinos, porcinos, caprinos y el hombre. Los niños son el grupo de mayor riesgo a infectarse con este parásito, debido a la estrecha relación que tienen con sus mascotas (perro doméstico); por tanto, el presente estudio tuvo como principal objetivo determinar la prevalencia y factores de riesgo de la equinococosis quística/hidatidosis en población escolar de 6 a 18 años del distrito de Hualla provincia de Víctor Fajardo, Ayacucho. Se utilizó un diseño observacional descriptivo y transversal analítico. Se utilizaron métodos de diagnósticos serológicos de ELISA como prueba de tamizaje e Inmunoblot como prueba confirmatoria. Se evaluaron a 265 escolares de cinco instituciones educativas, obteniendo muestras sanguíneas y la toma de una encuesta epidemiológica elaborada. Se consideró caso de equinococosis quística a aquel que resultó positivo a la prueba de Inmunoblot. La prevalencia fue de 4,91% (13) y se halló como factor significativo de riesgo para equinococosis quística el no contar con un sistema de desagüe siendo 5,38 (IC 95% 1,25 a 26,55) veces más el riesgo a contraer la enfermedad con respecto a los que sí cuentan; criar más de 3 perros representa 3,48 (IC 95% 1,01 a 11,97) veces más de riesgo con respecto a los que crían menos de 3 perros en casa, así mismo el alimentar a los perros con vísceras contaminadas implica 4,33 veces un factor de riesgo a contraer la parásitos. Se sugiere implementar un sistema de control y vigilancia

Palabras clave: hidatidosis, equinococosis quística, *Echinococcus granulosus*, factores de riesgo.

I. INTRODUCCIÓN

La equinococosis quística (EQ) es una zoonosis causada por el estadio larvario del cesto de *Echinococcus granulosus*, responsable de importante morbilidad y mortalidad en todo el mundo. El parásito requiere de diferentes hospederos para completar el ciclo de vida teniendo como hospederos definitivos al perro doméstico y otros cánidos silvestres, donde desarrolla la forma adulta o estróbililar, y los hospederos intermediarios, siendo principalmente los ovinos pero también, bovinos, cerdos, caprinos, camélidos, etc. en los cuales desarrolla la forma o fase larvaria o metacéstode.¹

En América del sur, principalmente en Argentina, sur de Brasil, Uruguay, Chile, Bolivia y Perú, son países donde la hidatidosis constituye un importante problema de Salud Pública.²

La sierra central y sur del Perú son zonas altamente endémicas para esta zoonosis,³ estudios realizados en las diferentes provincias de la región Ayacucho muestran una prevalencia de 1,27% en el distrito de Huancasancos, 3,70% en el distrito de Sancos^{4,5} y un 2,26% en el distrito de Quinoa.⁶

Los riesgos de infección están altamente asociados con las interacciones entre humanos y perros, los cuales son usados principalmente como ayuda en el pastoreo del ganado, así como determinadas creencias culturales y hábitos como, matanza de ganado al interior de las viviendas, alimentar a los perros con vísceras crudas de animales infectados, contribuyen al mantenimiento de la transmisión y siendo muy probable que la población en riesgo sean los niños, debido al contacto cercano que tienen con sus mascotas (perros domésticos) y por su cercanía, los niños se dejan lamer la cara e incluso la boca.¹

Por ello debido a estos antecedentes y la falta de registros en niños se realizó un estudio transversal analítico, que nos permitió conocer el estado

situacional de esta zoonosis a nivel del distrito de Hualla, planteándose los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Determinar la seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla de la provincia de Víctor Fajardo. Ayacucho, 2013.

Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia de equinocosis quística humana por el método serológico de ELISA IgG.
- Determinar la seroprevalencia de equinocosis quística humana por el método Inmunoblot IgG para la confirmación del diagnóstico.
- Identificar los factores de riesgo asociados a la infección de equinocosis quística.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Bakal,⁷ realizó un estudio con el fin de investigar la prevalencia y los factores de riesgo de la equinocosis quística mediante ultrasonido, en una muestra representativa de 2 500 niños de escuelas primarias de 7 a 14 años en el este de Turquía. Obteniendo una prevalencia con ultrasonido portátil de 0,20 %. (0,12 % para el hígado y 0,08 % para riñón). Los factores de riesgo significativos ($P < 0,05$) para la infección de equinocosis quística fueron el lavado de manos y la familia con equinocosis quística.

Fotiu,⁸ mediante un estudio de seroprevalencia en la región de Tesalia, Grecia Central, de 542 muestras por muestreo estratificado por conveniencia analizados por ELISA, hallando una seropositividad de 1,10% (5 casos en mayores de 65 años de edad).

Ülgen *et al.*⁹ determinaron la prevalencia de equinocosis quística mediante un escáner de ultrasonido portátil, en niños de educación primaria en Manisa, Turquía. Se seleccionó una muestra representativa de 6 093 niños de 37 escuelas primarias, de un total de 166 766, y fueron examinados por ultrasonido. La prevalencia que se encontró fue del 0,15%.

Dopchiz *et al.*¹⁰ desarrollaron un trabajo sobre la situación de la hidatidosis/equinocosis en el Sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina), reportando prevalencia de infección humana de 0,83 % y canina de 24,60 %, así mismo señalan que el faenamiento domiciliario de ovinos mostraba condiciones adecuadas para determinar la presencia de *E. granulosus* en el ciclo perro-ovino.

Lorca *et al.*¹¹ en el 2006, determinaron la seroprevalencia de hidatidosis humana en 116 muestras de 0 a 60 años en la región de Coquimbo, Chile, obteniendo

que en las comunidades rurales ganaderas que tenía el 2,50% de casos de hidatidosis, destaca el hecho de que un 25% de los casos eran menores de 20 años y con una relativa mayor frecuencia en mujeres ($p > 0,01$).

Hinostroza,¹² determinó la prevalencia de hidatidosis humana en la provincia de Osorno, Chile, durante el periodo 2002-2006. La información fue recolectada de los casos de hidatidosis declarados en los registros hospitalarios de la provincia de Osorno. La tasa de prevalencia promedio de hidatidosis humana fue de 8,20 por 100 000 habitantes, siendo la comuna de Río Negro la que presentó la mayor prevalencia con un 16,89 por 100 000 habitantes y la comuna de San Pablo la menor con un 1,99 por 100 000 habitantes. La comuna de Osorno presentó una mayor cantidad de casos pero su prevalencia fue de 3,88 por 100 000 habitantes.

Alva,¹³ determinó la frecuencia de hidatidosis en escolares de 12 a 19 años de la provincia de Chupaca, departamento de Junín, donde se evaluó los sueros por la prueba de DD5, obteniendo como resultado 11 (6,80%) casos seropositivos de hidatidosis, demostrando que aún constituye un problema de salud importante.

Núñez,¹⁴ determinó la prevalencia y factores de riesgo de hidatidosis en población general de 0 a 41 años en el distrito de Ninacaca Pasco, Perú, obteniendo como resultado un 9,80% en la zona rural y 8,20% en la urbana de casos positivos a equinococosis quística e identificando como factores de riesgo, el grupo etario de 11 a 40 años, ocupación ganadera y eliminación de aguas servidas en interiores de la vivienda y la alimentación del perro con vísceras.

Santibáñez *et al.*¹⁵ determinaron los factores asociados con la prevalencia de hidatidosis humana en tres comunidades rurales de Junín, Perú. Obteniendo como resultado de un total de 417 viviendas evaluadas, 56 (13%) de ellas tenían al menos un caso positivo de hidatidosis entre sus miembros; luego del análisis de regresión logística múltiple se observó que aquellas viviendas con más de tres miembros, localizadas en la comunidad con quintil de pobreza más bajo, que refirieron crianza de animales, y con una cobertura de evaluación mayor al 25% presentaron una mayor probabilidad de tener al menos un caso de positivo entre sus miembros.

Cabrera,¹⁶ en el 2005, determinó los conocimientos, actitudes y prácticas de los matarifes acerca de la hidatidosis/equinococosis, en dos zonas urbanas del departamento de Ica, Perú. El metacéstode de *E. granulosus* fue conocido como 'bolsa de agua' por 25 (45,50%) de los entrevistados y como quiste hidatídico por 10 (18,20%). Los vacunos y ovinos fueron identificados como los huéspedes intermediarios más frecuentes; sin embargo, no conocían los huéspedes definitivos ni los mecanismos de transmisión. La actitud de 36 (65,50%) matarifes, si estuvieran infectados, era tratarse y, si observaran helmintos en las heces de sus perros, 17 (30,90%) los sacrificarían. 21 (38,20%) de los trabajadores admitieron que los quistes hidatídicos van al piso del camal, 30 (54,50%) criaban perros, 19 (63,30%) no los habían desparasitado en los últimos seis meses, 30 (54,50%) de los matarifes realizaban beneficios clandestinos y algunos alimentaban a sus perros con vísceras parasitadas crudas. En conclusión los conocimientos de los matarifes entrevistados sobre la equinococosis /hidatidosis son deficientes y las prácticas constituyen riesgo para la transmisión y diseminación de la hidatidosis.

Moro,¹⁷ determinó los conocimientos, actitudes y practicas sobre la hidatidosis humana en poblaciones procedentes de zonas endémicas. Entre julio de 2005 y junio de 2006, encontrándose 32 casos atendidos en el departamento de cirugía del Hospital Nacional Hipólito Unanue en Lima, Perú. Fueron pareados según edad, sexo y lugar de nacimiento con 64 controles donde la población estaba compuesta de inmigrantes de la región andina. Los participantes fueron entrevistados usando un cuestionario estructurado para evaluar factores ambientales y del comportamiento asociado con la hidatidosis. Con regresión logística condicional múltiple se determinó que ser dueño de ≥ 10 perros en una zona rural (a OR=8,7; 95% CI=1,3-57,5), y el criar ganado ovino (a OR=5,9; CI=1,2-28,1), estuvieron independientemente asociados a un mayor riesgo de hidatidosis. La creencia de que los alimentos podrían transmitir hidatidosis (a OR=0,1; 95% CI=0,01-0,7), y la crianza de ganado caprino (a OR=0,02; 95% CI=0,001-0,6), estuvieron inversamente asociados a la hidatidosis.

Huamán,² determinó la frecuencia de pacientes con hidatidosis en el Instituto Nacional de Salud del Niño (INSN), Lima, durante el periodo 1996-2005. Se revisaron 177 historias clínicas de un total de 235 pacientes con diagnóstico de hidatidosis. La frecuencia de pacientes hospitalizados con diagnóstico de

hidatidosis fue de 0,21% (235/109 550). El mayor número de pacientes procedía del departamento de Lima (33,90%, 60/177), seguido por Junín y Pasco. El 55,4% (98/177) de los pacientes fueron varones y el 50,80 % (90/177) de los casos se dio en pacientes entre 5 y 9 años de edad. El 44% (78/177) de los pacientes sufrió de hidatidosis pulmonar y el 23,20% (41/177) padeció de hidatidosis hepática. Los resultados indican que podría estar ocurriendo un ciclo urbano de la enfermedad.

Moro,¹⁸ determinó la prevalencia de equinocosis quística en una región endémica del Perú mediante ecografía portátil e Inmunoblot, comparando ambos métodos. Se evaluaron a 389 aldeanos que fueron examinados por ultrasonido portátil y tomaron muestras de sangre por punción venosa. La prevalencia de la equinocosis humana usando ultrasonido portátil y el ensayo de Inmunoblot fueron 4,90% y 2,60%, respectivamente.

Chumbe,¹⁹ determinó la prevalencia de hidatidosis humana en nueve comunidades rurales del distrito de Yanahuanca, Pasco, empleando como técnicas de diagnóstico, la ecografía abdominal y la radiografía de tórax. Además, se evaluó la asociación entre las variables edad, género y comunidad de procedencia y la presencia de pobladores positivos a quistes hidatídicos. La ecografía se realizó a 949 personas (52% de la población mayor de 5 años) y el examen radiográfico a 829 (45,61%). La prevalencia general de hidatidosis fue de 5,47% (52/949) con un intervalo de confianza al 95% de 4,10 a 7,10%. Se halló asociación estadística ($p < 0.05$) entre edad con el resultado positivo al examen ecográfico, siendo las personas mayores de 40 años las que presentaron un mayor porcentaje.

García,⁴ determinó la seroprevalencia de hidatidosis humana en escolares de 6 a 15 años en el distrito de Huancasancos, Ayacucho, mediante un tamizaje a 473 escolares por la técnica de ELISA (17 positivos) y una prueba confirmatoria por Inmunoblot (6 positivos) obteniendo una prevalencia de hidatidosis de 1,27% (IC95%:0,15-2,38). Cinco de los 6 casos criaban ganado y tenían perros, 4 eran varones y tenían entre 9 a 15 años.

García,⁵ determinó la seroprevalencia de hidatidosis en población adulta de 18 a 65 años en el distrito de Sancos, Ayacucho, mediante un tamizaje a 335 personas mediante ELISA e Inmunoblot, 13 presentaron serología positiva para hidatidosis lo que constituyó una prevalencia de 3,70% en donde el grupo etario

con mayor frecuencia fue el de 30 a 50 años de edad y los grupos ocupacionales más afectados fueron: ganaderos, pastores y ganaderos comerciantes.

2.2. Biología del *Echinococcus granulosus*

2.2.1. Generalidades de los céstodos

Los céstodos son parásitos obligados del intestino, sobre todo del intestino delgado. Estos no disponen de un tubo digestivo propio por eso la alimentación se realiza a través de la absorción de los nutrientes a través del quimo intestinal del hospedador por toda la superficie corporal del parásito.

Los cuerpos de los céstodos, tenias, son planos y tienen aspecto de cinta, y sus cabezas están dotadas de órganos de fijación. La cabeza, o escólice del gusano suele tener cuatro estructuras succionadoras musculares en forma de copa y una corona de ganchos. Una excepción es *Diphyllobotrium latum*, el céstodo del pescado, cuyo escólice está dotado de un par de largos surcos musculares laterales y carece de ganchos. Los segmentos individuales de los céstodos reciben el nombre de proglótides y la cadena de proglótides conforma el llamado estróbilo. Todos los céstodos son hermafroditas. Poseen órganos reproductores masculinos y femeninos en cada proglótide madura. Los huevos de la mayoría de céstodos no son operculados y contienen un embrión que posee seis ganchos; la excepción es *Diphyllobotrium latum*, cuyos huevos operculados son similares a los de los tremátodos. La mayoría de los céstodos que se encuentran en el intestino humano tienen ciclos vitales complejos que implican a un anfitrión intermedio y, en algunos casos (cisticercosis, equinococosis, esparganosis), el anfitrión intermedio es el ser humano, que alberga los estados larvarios del gusano. La presencia de larvas extraintestinales puede revestir más importancia que la del gusano adulto confinado al intestino.²⁰

2.2.2. Clasificación taxonómica

La clasificación de acuerdo a Yamaguti (1959) y Schmidt (1986) para el género y la de Thompson para las especies.²¹

Phylum: Platyhelminthes

Clase: Céstoda

Orden: Cyclophyllidea

Familia: Taeniidae

Género: *Echinococcus*

Especie: *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. oligarthrus* y *E. vogeli*.

De esta manera, *E. granulosus* es un helminto parásito perteneciente al phylum Platyhelminthes y a la clase Céstoda, que reúne a endoparásitos carentes de tubo digestivo. Orden Cyclophyllidae, presenta escólex con cuatro ventosas musculares. Familia Taeniidae, adultos en el intestino delgado de carnívoros y humanos. Género *Echinococcus*, que comprende a *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. oligarthrus* y *E. vogeli*. Si bien inicialmente sólo cuatro especies han sido reconocidas taxonómicamente dentro del género *Echinococcus*, hoy en día este hecho está en discusión y apunta a dividirlo a más especies. Se han aceptado 4 especies en el género *Echinococcus*: *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli* y *E. oligarthrus*, siendo solamente *E. granulosus* y *E. multilocularis*, implicadas en la infección a humanos. En el año 2005 en el Tibet, Xiao valida una nueva especie basado en secuencias nucleares y mitocondriales a la que denomina: *E. shiquicus*, encontrada en zorros tibetanos (*V. ferrilata* y *O. curzoniae*) endémicos de esta área y que servirían de hospederos naturales para esta nueva especie, los cuales están adaptados solo a sobrevivir en altas altitudes, prediciendo que la distribución de *E. shiquicus* estaría restringida a estas especies y a esta región geográfica localizada a aproximadamente 4 000 msnm.^{22, 23}

2.2.3. Cepas de *Echinococcus*

En el año 2001 se introdujo el concepto de cepas, definidas como “variantes” que difieren estadísticamente de otros grupos de la misma especie en frecuencias génicas y en una, o más características, con real o potencial interés para el control y la epidemiología de la equinococosis.²¹ El estudio de estas variantes está basado en cambios en las secuencias de los ácidos nucleicos que se reflejan en caracteres fenotípicos que afectan los patrones del ciclo de vida del parásito, la especificidad de hospedador, la velocidad de desarrollo, patogenicidad, antigenicidad, sensibilidad a agentes quimioterapéuticos, dinámica de transmisión y la epidemiología de *Echinococcus granulosus*.²¹

Se ha reconocido que *E. granulosus* posee un alto grado de diversidad genética, identificándose 10 cepas genéticas, designadas desde G1 a G10 (Tabla 1) mediante la secuenciación de los genes COI, ND y ITS-1, entre las que se pueden mencionar a: G1 (cepa ovina), G2 (cepa ovina de Tasmania), G3 (cepa búfalo), G4 (cepa equina), G5 (cepa bovina), G6 (cepa camélida), G7 (cepa

porcina), G8 (cepa cévido) , G9 (cepa león) (54) y G10 (cepa cévido de Fennoscandian).²⁴

Tabla 1. Variantes intraespecíficas de *Echinococcus granulosus* distribución mundial 2007.²⁵

Cepa	Huésped Intermediario	Huésped definitivo	Hombre	Distribución geográfica conocida
Oveja común (G1)	Ovinos, bovinos, cerdos, camellos caprinos	Perros, zorro, hiena, chacal	si	Cosmopolita
Oveja de Tasmania (G2)	Ovino, bovinos	Perros	si	Australia, América
Búfalo (G3)	Búfalo, bovinos	Perros	?	Asia
Caballo (G4)	Caballos	Perros	no	Medio Este de Europa, Sur de África, EEUU
Bovino (G5)	Bovinos	Perros	si	Cosmopolita
Camello (G6)	Camellos, cabras, bovinos	Perros	si	Medio Este de África, China, América del Sur
Cerdo (G7)	Cerdos	Perros	?	Europa, América del sur
Ciervo (G8)	Ciervo	Perros, Lobos	si	Norte América, Europa, Asia
León (G9)	Cabras, antílopes, jirafas	León	no	África
Cévidos (G10)	Ciervos	Ciervos	?	Europa del Norte, Canadá

?: No determinado

2.2.4. Ciclo biológico

El proglótido grávido que contiene los huevos se desprenden del cestodo adulto que se encuentra en el intestino delgado del perro doméstico o de canidos silvestres. Los huevos se eliminan con las excretas y contaminan su pelaje, el suelo, los pastos, verduras y el agua para beber. El ganado se infecta en los pastizales donde hay huevos. Cuando los huevos llegan al intestino, en específico el duodeno del ovino o de cualquier otro hospedero intermediario, se desintegra la cubierta que rodea al embrióforo para dejar salir a la oncósfera (embrión hexacanto). Esta, por medio de sus ganchos atraviesa la pared y penetra en los vasos sanguíneos tributarios de la vena porta. El hígado es el primer órgano a su paso, y si el embrión pasa a los capilares hepáticos, alcanza

las venas suprahepáticas y la cava inferior para llegar al corazón derecho; de allí sigue por la arteria pulmonar hasta los pulmones.

A esta migración se debe que su presencia sea más frecuente en hígado y pulmones, que es donde empieza a desarrollar la forma larvaria, hidátide o quiste hidatídico. Al cuarto día de su llegada se inicia la vacuolización central, futura cavidad quística. Al séptimo día mide 60 a 70 mm. El desarrollo de la hidátide es lento: crece más o menos 1cm por año. Es muy raro que llegue a la parte izquierda del corazón y por la circulación arterial a cualquier parte del organismo. El tiempo promedio desde que el ovino ingirió los huevos hasta la formación de los protoescólices es de nueve meses.

A fin de cerrar el ciclo es necesario que los canidos ingieran las vísceras con el quiste. Así, de los protoescólices (quistes fértiles) sale el escólex, se fija en el intestino delgado y se desarrolla en un adulto de *Echinococcus granulosus*. El adulto inicia su producción de huevos a partir de los 47 hasta los 61 días después de la ingestión de protoescólices de la hidátide.²⁶

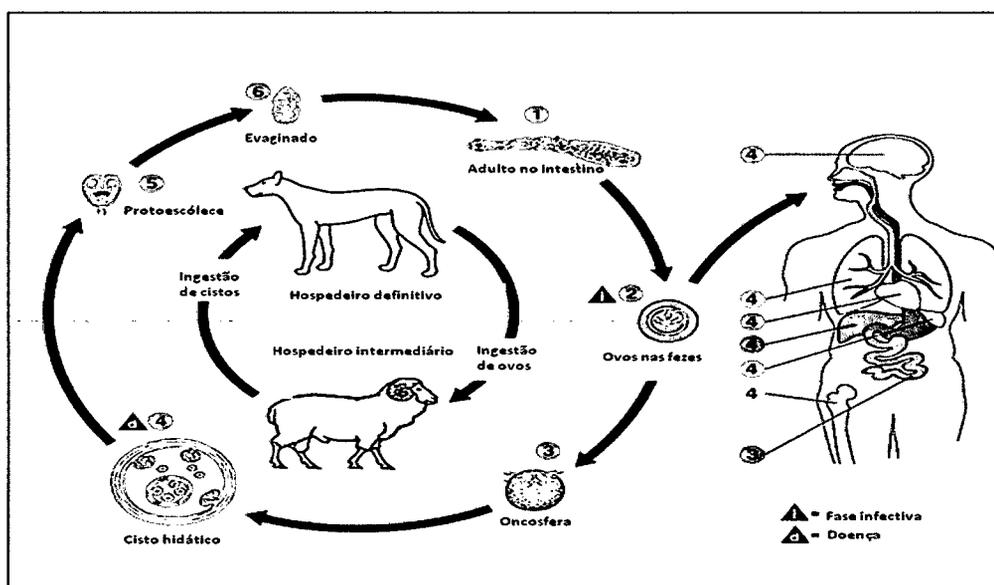


Figura 1. Ciclo biológico.²⁶

2.2.5. Características morfológicas

El parásito adulto

El parásito adulto varía de 2 a 7 mm de longitud y posee una región anterior cefálica, el escólex, que está adaptado para adherirse al hospedador. Las estructuras presentes en la región cefálica tales como las ventosas y los ganchos, participan en la adherencia del parásito en la mucosa intestinal del

hospedador definitivo. El rostelo se inserta profundamente en una cripta de Lieberkühn, la cual es una glándula de tipo tubular que se localiza en el intestino de su hospedador definitivo. Detrás del escólex hay un cuello, que es una región proliferativa y a continuación el cuerpo propiamente dicho o estróbilo. El estróbilo es una secuencia lineal de secciones parecidas a segmentos, denominadas proglótides y habitualmente posee tres o cuatro segmentos pero raramente más de seis. Los huevos completan su maduración en la última proglótide.²⁶

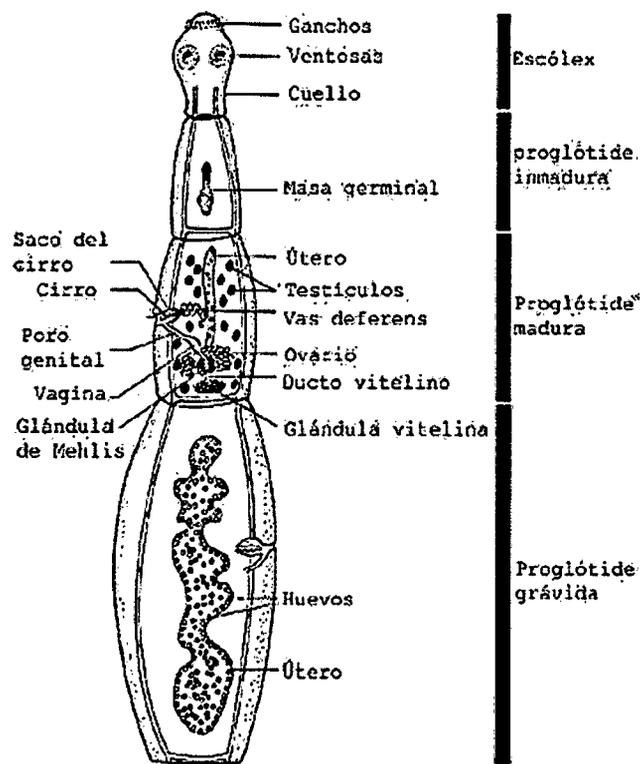


Figura 2. Parasito adulto de *Echinococcus granulosus* .²⁶

El huevo

Los huevos de *Echinococcus spp.* son esféricos o elipsoides en forma y poseen dimensiones de 20 a 50 micrómetros de diámetro. Poseen varias capas o membranas protectoras, siendo el embrióforo la principal estructura protectora. Cuando el huevo es ingerido por el hospedador intermedio apropiado, eclosiona en el estómago y en el intestino delgado. La oncósfera liberada y activada penetra las microvellosidades del intestino. A partir de ese momento, la oncósfera comienza su migración a través de los vasos linfáticos y sanguíneos. Una vez que la oncósfera alcanza su sitio de predilección comienza a desarrollarse el quiste o la forma metacéstode.²⁶

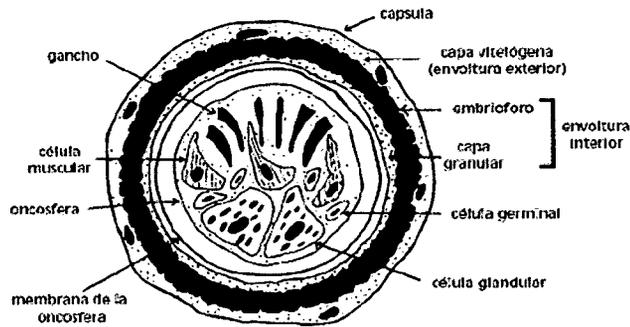


Figura 3. Diagrama de huevo de *Echinococcus ssp*²⁶

El protoescólex

El protoescólex forma parte del estadio larvario o metacéstode y se origina a partir de la capa germinal del quiste o de las vesículas prolíferas. Juega un rol clave en el ciclo de vida del parásito, al ser la forma infectiva para el perro entre otros carnívoros. El protoescólex se forma en la capa germinal del quiste hidatídico fértil. Siguiendo el eje antero-posterior, se han descrito cuatro regiones morfológicas en el protoescólex; rostelo, ventosa, cuello y cuerpo.

Dentro del protoescólex se pueden distinguir diferentes territorios celulares: los correspondientes al cono rostelar, la almohadilla rostelar, las ventosas, el intermedio rostelar y el cuerpo. Se ha descrito la existencia de una membrana o lámina basal circundando algunos de los territorios celulares antes mencionados.²⁷



Figura 4. El protoescólex.²⁷

La hidátide

Es una esfera o vesícula de tamaño variable llena de un líquido incoloro y transparente. Es la larva propiamente dicha, está formada por dos membranas denominadas laminar y germinativa y por el líquido hidatídico. La membrana

laminar es la más externa y acelular, y está formada por un gran número de láminas concéntricas. Su consistencia es frágil, rompiéndose fácilmente a la menor presión.²⁶

a. La membrana germinativa. Es la responsable de la proliferación del parásito y de la regulación del movimiento de macromoléculas del líquido hidatídico por la membrana laminar. A partir de esta membrana son formadas las vesículas prolíferas que generalmente presentan formas esféricas y visibles, como granos de arena, miden de 250 a 500 μm . A su vez, a partir de la membrana germinativa de las vesículas prolíferas se originan los protoescólices, que vistos al microscopio son pequeñas cabezas invaginadas, de modo que el rostelo y los ganchos quedan protegidos, en las que la corona de ganchos y los dos pares de ventosas son claramente visibles.²⁶

b. Contenido de la hidátide. La hidátide tiene en su interior líquido y elementos figurados.

Líquido hidatídico. En una hidátide no alterado, el líquido, producto del metabolismo de la larva es totalmente transparente (agua de roca). Su densidad oscila entre 1,007 a 1,015 mg /ml y su pH entre 6,7 y 7,9 en general estéril. El 98% es agua con varias sustancias orgánicas e inorgánicas, como cloruro de sodio (5 g/L), sulfato y fosfato de sodio, ácido acético, propiónico, valérico y succínico, glucosa, colesterol, ester de colesterol, monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos, aminoácidos, proteínas y lípidos. Se encuentra también urea, ácido úrico, creatinina y bilirrubina. No hay DNA, RNA ni amoníaco. El tamaño más común de la hidátide es de 0,8 a 1,5 cm de diámetro.²⁶

Elementos figurados. Constituido por elementos microscópicos como:

- **Vesícula prolífera.** Se forma por yemación de la membrana germinativa hacia el interior del quiste, las cuales crecen, se vesiculizan originando pequeñas vesículas unidas por frágiles pedículos a la prolífera. En su interior se forman los escólices también por mamelonamiento, crecimiento e invaginación. Las vesículas prolíferas miden 250 a 500 μm de diámetro y cada uno contiene 30 a 40 escólices. Al romperse el pedículo, estas vesículas quedan libres en el líquido y a su vez al romperse, dejan libres los escólices.²⁸
- **Escólices (protoescólices).** Son estructuras ovoides, que presentan en la unión del tercio posterior con los dos tercios anteriores, una hilera transversal de ganchitos refringentes. Desde este polo anterior hasta la hilera de

ganchitos, tiene una hendidura que corresponde a la invaginación del escólex. En condiciones favorables, los escólices se evaginan presentando las cuatro ventosas y la doble corona de ganchitos.²⁸

- **Ganchitos.** Son formaciones de unos 30 μm de longitud. Forman parte de la arenilla hidatídica y son importante para diagnóstico microscópico de certeza de hidatidosis.²⁸

Microfotografía (40x) de gancho rostral observado en el líquido hidatídico de un caso clínico, donde se identifican los segmentos de medición.

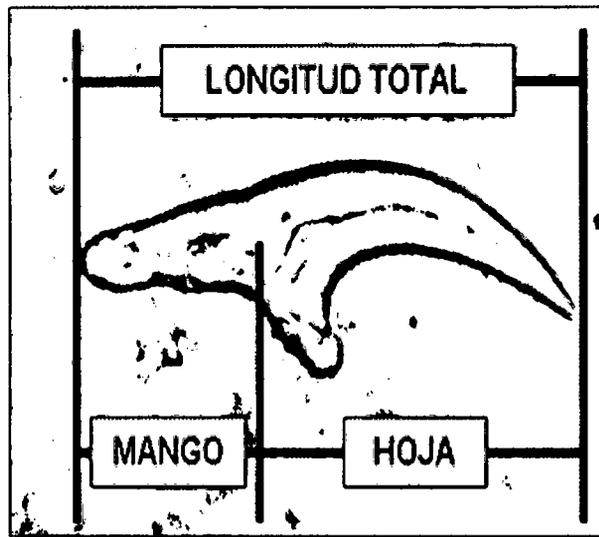


Figura 5. Microfotografía (40x) de gancho rostral.²⁸

Vesículas hijas. Tienen la misma estructura que la hidátide madre; es decir, la laminar por fuera y germinativa por dentro, con capacidad de formar vesículas prolíferas, escólices y líquido hidatídico.²⁸

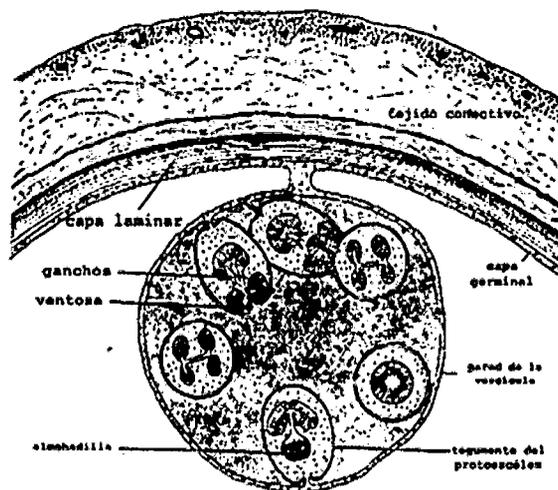


Figura 6. Corte de quiste hidatídico.²⁸



Figura 7. Diagramación de las vesículas hijas al interior de la hidátide madre.²⁸

Hay dos manifestaciones anatomopatológicas que han sido descritas en la evolución del quiste:

- **La vesiculización endógena:** Es la formación de hidátides hijas dentro de la hidátide madre, actitud defensiva del parásito, hecho frecuente en los quistes hepáticos. Estas vesículas hijas pueden ser fértiles o estériles tengan o no escólices en su interior.
- **La vesiculización exógena:** Son pequeñas hidátides que emergen en dirección al órgano parasitado. Se trataría de membranas germinativas o escólex que quedarían englobados en la adventicia constituyendo una forma de propagación externa del parásito.^{29, 30}

Membrana adventicia

Es una envoltura fibrosa, de espesor variable según el hospedero y el órgano afectado. Se forma por reacción del tejido parasitado y con la hidátide solo está en contacto, existiendo un plano de clivaje quirúrgico entre adventicia y laminar.²⁹



Figura 8. Membrana adventicia del quiste hidatídico obtenido de un hígado humano.²⁹

2.3. Mecanismos patógenos

A fin de explicar este aspecto es necesario analizar las estructuras y tejidos del quiste hidatídico en función de su capacidad para producir una respuesta inmunitaria. La capa laminar, por su carácter acelular y no degradable, no estimula el sistema inmunitario del huésped. Además, es una barrera que impide que las células inmunocompetentes se pongan en contacto con las estructuras parasitarias, pero si permite el paso de macromoléculas del hospedero, cuyo movimiento es regulado por la capa germinativa. La estimulación inmunológica la proporcionan inmunógenos parasitarios contenidos en el líquido hidatídico, los cuales salen del quiste atravesando la capa laminar. Al inicio de la infección se puede encontrar una significativa respuesta celular inflamatoria, en la que se encuentra incremento de leucocitos con base, sobre todo, en eosinófilos, linfocitos y macrófagos al margen de la reacción inflamatoria, también se encuentran fibroblastos, que son los que se encargan de formar la capa fibrosa que separa al parásito del hospedero. Si hay daño en este tegumento de la capa germinal se modifica la permeabilidad de esta última y es posible el paso de inmunógenos hacia el huésped. De acuerdo con lo anterior, hay una variedad de respuestas del hospedero que dependen de la integridad de la membrana germinal, puesto que el quiste puede estar intacto o romperse y liberar gran cantidad de antígenos. Los antígenos producen una fuerte estimulación inmunológica que conduce al choque anafiláctico y la muerte. Estas dos situaciones serían los extremos. El mecanismo patogénico principal es mecánico, por ser una que ocupa espacio, comprime y desplaza.²⁶

2.4. Inmunidad

Se da cuando la oncósfera es liberada en el intestino delgado del hospedero, atraviesa las paredes del intestino y penetra a los vasos sanguíneos y linfático, mediante las cuales es llevada a los tejidos del organismo. En el hígado y en los pulmones, órganos donde preferentemente se localizan los embriones, la gran mayoría es destruida por la respuesta inmune del hospedero. Aquellos que sobreviven evolucionan como una pequeña vesícula llena de líquido incoloro cercado por las células mononucleares del hospedero.³¹

2.5. Respuesta inmunitaria a hidatidosis Humana

Desde el momento que el parásito entra en contacto con el hospedero se encuentra expuesto a un medio hostil. Cuando el sistema inmune del hospedero reconoce al parásito como extraño, da inicio a una reacción inflamatoria cuya

finalidad, precisamente es la de erradicar la infección; pero en muchos casos esta respuesta no se desarrolla y da lugar a un estado de tolerancia inmunológica que permite vivir al parásito durante mucho tiempo.³²

En el hombre, el líquido hidatídico es el principal factor responsable de la estimulación antigénica. Por el contrario, la capa laminar, acelular y no degradable no estimula el sistema inmunitario del huésped, aunque se comporta como un filtro que permite el paso de macromoléculas. Por su parte, el tegumento de la capa germinativa actúa como barrera que impide el contacto de los antígenos del líquido hidatídico con las células inmunocompetentes del huésped. Es necesario que en la capa germinativa ocurran alteraciones como microfisuras, complicaciones o roturas que modifiquen sus condiciones de permeabilidad para que la estimulación antigénica se produzca y pueda ser detectada por métodos inmunológicos.³³

El quiste hidatídico desencadena una respuesta inmune predominantemente Th2, con la producción de IgM, IgE e IgG, destacándose a la IgG1 e IgG4, 10, 11 las cuales están dirigidas a diferentes componentes antigénicos del quiste hidatídico, siendo los de mayor relevancia el antígeno 5 (Ag5) y el antígeno B (AgB), los cuales tienen una relación de 1:10 en el líquido hidatídico. El Ag5 es un complejo de lipoproteína de gran peso molecular compuesto por fragmentos de 57 y 67 kDa (kilodaltons), los cuales bajo condiciones de reducción se disocian en subunidades de 38 y 22 a 24 kDa (kilodaltons). Este antígeno es compartido por varios parásitos, incluso pacientes sanos tienen anticuerpos que reconocen epítopes del Ag5. El AgB, el cual constituye 10% del contenido total del líquido hidatídico es una lipoproteína termoestable de 160 kDa (kilodaltons), la cual produce tres subunidades de 8 ó 12, 16 y 20 ó 24 kDa (kilodaltons) en electroforesis en gel de poliacrilamida Dodecil Sulfato de Sodio (SDS-PAGE) en condiciones reductoras. Estudios inmunohistoquímicos han demostrado que esta proteína está localizada en el tegumento del protoescólex y membrana germinativa del metacéstode de donde es secretada al líquido hidatídico. Ésta es una de las proteínas que más caracterizan al quiste hidatídico, siendo un componente antigénico de mucha especificidad para la equinococosis; sin embargo, es compartida entre las diferentes especies de *Echinococcus*.³⁴

2.6. Manifestaciones clínicas

Es dependiente del órgano afectado y de la presencia de complicaciones. En un porcentaje no despreciable son asintomáticos y se encuentran como hallazgos

al realizar estudios de imágenes de la cavidad abdominal o una radiografía de tórax. Los órganos más afectados son el hígado, en un 50-70% de los casos, habitualmente el lóbulo hepático derecho (80% lesión única y 20% lesiones múltiples); pulmón 20-40% (60% pulmón derecho y 13% es bilateral) y otras localizaciones en un 10%. De los pacientes con lesiones pulmonares hasta el 60% tiene antecedentes de hidatidosis hepática. Recordemos que ningún órgano es inmune a la infección, y se han descrito lesiones, peritoneales, esplénicas, renales, óseas, tiroideas, mamarias, etc.^{35, 36}

La sintomatología es muy variable dependiendo de la ubicación y tamaño del quiste. Se describen las siguientes formas sindromáticas:

- Síndrome tumoral: aumento de volumen del órgano afectado, compresión de órganos vecinos, masa palpable.
- Síndrome doloroso: destrucción del parénquima afectado.
- Síndrome hipersensibilidad: prurito, urticaria, asma, shock, muerte.

Los síntomas más frecuentes se producen en el quiste hepático e incluyen dolor en hipocondrio derecho, masa palpable, ictericia y fiebre entre otros. Las complicaciones que se observan con mayor frecuencia son:

- Rotura del quiste, que puede ser de diferentes tipos:
 - a. Contenida. Ruptura solo del endoquiste, el cual se colapsa.
 - b. Comunicada. La presión del líquido hidatídico es mayor que la vía biliar o del árbol bronquial, por lo tanto tiende a salir, pudiendo provocar una obstrucción de la vía biliar (ictericia obstructiva, colangitis), u originando la vómitica.
 - c. Directa. Se produce directamente a la cavidad pleural o peritoneal, originando una siembra, y con un elevado riesgo de anafilaxia.
- Infección. Suele plantear el diagnóstico diferencial con la colangitis aguda.
 - a. Absceso frío. Infección limitada al endoquiste, de escasa sintomatología, que se presenta como un cuadro solapado y progresivo. La adventicia limita el proceso infeccioso e impide su paso a la circulación sistémica.
 - b. Absceso agudo. Cuadro séptico muy sintomático, fiebre alta en aguja, leucocitosis y con gran compromiso del estado general.
 - c. Pionumoquiste. Infección por anaerobios, por lo que se observa gas en el interior del quiste. Es una infección de muy escasa ocurrencia.

Los quistes pulmonares suelen presentar tos, vómitica, que puede asociarse a hemoptisis, ya que hasta un 50% de las lesiones pulmonares se encuentran complicadas al momento del diagnóstico. La bilipneumonia o secreción bronquial

acompañada de bilis es un signo muy poco frecuente pero patognomónico de los quistes hepáticos que migran al tórax y causan una fístula biliobronquial. El shock anafiláctico y la siembra peritoneal o pleural suelen observarse en el caso de roturas espontáneas o durante el tratamiento quirúrgico; la desnutrición es reflejo de una enfermedad avanzada o por afectación hepática extensa, etc.³⁷

2.7. Evasión de la respuesta inmune

Para evadir la respuesta inmune del hospedero los parásitos acuden a varios mecanismos.

Localización en sitios privilegiados.

Variación antigénica, cambiando su expresión antigénica con mucha facilidad y en esta forma produciendo infecciones contra los cuales la defensa es pobre, puesto que una vez que ha producido un anticuerpo, el antígeno que lo indujo desaparece de la membrana del parásito y es remplazado por un antígeno nuevo, permitiendo que el parásito actúe libremente por unos días más, mientras se inicia la producción de anticuerpos contra ese nuevo antígeno. Otros parásitos se defienden del sistema inmune del hospedero por mimetismo molecular, proceso por el cual incorporan a su membrana celular proteínas propias de la membrana de algunas células del hospedero. Otros acuden al camuflaje envolviéndose en membranas o quistes relativamente inertes o poco antigénicos. Otros inducen la producción de inmunodepresores que detienen la respuesta del hospedero. La complejidad del ciclo de algunos parásitos representa otra dificultad para el sistema inmunológico con el hospedero.³¹

2.8. Distribución

La infección por *Echinococcus granulosus* tiene una distribución geográfica cosmopolita y se han descrito casos en todos los continentes. Las regiones con mayor prevalencia a nivel mundial son: Euro-Asia (región Mediterránea, Rusia y República Popular China), África (región nordeste), Australia y América del Sur. En América del Sur, la enfermedad existe en la mayoría de los países pero Argentina, Bolivia, Brasil, Perú y Uruguay, son aquellos donde la hidatidosis constituye un importante problema de Salud Pública.¹

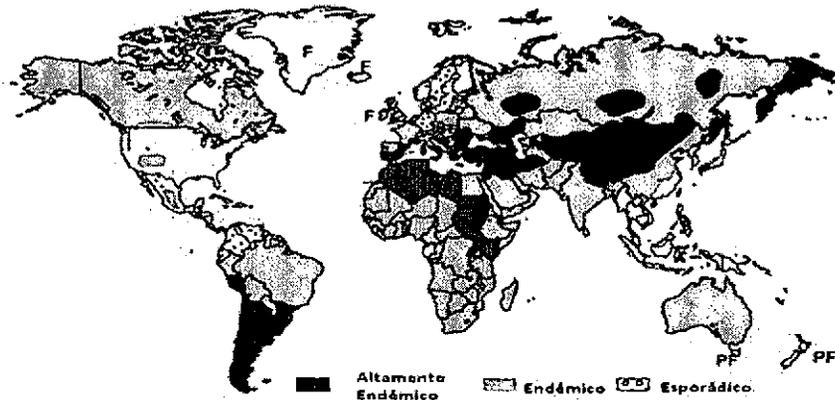


Figura 9. Distribución geográfica de *Echinococcus granulosus*.¹

2.9. Epidemiología

La presencia de ovinos y perros parasitados en el medio rural, ha posibilitado el desarrollo del ciclo de la enfermedad, colocando a la población humana residente en un permanente riesgo de contraer el parásito.

El cestodo de *Echinococcus granulosus* cuando llega al estado adulto vive en el intestino delgado del perro y en el de otros mamíferos carnívoros, como el lobo, chacal, etc. Los huevos son expulsados por las materias fecales del perro, contaminando el suelo, los pastos, las verduras y el agua de bebida, donde son adquiridas por los hospederos intermediarios: los ovinos, los bovinos, porcinos y accidentalmente el hombre y otros mamíferos de menor importancia epidemiológica como son el caballo, asno, gato, oso, conejo y rata.³⁸

El hombre se infecta al ingerir los huevos, presentes en el agua o verduras contaminadas. Cuando estos llegan al estómago, la acción del ácido clorhídrico libera el embrión hexacanto, que atraviesa la mucosa gástrica e intestinal y vehiculizado por la circulación portal, llega al hígado.

La mayoría de embriones que llegan al hígado son fagocitados, otros se enquistan y una minoría puede atravesar la barrera hepática y llegar al pulmón, donde se embolizan en los capilares pulmonares. En el pulmón pueden ser fagocitados, enquistados o atravesar este segundo filtro y pasar a la circulación sistémica, pudiendo llegar a cualquier órgano.

En la zona de los pastos naturales de la serranía de nuestro país, prosperan el ganado lanar, el bovino, el porcino y los auquénidos; el hombre vive en estrecha comunidad con el ganado y los perros pastores. En el Perú, los departamentos con mayor incidencia son: Cerro de Pasco, Junín, Puno, Huancavelica, Ayacucho, Apurímac y Lima.³⁸

Según el Ministerio de Salud, en la ciudad de Lima los casos de hidatidosis humana se han incrementado durante el periodo de 1993 – 1998. Existiendo casos autóctonos; esto se explicaría debido a la migración de la población de áreas rurales que traen consigo animales como ovinos, y perros generalmente infectados con *Echinococcus granulosus*. La prevalencia de hidatidosis humana en la sierra sur y centro del Perú en el año 2000 y 2001 da resultados con mayor positividad para hidatidosis a Pasco 17,5 %, Apurímac y Ayacucho 13,73%, Huánuco 12 %, Junín 7,96 % y Ancash 11.³⁸

2.10. Diagnóstico de laboratorio

La equinococosis quística o hidatidosis es una infección parasitaria humana, cuyo diagnóstico de laboratorio es principalmente inmunoserológico. Sin embargo, son utilizados exámenes microscópicos dirigidos a la búsqueda de escólex en la orina, escólices y/o fragmentos de membrana en la expectoración bronquial, líquidos pleurales y abdominales, extraídos por punción del quiste, por ser riesgo de diseminación hidatídica de consecuencias imprevisibles y choque anafiláctico con riesgo de vida para el paciente.³⁹

2.10.1. Inmunodiagnóstico

Está basado en la detección de anticuerpos circulantes o células sensibilizadas contra los antígenos del quiste hidatídico. El inmunodiagnóstico de la hidatidosis humana, es de gran importancia, pues complementa el diagnóstico clínico en pacientes que presentan manifestaciones o imágenes compatibles con el quiste hidatídico.³⁹

Numerosos métodos inmunológicos fueron utilizados para el diagnóstico de la hidatidosis humana, así como: ELISA, fijación de complemento (FC); Intrademorreacción (IDR); Hemoaglutinación indirecta (HAI); Aglutinación de látex (AL); Inmunofluorescencia Indirecta (IFM); Inmunofluorescencia (IEF) y Doble Difusión Arco V (DD5). Siendo los métodos de IEF (Inmunolectroforesis) y DD5 considerados de referencia, en las áreas endémicas de los países de América del Sur. Por otro lado, recientemente fue demostrado el potencial uso del método de Inmunoblot o Western Blotting, en el diagnóstico de varias enfermedades, ofreciendo alta sensibilidad y especificidad con respecto a las anteriormente mencionadas.³⁹

Técnica de ELISA

La técnica de ELISA emplea antígenos de líquido de quiste hidatídico de *E. granulosus* (diagnóstico de hidatidosis), adheridos a soportes inertes (placa de

microtitulación) y antigammaglobulinas humanas conjugadas con enzimas como detectores de la reacción antígeno-anticuerpo, evidenciado por la liberación de color al actuar el sustrato. La lectura debe realizarse con el equipo lector de ELISA, utilizando filtros de 490 nm ó 492 y un filtro de referencia de 620 ó 630 nm. Presenta una sensibilidad de 98% y una especificidad de 60%.⁴⁰

Para que la reacción tenga validez, los controles deben reaccionar como tales.

La presencia o ausencia de anticuerpos anti-hidatídico de *E. granulosus*, se determina relacionando la absorbancia de la muestra con el valor de corte. Se ha definido el valor de corte (VC) como el promedio de lectura de los sueros controles no reactivos (XCN) + 2 desviaciones estándar (DS).⁴⁰

$$VC = XCN + 2DS$$

Reactivo: muestras con absorbancias mayores al valor de corte.

No reactivo: muestras con absorbancias igual o menores al valor de corte.

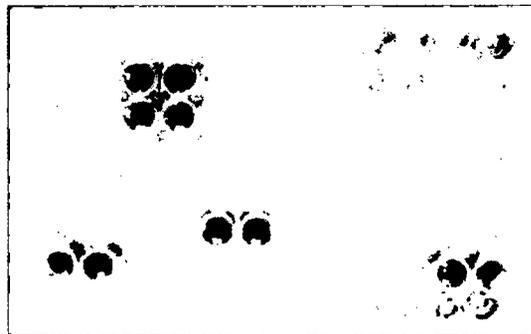


Figura 10. Placa de reacción de ELISA.⁴⁰

Se usa en muchos laboratorios para determinar si un anticuerpo particular está presente en la muestra de sangre de un paciente. Aunque el procedimiento es rutinario y sencillo, involucra a un gran número de variables, tales como selección de reactivo, temperatura, medición de volumen y tiempo, que si no se ajustan correctamente, puede afectar los pasos sucesivos y el resultado de la prueba. Como prueba diagnóstica, posee diversas limitaciones que conviene conocer:

En primer lugar, un resultado positivo que confirma la presencia de anticuerpos no significa necesariamente que el paciente esté enfermo. El cuerpo de una persona que ha estado enferma y que ya se ha recuperado puede seguir produciendo anticuerpos. Esto originaría un falso positivo.

En segundo lugar, hay personas que producen una baja cantidad de anticuerpos, por lo que estos pueden pasar desapercibidos y no ser medidos, dando lugar a un falso negativo. Sería el caso, por ejemplo, de personas que padezcan una

inmunodeficiencia, o que se encuentren en el periodo ventana de la infección en el momento de realizar la prueba, o que estén infectadas por una cepa extraña. En tercer lugar, pueden aparecer falsos positivos cuando se da inespecificidad entre antígeno-anticuerpo.³⁹

Técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de hidatidosis

Este método permite observar la reacción de los anticuerpos presentes en el suero de los pacientes frente al antígeno total de líquido hidatídico de *E. granulosus*. Los componentes proteicos de los parásitos, son separados por electroforesis y después transferidos a una membrana de nitrocelulosa, la membrana es incubada con el suero problema y luego con anti- IgG humano marcado con una enzima. Si el suero tiene anticuerpos, al agregar un sustrato cromógeno adecuado, se origina un producto insoluble que precipita formando bandas en las zonas de las proteínas antigénicas. Presenta una sensibilidad de 95% y una especificidad de 100%.⁴⁰

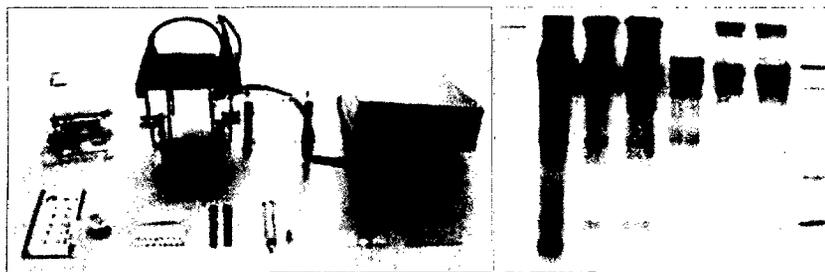


Figura 11. Equipo para electroforesis en gel de poliacrilamida y perfil proteico de antígenos.⁴⁰

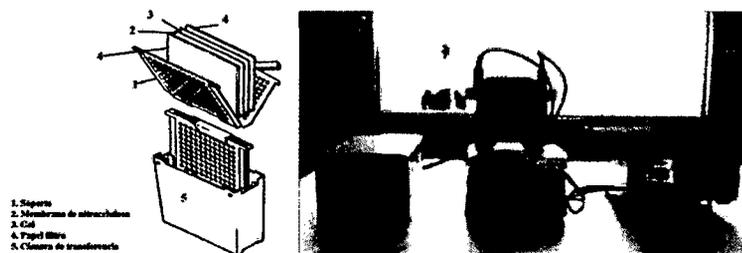


Figura 12. Transferencia del antígeno del gel a nitrocelulosa mediante electroforesis.⁴⁰

El criterio de positividad para el diagnóstico de hidatidosis es el reconocimiento de uno o más péptidos antigénicos de masas relativas (M_r) entre 21 y 31 kDa por anticuerpos específicos presentes en el suero del paciente. Por tanto la lectura consiste en visualizar en las tiras de nitrocelulosa, la presencia o ausencia de bandas de precipitación. En caso de presencia de bandas, anotar sus respectivas masas relativas (M_r) expresadas en kilodaltons (kDa).⁴⁰

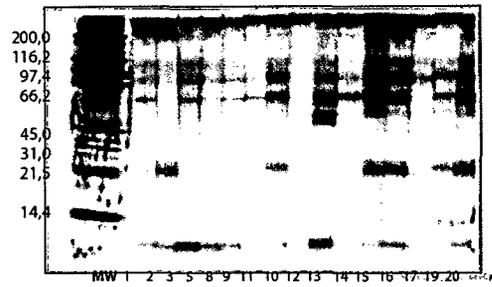


Figura 13. Bandas de precipitación Ag-Ac en el Inmunoblot, se observan bandas de 21 a 31 kDa.⁴⁰

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

3.1.1. Ubicación geográfica

El presente trabajo de investigación se realizó en el distrito de Hualla provincia de Víctor Fajardo, ubicado en la zona sur de la región Ayacucho.

Longitud: 73°56'56" Latitud: 13°50'42" Altitud: 3,341m.s.n.m

3.1.2. Ubicación política

Los límites territoriales del distrito son:

Por el Norte, con el distrito de Cayara (Provincia de Víctor Fajardo).

Por el Sur, con el distrito de Canaria (Provincia de Víctor Fajardo).

Por el oeste, con el distrito de Saccsamarca (Provincia de Huancasancos).

Por el este, con el río Pampas distrito de Accomarca (provincia de Vilcashuamán). La ciudad de Hualla, se encuentra dentro de la región sierra del departamento de Ayacucho, con dos centros poblados San Pedro de Hualla y Tiquihua⁴¹ (Ver anexo 1).

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Con una población escolar total de 577 estudiantes tales como las Instituciones Educativas de nivel primario: I.E. San Martín de Porres con 124 alumnos, I.E. Virgen de Fátima con 115 alumnos, I.E. N° 38480 con 68 alumnos; e instituciones educativas de nivel secundario: I.E. José Carlos Mariátegui con 200 estudiantes y I.E. César Vallejo con 70 estudiantes. Educación primaria con una población total de 307 estudiantes y educación secundaria con una población total de 270 estudiantes, según el registro de Estadística de la Calidad

Educativa del Ministerio de Educación (ESCALE), proporcionada por la Unidad de Gestión Educativa (UGEL)⁴² (ver anexo 1).

3.2.2. Muestra

Criterios de inclusión y exclusión para los alumnos participantes del estudio:

Inclusión: Escolares natural del distrito de Hualla, que fluctúen entre 6 a 18 años de edad, que acepten participar en el estudio y recolección de datos.

Exclusión: Escolares no naturales del distrito de Hualla; que no se encuentren dentro del intervalo de edad y aquellos que se rehúsen a participar en el estudio.

La muestra estuvo conformada por 265 escolares, con autonomía mental para responder las preguntas de la ficha epidemiológica y que aceptaron participar de manera voluntaria, cumpliendo con los criterios de inclusión y exclusión. La participación de los niños fue previa autorización de los padres o apoderados y firma del consentimiento informado. Se incluyó a estudiantes voluntarios de 6 a 18 años de edad donde firmaron el asentimiento informado (ver anexo 3). Estas fueron seleccionadas para el presente estudio, porque constituyen un medio importante para poder determinar a qué nivel se encuentra la seroprevalencia de equinocosis quística y factores de riesgo asociado.

El número mínimo del marco muestral fue de 192 escolares, determinadas mediante la fórmula estadística usualmente aplicada en una población finita, definida a continuación:

$$n = \frac{Z^2 P (1 - P) N}{E^2(N-1) + Z^2 P (1 - P)}$$

Dónde:

n = tamaño de la muestra.

z = nivel de confianza.

N = tamaño de la población.

p = probabilidad a favor.

q = probabilidad en contra.

e = error de estimación.

Para este estudio el nivel de confianza (z) es del 95 % al que corresponde un valor de 1,96 según la tabla bajo la curva normal de estadística. El tamaño de la población (N) es de 577 escolares (N primario = 307, N secundario = 270); la

probabilidad de ocurrencia favorable (p) es de 10,5% y la probabilidad de ocurrencia en contra (q) es de 89,5%, un error de estimación (e) del 5%. Con estos datos se determinó que el tamaño de la muestra (n) es de 192 escolares incluidos en el estudio. Estas fueron recolectadas por el método “aleatorio estratificado”.⁴³

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Primera etapa:

Captación de la población a estudiar

Se realizó una previa coordinación y presentación del proyecto de investigación a las autoridades del Laboratorio de Referencia Regional–DIRESA Ayacucho, para su apoyo en la toma de muestras sanguínea y conservar los sueros sanguíneos en congelación hasta su traslado a Lima para su respectivo procesamiento. Se coordinó con las autoridades representativas del Centro de Salud Hualla (Director y personal de Comunidades Locales de Administración en Salud), para su apoyo en la sensibilización de los escolares, llenado de las fichas epidemiológicas, la toma y separación del suero sanguínea.

Se coordinó con las autoridades de la municipalidad distrital de Hualla para su apoyo en la convocatoria de los padres de familia a una reunión para ser sensibilizados y permitir la participación de sus hijos menores (ver anexo 5).

Se coordinó con los directores de cada Institución Educativa para obtener el registro de matrículas y realizar charlas educativas acerca de la hidatidosis y sensibilizar a los padres de familia y alumnos.

El marco muestral de las 05 instituciones educativas se obtuvo a través del método de selección aleatorio estratificado distribuido proporcionalmente para las 05 instituciones educativas y de esta manera tengan la misma probabilidad de ser elegidos:

Tabla 2. Población y marco muestral de las 5 instituciones educativas, del distrito de Hualla, Ayacucho.

POBLACION	MUESTRA
N total=577	n total = 192
N primaria = 307	n primaria=98
N secundaria = 270	n secundaria= 94

Obteniendo las muestras de cada institución proporcionalmente al tamaño de la población de cada institución con la condición de la muestra en educación primaria: 98 y muestra de educación secundaria: 94.

Tabla 3. Número de muestras de cada institución educativa del distrito de Hualla, Ayacucho.

POBLACIÓN		MUESTRAS	
N1	124	n1	39
N2	115	n2	37
N3	68	n3	22
N4	200	n4	70
N5	70	n5	24
N	577	n	192

Una vez obtenida las muestras, se tuvo que listar (enumerar) a los alumnos de cada institución utilizando los registros de matrícula.

Por ejemplo a la I.E. San Martín de Porres: del 1, 2, 3, 4, 5, 6,...124 y escoger con números aleatorios solo 39 alumnos.

Debido a la accesibilidad que tuvimos se logró tomar un total de 265 muestras sanguíneas superando el número mínimo establecido.

3.3.2. Segunda etapa

Recolección de la Información

La recolección de la información se realizó teniendo en cuenta las normas de análisis, que tuvieron como propósito asegurar la confiabilidad de las pruebas analíticas que se realizaron en este estudio.

a. Fase Pre-analítica

Recolección de la ficha epidemiológica

- Las fichas epidemiológicas fueron validadas por el comité de ética del Instituto Nacional de Salud (ver anexo 13), así mismo se realizó un ensayo piloto de la aplicación de la encuesta con 20 niños de la población de Hualla, validando así las fichas epidemiológicas.
- A cada escolar participante que cumplió con los criterios de inclusión se le tomó una encuesta, cuyos datos se registraron en la ficha epidemiológica (ver anexo 5), las que fueron utilizados para la construcción de los cuadros estadísticos, esta ficha fue utilizada como instrumento encuesta-entrevista estructurado para determinar los factores epidemiológicos y para registrar los resultados del diagnóstico serológico a equinocosis quística. Se recolectaron muestras sanguíneas acompañado del uso de fichas epidemiológicas donde indican datos del paciente, datos epidemiológicos,

datos de la enfermedad y datos del investigador. A sí mismo se adjuntó la hoja de consentimiento informado.

Toma de muestra sanguínea:

- La toma de muestra se realizó utilizando el consentimiento informado firmado por los padres o apoderados, asentimiento informado de los niños y el llenado de la ficha clínico-epidemiológica que fue llenada previo a la toma de muestras (ver anexo 2 y 3).
- El suero sanguíneo se obtuvo de la sangre venosa del brazo del paciente por punción con la ayuda de un capuchón (tubos al vacío sin anticoagulante). Se obtuvo entre 5 y 7 ml de sangre la cual se depositó y se dejó en reposo aproximadamente unos 20 minutos para posteriormente centrifugar a 2 500 rpm durante 10 minutos. El suero sanguíneo se separó con la ayuda de una pipeta Pasteur; pasándose a viales de 2 ml de capacidad, los cuales se conservaron a 4° C. Cada vial fue rotulado con la identificación de cada participante.
- Todo este procedimiento fue evaluado según el registro de calidad de toma de muestra sanguínea en tubos al vacío (ver anexo 6).

b. Fase analítica

• Procesamiento en laboratorio:

La toma y recolección de muestras se realizó en los ambientes del Laboratorio local del Centro de Salud de Hualla, observando las medidas de bioseguridad, las cuales fueron transportadas bajo refrigeración para su conservación al Laboratorio de Referencia Regional-DIRESA Ayacucho, para su posterior envío al Laboratorio Referencial de Zoonosis Parasitaria.

En el laboratorio de Referencia Nacional de Zoonosis Parasitaria del INS se realizó el procesamiento de los sueros sanguíneos para determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra la larva *Echinococcus granulosus*, mediante la prueba de ELISA, esta técnica emplea antígenos de líquido de quiste hidatídico adheridos a soportes inertes y antigamaglobulinas humanas conjugadas con enzimas como detectores de la reacción antígeno-anticuerpo, evidenciándose por la formación de color al actuar el sustrato; presenta una sensibilidad de 98% y una especificidad de 60%. Asimismo los resultados que dieron positivos por esta prueba, fueron confirmados mediante la técnica de Inmunoblot.

Procedimiento de la técnica de ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para diagnóstico de equinococosis quística humana.⁴⁰

Solución antigénica de líquido hidatídico: El líquido del quiste hidatídico (LQH) de *Echinococcus granulosus* se extrajo de quistes de hígado de ovino, estas fueron purificadas mediante diálisis y llevadas a la concentración de 1 µg de proteínas/µL, diluido 1/100 en tampón Tris/HCl 0,01 M, pH 7,5.

- Se sensibilizó la placa de microtitulación colocando 100 µL por pozo de solución antigénica.
- Se cubrió la placa de microtitulación con tapa o parafilm y luego se incubó a 4°C durante toda la noche.
- Se retiró del refrigerador la placa sensibilizada con solución antigénica y se vació el contenido de los pozos.
- Se bloquearon los sitios inespecíficos mediante la adición de 100 µL en PBS-Tween 0,05% -Leche descremada al 5% en cada pozo.
- Se cubrió la placa e incubó en estufa a 37°C por 30 minutos.
- Se lavaron los pozos de la placa adicionando a cada uno de ellos 200 µL de PBS- Tween 0,05%, utilizando lavador de microplacas.
- Repetimos el lavado por cuatro veces más, en el último lavado se eliminó el líquido residual, invirtiendo la placa sobre el papel absorbente (aplicar golpes firmes).
- Se añadieron en los pozos respectivos lo siguiente: suero control positivo (SCP), suero control negativo (SCN), ambos diluidos 1/500 (en solución diluyente), 100 µL por pozo (2 pozos por control); suero problema (SP) diluido a partir de 1/500 (en solución diluyente), 100 µL por pozo.
- Se cubrió la placa e incubó a 37°C por una hora.
- Se descartó el contenido de los pozos sobre un recipiente conteniendo hipoclorito de sodio al 5%, mediante la inversión de la microplaca.
- utilizando lavador de microplacas, se lavaron los pozos de la placa adicionando a cada uno de ellos 200 µL de buffer fosfato salino PBS- Tween 0,05%.
- Se repitió el lavado por cuatro veces más, en el último lavado se eliminó por completo el líquido residual, invirtiendo la placa sobre el papel absorbente (aplicar golpes firmes).
- Se colocó en cada pozo 100 µL de anti IgG humano peroxidasa de rabano (HRP) diluido 1/1000.

- Se incubaron en estufa a 37° C por una hora.
- Se lavaron los pozos de la placa al igual que en los pasos anteriores.
- Se colocó en cada pozo de la placa 100 µL de sustrato.
- Se dejó a oscuridad a temperatura ambiente por 15 minutos.
- Se detuvo la reacción adicionando 25 µL de ácido sulfúrico 2,5 M en cada pozo.
- Todo este procedimiento se evaluó mediante un registro de calidad de la técnica de ELISA IgG, según el registro 2 (ver anexo 7).

Técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de equinocosis quística
Etapas I: Separación de las proteínas del antígeno por electroforesis en gel de poliacrilamida conteniendo Dodecil Sulfato de Sodio (SDS-PAGE).⁴⁰

- La separación de las proteínas, componentes antigénicos proteicos por SDS-PAGE se realizó, empleando un sistema discontinuo en el gel de separación y en el gel de empaquetamiento. Un sistema vertical (Mini Protean II electroforesis Cel, BIORAD) resulta apropiado para realizar la separación de las proteínas.

Antígeno

- El antígeno total del líquido hidatídico de ovino (ATLH-O), liofilizado, fue suspendido en un buffer Tris/HCl 0,05 M; pH 8,0 en concentración de 50 mg/mL y centrifugado a 3500 rpm por 30 minutos.
- El sobrenadante se conservó entre -40°C y -70°C hasta el momento de su uso.

Tratamiento del antígeno

El antígeno total de líquido de quiste hidatídico de ovino (ATLH-O) se diluyó volumen a volumen, con una solución de tratamiento de muestra, luego se adicionó un colorante marcador de corrida a razón de 1 µL por cada 30 µL de muestra. El antígeno fue sometido a Baño María a 100°C por 5 minutos.

Preparación del gel de separación o de corrida para el modelo Mini Protean II, BIO-RAD.⁴⁰

- Se usaron dos placas de vidrio de 73 mm de alto x 102 mm de ancho x 1 mm de espesor y dos espaciadores de plástico de 0,75 mm de espesor.
- Se limpiaron las placas de vidrio con alcohol y se secó.

- Se montaron las placas, empleando los espaciadores untados con una capa fina de vaselina neutra para unir las placas.
- Luego se preparó el gel en la concentración de 15%.
- Se encajaron las placas en un soporte.
- Con auxilio de una jeringa se colocó el gel en el espacio de las placas montadas hasta 65 mm de altura e inmediatamente se completó con agua destilada.
- Se dejó polimerizar a temperatura ambiente por 30 minutos.

Aplicación del gel de empaquetamiento para el modelo Mini Protean II, BIO-RAD

- Se eliminó el agua destilada de la parte superior del gel, con ayuda de una jeringa.
- Se secó con papel filtro la superficie del gel de separación.
- Se colocó el gel de empaquetamiento preparado sobre el gel de separación e inmediatamente insertar un peine preparativo de 1 mm de espesor, dejando un espacio entre el fondo del peine y el gel de separación.
- Se dejó polimerizar a temperatura ambiente por 30 minutos.

Preparación de la electroforesis

- Se retiró el peine y se lavan las cavidades que deja con buffer de corrida.
- Se cargó 25 μL de antígeno (concentración 3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de proteínas) en la cavidad del gel de empaquetamiento.
- En las cavidades del extremo derecho de este gel, se cargó 5 μL de proteínas de peso molecular patrón y 3 μL de peso molecular patrón preteñido.
- Luego se adicionó aproximadamente 200 mL buffer de corrida en el recipiente superior y 300 mL del mismo buffer en el recipiente inferior de la cubeta, para iniciar la corrida electroforética.

Corrida electroforética

- Se conectaron los terminales eléctricos en la fuente de poder. La electroforesis se efectúa a 15 mA por gel.
- Se prestó atención al colorante marcador de corrida.
- Cuando los complejos SDS-proteínas entraron uniformemente en el gel de separación o de corrida, la corriente fue aumentada a 30 mA por gel.
- Se desconectaron los sistemas cuando el colorante marcador de corrida alcanza la base del gel de separación.

Etapa II: Transferencia de proteínas del gel de poliacrilamida a la membrana de nitrocelulosa.⁴⁰

- Las proteínas fueron transferidas electroforéticamente del gel hacia la membrana de nitrocelulosa con poros de 0,22 μm , empleando una cámara de electroforesis.

Preparación de la transferencia

- En un recipiente conteniendo buffer de transferencia se colocó, el gel sobre una membrana de nitrocelulosa. Estos a su vez, se colocaron entre dos hojas de papel filtro embebidas en el mismo buffer.
- El conjunto de gel, nitrocelulosa y papel de filtro se colocaron entre dos esponjas de 3 mm de espesor y a su vez todo este conjunto quedaron empaquetados en una misma pieza plástica con perforaciones en ambos lados.
- Enseguida, este conjunto, fueron encajados en una cámara de transferencia, con el gel colocado hacia el cátodo y la membrana de nitrocelulosa hacia el ánodo.

Electrotransferencia

- La Electrotransferencia se efectuó utilizando una corriente eléctrica constante de 55 voltios por una hora, variando de 1,5 amperios a 10°C al inicio hasta 2,05 amperios a 35°C al final del proceso.
- Finalizada la electrotransferencia, se retiró la membrana de nitrocelulosa y se lavó 5 veces por 5 minutos cada lavado utilizando buffer fosfato salino (PBS) 0,01M pH 7,2; conteniendo 0,3% de Tween 20 (PBS-T) y 1 vez más con PBS sin Tween.
- Se cortó la tira de nitrocelulosa que contiene los patrones de peso molecular y se coloreó con solución al 1% de tinta china.
- luego se cortó la membrana de nitrocelulosa conteniendo las proteínas del antígeno, en tiras de 3 mm de ancho y se guardó a 4°C hasta el momento de su uso.

Etapa III: Reacción inmunoenzimática.⁴⁰

- Se emplearon placas de plástico divididas en compartimentos.
- Se colocaron las tiras de nitrocelulosa conteniendo el antígeno hidatídico en los compartimentos de las placas.

- Se incubaron las tiras con PBS-T conteniendo 5% de leche descremada (PBS- TL) por 30 minutos a temperatura ambiente y en agitación.
- Se descartó el PBS-TL y se colocó los sueros problemas diluidos a 1:100 en PBS-TL e incubó por 1 hora.
- Se lavaron las tiras 5 veces por 5 minutos cada una, con PBS-T.
- Luego se adicionó una solución de anti-IgG humano marcado con peroxidasa diluida a 1:1000 en PBS-TL y se incubó por 1 hora.
- Se lavaron las tiras 5 veces por 5 minutos cada una con PBS-T y 1 vez más con PBS sólo.
- Se reveló la reacción adicionando una solución conteniendo 5mg de diaminobencidina (DAB) 10µL de H₂O₂ (30%) por cada 10 mL de PBS.
- Luego de visualizar las bandas, se lavaron las tiras varias veces con agua deionizada.
- Luego se dejaron secar las tiras a temperatura ambiente en la oscuridad.
- Todos estos procedimientos fueron evaluados mediante un registro de calidad de la técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de equinococosis quística por etapas (I, II, III) según el registro 3 (ver anexo 8).

c. Fase Post- analítica

• Lectura e interpretación de resultados ELISA

Lectura: La lectura se realizó con el equipo de ELISA, utilizando filtros de 490 ó 492 nm y un filtro de referencia de 620 ó 630 nm.

Para que la reacción tenga validez, los controles deben reaccionar como tales. La presencia o la usencia de anticuerpos de *Equinococcus granulosus* se determinó relacionando la absorbancia de la muestra con el valor de corte. Se definió el valor de corte (VC) como promedio de lectura de los sueros controles no reactivos (XCN) + 2 Desviación estándar (DS).

$$VC = XCN + 2DS$$

Reactivo: muestras con absorbancia mayores al valor de corte.

No reactivo: muestras con absorbancias igual o menores al valor de corte.

Resultado:

Positivo: se detectó la presencia de anticuerpos contra antígenos de *Equinococcus granulosus*, lectura reactiva.

Negativo: no se detectó la presencia de anticuerpo de antígenos de *Equinococcus granulosus*, lectura no reactiva.⁴⁰

• **Lectura e interpretación de resultados Inmunoblot**

Consistió en visualizar en las tiras de nitrocelulosa, la presencia o ausencia de bandas de precipitación.

• **Informe de resultados**

El criterio de positividad para el diagnóstico de la equinocosis quística, empleando antígeno hidatídico preparado en el INS, está condicionado al reconocimiento de uno o más péptidos antigénicos de masas relativas (Mr) entre 21 y 31 kDa por anticuerpos presentes en el suero del paciente.⁴⁰

Los resultados del diagnóstico fueron registrados según las tablas que se muestran en el anexo 9 y 10.

• **Beneficios del sujeto de investigación**

Los exámenes fueron gratuitos y no se publicaron información alguna de los resultados, manteniéndose en el anonimato, solo estuvo disponible a los padres de los alumnos que se les realizó el estudio. Además se citó a los padres de los casos confirmados por Inmunoblot para la equinocosis quística e iniciarse el proceso de referencia al Ministerio de Salud (MINSA) o *Essalud* a través del Seguro Integral de Salud (SIS) para su tratamiento médico, este proceso fue realizado por el personal responsable del Centro de Salud Hualla.

3.4. Tipo de investigación

Descriptivo - Transversal

3.5. Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos descriptivos a través de tablas de frecuencia, distribución porcentual con el software Excel de acuerdo a las variables de estudio.

Así mismo se realizaron análisis de estadística inferencial realizando un muestreo aleatorio a la población escolar con intervalo de confianza (IC) al 95 %. Donde se evaluó la existencia de asociación significativa entre los factores de riesgo se usaron pruebas no paramétricas como Ji- cuadrado y la razón de probabilidad Odds Ratio (OR) permitiéndonos medir la fuerza de asociación utilizando el paquete estadístico SPSS21.

3.6. Aspectos éticos y legales

La presente investigación fue evaluada por el comité de ética del Instituto Nacional de Salud, debido a que se involucraron la participación de humanos (ver anexo 13).

IV. RESULTADOS

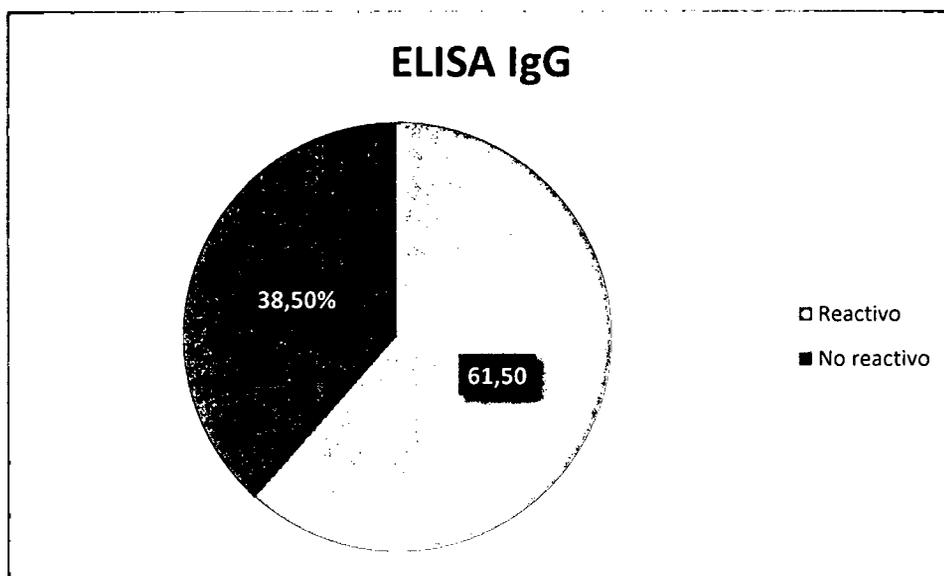


Figura 14. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla determinado por la técnica de ELISA. Ayacucho, 2013.

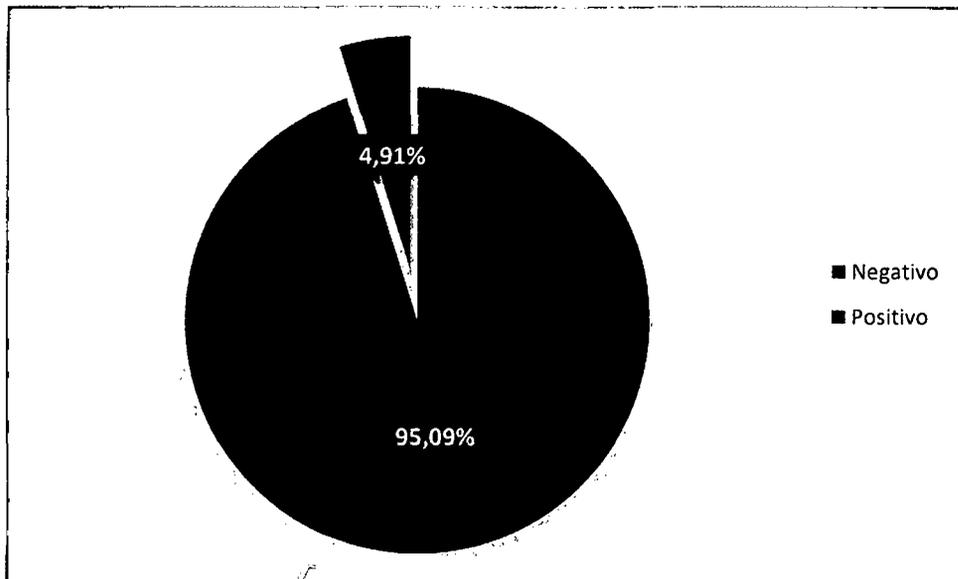


Figura 15. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla determinado por la técnica de Inmunoblot.

Tabla 4. Seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla, según edad y sexo. Ayacucho, 2013.

Variables	Hidatidosis				Total	Valor P	
	Positivos		Negativos				
	Nº	%	Nº	%			
Edad (años)	De 6 a 12	6	4,44	129	95,56	135	0,72
	De 13 a 18	7	5,38	123	94,61		
Sexo	Masculino	5	3,70	130	96,30	135	0,36
	Femenino	8	6,20	122	93,80	130	

Tabla 5. Seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla, según localidad, nivel de educación e Institución Educativa. Ayacucho, 2013.

Variables	Hidatidosis				Total	Valor P	
	Positivos		Negativos				
	Nº	%	Nº	%			
Localidad	San Pedro de Hualla	11	5,70	182	94,30	193	0,33
	Tiquihua	2	2,80	70	97,20		
Nivel de educación	Primaria	6	4,30	133	95,70	139	0,64
	Secundaria	7	5,60	119	94,40	126	
Institución educativa	San Martín de Porres	1	2,30	43	97,70	44	0,25
	César Vallejo	2	6,70	28	93,30	30	
	I.E. Nº 38480	0	0,00	42	100,00	42	
	José Carlos Mariátegui	5	5,20	91	94,80	96	
	Virgen de Fátima	5	9,40	48	90,60	53	

Tabla 6. Seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla, y conocimiento del quiste hidatídico. Ayacucho, 2013.

Nivel de conocimiento		Hidatidosis				Odds Ratio			Valor P
		Positivos		Negativos		Valor	I.C. (95%)		
		Nº	%	Nº	%		Inf.	Sup.	
¿Conoce el quiste hidatídico?	No	11	84,62	205	81,27	1,26	0,26	5,87	0,77
	Si	2	15,38	47	18,73				

Tabla 7. Seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla, y el saneamiento básico de su vivienda. Ayacucho, 2013.

Saneamiento Básico	Hidatidosis					Odds Ratio		Valor P	
	Positivos		Negativos		Valor	I.C. (95%)			
	Nº	%	Nº	%		Inf.	Sup.		
¿Cuenta con sistema de desagüe?	No	11	76,92	123	48,81	5,37	1,25	26,55	0,01
	Si	2	23,08	129	51,19				

Tabla 8. Seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla, y presencia del hospedero definitivo. Ayacucho, 2013.

Hospedero definitivo		Hidatidosis				Odds Ratio			Valor P
		Positivos		Negativos		Valor	I.C. (95%)		
		Nº	%	Nº	%			Inf.	Sup.
¿Cría perros en casa?	Si	11	84,60	212	84,10	1,03	0,22	4,86	0,96
	No	2	15,40	40	15,90				
Número de perros que cría	3 a más	5	45,50	40	19,30	3,47	1,01	11,97	0,03
	1 a 2	6	54,50	167	80,70				
¿Desparasita a su perro?	No	10	90,90	186	90,70	1,02	0,12	8,41	0,98
	Si	1	9,10	19	9,30				

Tabla 9. Seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla, y presencia de los hospederos intermediarios. Ayacucho, 2013.

Hospedero intermediario		Hidatidosis				Odds Ratio			Valor P
		Positivos		Negativos		Valor	I.C. (95%)		
		Nº	%	Nº	%		Inf.	Sup.	
Bovino	Si	9	69,23	202	80,16	0,55	0,16	1,88	0,34
	No	4	30,77	50	19,84				
Ovino	Si	10	76,92	180	71,43	1,33	0,35	4,98	0,67
	No	3	23,08	72	28,57				
Caprino	Si	2	15,38	71	28,17	0,46	0,10	2,14	0,31
	No	11	84,62	181	71,83				
Porcinos	Si	1	7,69	14	5,56	1,41	0,17	11,68	0,73
	No	12	92,31	238	94,44				
Equinos	Si	1	7,69	73	28,97	0,20	0,02	1,60	0,09
	No	12	92,31	179	71,03				

Tabla 10. Seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla, en relación al beneficio del ganado y disposición de las vísceras contaminadas. Ayacucho, 2013.

Beneficio del ganado/disposición de vísceras		Hidatidosis				Odds Ratio			Valor P
		Positivo		Negativo		I.C. (95%)			
		Nº	%	Nº	%	Valor	Inf.	Sup.	
¿Dónde beneficia a su ganado?	Dentro de casa	13	100,00	239,00	100,00				
	Camal	0,00	0,00	0,00	0,00				
¿Cómo dispone las vísceras contaminadas con quiste hidatídico de su animal beneficiado?	Alimenta al perro	10	76,90	104	43,50	4,32	1,16	16,12	0,02
	Lo elimina	3	23,10	135	56,50				

Tabla 11. Seroprevalencia de equinocosis quística en escolares del distrito de Hualla, con relación a la higiene personal. Ayacucho, 2013.

Higiene personal	Hidatidosis				Odds Ratio			Valor P	
	Positivos		Negativos		Valor	I.C. (95%)			
	Nº	%	Nº	%		Inf.	Sup.		
¿Se lava las manos antes de consumir sus alimentos?	No	7	53,85	163	64,68	0,63	0,20	1,95	0,43
	Si	6	46,15	89	35,32				
¿Se lava las manos después de entrar en contacto con el perro?	No	10	76,92	192	76,19	1,04	0,27	3,90	0,95
	Si	3	23,08	60	23,81				

Tabla 12. Seroprevalencia de equinococosis quística en relación al consumo de vegetales de tallos cortos en escolares del distrito de Hualla. Ayacucho. 2013.

Consumo de vegetales		Hidatidosis				Odds Ratio			
		Positivos		Negativos		Valor	I.C. (95%)		Valor P
		Nº	%	Nº	%		Inf.	Sup.	
¿Consume vegetales de tallos cortos?	Si	13	100,00	224	88,89	0,94	0,91	1,01	0,20
	No	0	0,00	28	11,11				
¿En qué forma lo consume?	Cruda	9	69,23	153	68,30	1,04	0,31	3,50	0,94
	Cocida	4	30,77	71	31,70				

V. DISCUSIÓN

En el gráfico 1, se observa una prevalencia de 61,50% a equinocosis quística en escolares del distrito de Huálla. García,⁴ el 2004 en la investigación seroprevalencia de hidatidosis en escolares de Huancasancos, Ayacucho, utilizando la técnica de ELISA como prueba de tamizaje halló 17 casos por ELISA y 6 fueron confirmadas por Inmunoblot. Así mismo García el 2005 en la investigación seroprevalencia de hidatidosis humana en población adulta de Sancos, Ayacucho, halló una mayor prevalencia por la técnica de ELISA las cuales fueron confirmadas por Inmunoblot.⁵

La técnica de ELISA se usó para el tamizaje de los 265 niños, permitiéndonos trabajar solo con aquellos con densidades ópticas mayores al valor de corte, para su posterior confirmación. Debido a su alta sensibilidad de 98%⁴⁰ esta prueba no solo capta anticuerpos frente a *Equinococcus granulosus* sino también a otros cestodos y protozoarios. Por tanto al obtener una elevada prevalencia de 61,50% por esta técnica; indica que estos niños aparte de los 13 diagnosticados como positivos confirmados, presentan otro tipo de parasitosis.

En el gráfico 2, se muestra la seroprevalencia 4,91% (13) de hidatidosis humana en población escolar del distrito de Hualla mediante la prueba confirmatoria de Inmunoblot. García,⁴ el 2004 en la investigación seroprevalencia de hidatidosis en escolares de Huancasancos, Ayacucho, halló una prevalencia de 1,27% mediante la técnica de Inmunoblot. Así mismo García,⁵ el 2005 en la investigación seroprevalencia de hidatidosis humana en población adulta de Sancos, Ayacucho, halló una prevalencia de 3,70% mediante la técnica de Inmunoblot. Mientras que Rojas,⁶ en el 2006 en la investigación prevalencia de hidatidosis humana en el distrito de Quinoa halló una prevalencia de 2,60% mediante la prueba confirmatoria de Inmunoblot. Por otro lado Núñez,¹⁴ en el 2003 en la investigación prevalencia y factores de riesgo de hidatidosis en población general del distrito de Ninacaca, Pasco, halló una prevalencia de

8,80% mediante la prueba de Inmunoblot. Del mismo modo Gavidia,³ en el 2008 en su investigación diagnóstico de la equinocosis quística, en la sierra central peruana (Yanahuanca, Cerro de Pasco) halló una prevalencia de 8,90 mediante la técnica de Inmunoblot. Por otro lado Moro,¹⁸ en el 2005 en su investigación detección de la Equinocosis quística en una región endémica del Perú (Canchaylo, Junín) utilizando ecografía portátil y la inmunoelectrotransferencia ligado a enzima (Inmunoblot) halló una prevalencia de 4,90% y 2,60% respectivamente. En tanto Alva,¹³ en el 2000 en la investigación encuesta serológica para la hidatidosis humana por la prueba de doble difusión Arco 5 en la provincia de Chupaca, Junín, se detectó 6,8% de casos seropositivos a hidatidosis.

En otras investigaciones internacionales. Lorca,¹¹ en el 2006 en la investigación seroprevalencia de hidatidosis humana en la región de Coquimbo, Chile halló una prevalencia de 2,50% mediante la técnica de ELISA. Por otro lado Ulgel,⁹ en el 2007 en un estudio basada en la provincia, para investigar la prevalencia de la hidatidosis en niños de la escuela primaria de Manisa, Turquía halló una prevalencia de 0,15% mediante un escáner de ultrasonido portátil. En tanto Fotiou,⁸ en el 2012 en la investigación seroprevalencia de anticuerpos IgG contra *Echinococcus granulosus* en la población de la región de Tesalía, Grecia Central, halló una prevalencia de 1,10% mediante el ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima (ELISA).

Actualmente, el diagnóstico de la equinocosis quística está basado en la combinación de métodos de imagen como: ecografía, radiografía, tomografía computarizada, resonancia magnética, rayos X; y ensayos serológicos, principalmente análisis inmunoenzimático (ELISA) e Inmunoblot, este último habitualmente utilizado como técnica de confirmación de los casos sospechosos.⁴⁴

La prevalencia hallada en el presente estudio fue 4,91% (13) determinada mediante la prueba confirmatoria de Inmunoblot al igual que los otros estudios realizados dentro de la región Ayacucho como Huancasancos, Sancos y Quinua, donde usaron la misma técnica de diagnóstico. La prueba confirmatoria de Inmunoblot es un método que permite observar la reacción de los anticuerpos presentes en el suero de los pacientes frente al antígeno total de líquido hidatídico (ATLH) de *E. granulosus*. Los componentes proteicos de los parásitos, son separados por electroforesis y luego transferidos a una membrana de

nitrocelulosa, la membrana es incubada con el suero problema y luego con anti-IgG humano marcado con una enzima. Si el suero tiene anticuerpos, al agregar un sustrato cromógeno adecuado, se origina un producto insoluble que precipita formando bandas en las zonas de las proteínas antigénicas. Esta prueba presenta una sensibilidad y especificidad de 95% y 100% respectivamente.⁴⁰

La alta prevalencia de equinocosis quística en el distrito de Hualla se debe a la falta de un buen manejo en la crianza de ganado, la ganadería no es su actividad principal, generalmente es para su consumo propio y el beneficio es dentro de sus viviendas,⁴⁶ donde al encontrar vísceras contaminadas con quiste hidatídico estas son utilizadas para alimentar al perro. El porcentaje de casos en escolares en la presente investigación (4,91%) es mayor en comparación a lo reportado por García en niños de edad escolar (1,27%) y adultos (3,70%) de la provincia de Huancasancos, a pesar de que su fuente principal de economía es la ganadería la prevalencia es menor, esto debido a que la crianza es más tecnificada e implementada con proyectos de mejoramiento de pastos permitiendo así condiciones adecuadas que reducen la prevalencia de esta parasitosis.

Por otro lado en la provincia de Quinua, su principal actividad económica es el turismo y la agricultura, por tanto la crianza de ganados es menor, por ende la prevalencia de equinocosis quística es menor.⁶ En cuanto a los estudios realizados por Núñez y Gavidia en el distrito de Ninacaca y Yanahuanca del departamento de Cerro de Pasco se halla una prevalencia alta de 8,80% y 8,90% respectivamente, mediante la técnica de Inmunoblot; siendo esta mayor con respecto al presente estudio, esto debido a que en esta zona la principal actividad económica es la ganadería, crían principalmente ovinos y auquénidos. El beneficio de ganados es informal; solo se observa mataderos sin control sanitario, los cuales reciben diariamente alrededor de 300 cabezas de ganado ovino. Existen dos mataderos importantes y un sin número de mataderos caseros; además se observa la inevitable crianza de perro como mascotas y que constituyen una mano de obra importante en el pastoreo del ganado.¹⁴

Por otro lado Alva halló una prevalencia de hidatidosis en escolares del distrito de Junín (Chupaca), donde detectó un 6,80% de casos mediante la prueba de doble difusión de Arco 5. Esta prueba se basa en la detección de anticuerpos contra el antígeno 5. Como criterio de positividad, es considerado actualmente como la prueba de referencia para el diagnóstico inmunológico de la hidatidosis humana.

No se han observado resultados positivos en pacientes no hidatídicos. La detección del arco 5 confirma inmunológicamente la enfermedad, la ausencia de este arco no descarta la posibilidad de hidatidosis; presenta una sensibilidad y especificidad de 65% y 95%; ya no es muy utilizada debido a su baja sensibilidad y es probable que la prevalencia de hidatidosis de 6,80% encontrada en escolares de Chupaca, Junín, sea mayor. A pesar que las reacciones positivas a la DD5 confirman serológicamente la enfermedad, en algunos estudios se han demostrado que la prueba da reacciones cruzadas en paciente con cisticercosis.¹³ Cinco años más tarde Moro determina una mayor prevalencia (similar al presente estudio), por diagnóstico ecográfico (4,90%) que por serológico (2,60%) en Canchayllo Junín. Las pruebas ecográficas es útil tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos, presentan una sensibilidad y especificidad de 100% y 97% respectivamente, detectan quistes calcificados y homogéneos. La prueba serológica puede no detectar casos solo cuando el quiste se encuentra calcificado o intacto donde no haya ningún derramamiento de líquido y por lo tanto no se formen anticuerpos; o por reacciones cruzadas por otro tipo de Cestodos; esto explicaría la baja prevalencia en cuanto a la prueba serológica.³ Por tanto con respecto al porcentaje serológico la prevalencia es mayor en el presente estudio; y es muy probable que la prevalencia de 4,91% de equinocosis quística en escolares de Hualla sea mayor al utilizar diagnósticos por imagen. En Junín la principal actividad económica es la ganadería, crían principalmente ovinos con una prevalencia de infección de 89% y emplean al perro para el pastoreo del ganado y donde su prevalencia de infección es de 33%.¹⁶

La prevalencia alta en el presente trabajo, a diferencia de los otros países endémicos, se debe a varios factores. Uno de los mas importantes, es debido a la ausencia de un programa integral de control de la hidatidosis, así como principalmente en los departamentos de Pasco, Junín, Huancavelica y Puno.¹⁸

En cuanto a las investigaciones internacionales, en la actualidad la prevalencia en ellos es menor, ya que países como, Argentina, Chile, Uruguay mantienen sus medidas de control contra esta parasitosis, basados en la desparasitación de perros con Praziquantel cada 45 días, así como una legislación para regular la población canina, control de faena en mataderos oficiales y educación sanitaria. Todas estas actividades son consideradas exitosas para la disminución de la prevalencia e incidencia de hidatidosis humana y animal.^{45, 19} Lorca determina

una prevalencia de 2,50% en Chile, esta proporción es mayor en comparación a los años anteriores, si bien Chile es considerado como un país endémico se había logrado disminuir los casos positivos en muchas regiones excepto la región de Coquimbo por mostrar las mayores alzas en ganado ovino como caprino.¹⁰ Por otro lado en países europeos como Turquía y Grecia reportan prevalencias bajas, a pesar de ser países altamente ganadero, la infección es menor, debido a que la crianza de ganado es muy tecnificada e implementada, es así que en Grecia se han implementado programas de vigilancia, donde muchos de incineran las vísceras infectadas impidiendo el acceso de los perros hacia el parásito. Como resultado el ciclo biológico de *Equinococcus granulosus* se está restringiendo.^{8,9}

En la tabla 4, se obtuvo una prevalencia con respecto a la edad, ligeramente mayor en niños de 13 a 18 años con un 5,38% (7). En cuanto al sexo hay una mayor prevalencia en mujeres de 6,20% (8). Al realizar la prueba de Ji-cuadrado, se observa que ninguna de estas variables están asociadas a la presencia de equinococosis quística ($P>0,05$). García⁴ el 2004 en la investigación seroprevalencia de hidatidosis en escolares de Huancasancos, Ayacucho, halló una prevalencia de 1,29% (4) en niños de 11 a 15 años de edad, ligeramente mayor a los niños de 6 a 10 años. En cuanto al sexo halló una mayor prevalencia en el sexo masculino con 1,70 % (4); de igual manera García⁵ no halló una significancia estadística asociada a equinococosis quística, con respecto a la edad y sexo ($P>0,05$). Por otro lado Núñez¹⁴ en el 2003 en la investigación prevalencia y factores de riesgo de hidatidosis en población general del distrito de Ninacaca, Pasco, halló que el grupo etario de 11 a 40 años de edad tiene mayor riesgo de enfermarse con equinococosis quística en comparación a otros grupos etarios ($P< 0,05$). En cuanto al sexo halló un 9,70% en mujeres y 9,40% en varones siendo estas no significativas. Así mismo Chumbe,¹⁹ en el 2010, en la investigación prevalencia de hidatidosis humana mediante técnicas de imagen en Yanahuanca, Pasco, halló un mayor porcentaje de casos en personas mayores de 40 años (40 a 59 años 8,20% y mayores a 60 el 10,50%) siendo estas estadísticamente significativas ($P<0,05$).

La equinococosis quística es una parasitosis que no tiene predilección por la edad ni el sexo, sin embargo la posible exposición temprana al agente causal generalmente por tener contacto directo con el perro como acariciarlos, dejándose lamer o por el contacto con suelos contaminados con huevos

embrionados de *Echinococcus granulosus*, explica los reportes de prevalencia en niños que suelen ser más descuidados en los hábitos de higiene y establecen relaciones más estrechas con sus mascotas y por lo tanto, son el grupo etario más susceptible a infectarse con *Echinococcus granulosus*.⁴⁶ Sin embargo a menor edad en algunos casos esta parasitosis es asintomática con una baja producción de anticuerpos IgG Anti *Equinococcus granulosus* debido a que la larva una vez localizada en el órgano afectado crece aproximadamente 1cm por año manifestándose los síntomas en la edad adulta es por eso que hay reportes de mayor prevalencia en personas aproximadamente mayores a 40 años.^{47, 19} Según Núñez, el grupo etario de 11 a 40 años de edad tiene mayor riesgo de enfermar con hidatidosis en comparación a otros grupos etareos.¹⁴ Pues en caso de que los niños presenten quistes de *Equinococcus granulosus* estos son aún pequeños, encapsulados y con una menor reacción antigénica que puede disminuir la sensibilidad de las pruebas serológicas.⁴⁵ Sin embargo, la alta prevalencia encontrada en menores de edad indican que estos quistes se encuentran en un tamaño considerable, con microfisuras que permiten el derramamiento de líquido hidatídico, lo cual activa al sistema inmunológico y por lo tanto la formación de anticuerpos IgG Anti *Equinococcus granulosus*.

En la tabla 5, del presente trabajo con respecto a la localidad se obtuvo una mayor prevalencia en San Pedro de Hualla (considerada como zona urbana) con un 5,7% (11). En cuanto al nivel de educación hubo una ligera mayor prevalencia en el nivel secundario de 5,60% (7). Por otro lado con respecto a la institución educativa se encontró una mayor prevalencia en la I.E.P. Virgen de Fátima con 9,40% (5); seguido de la I.E.S. Cesar Vallejo con un 6,70% (2). Al realizar la prueba de Ji- Cuadrado, se observan que estas variables no están asociadas a la prevalencia de equinocosis quística. Núñez,¹⁴ en el 2003 en la investigación prevalencia y factores de riesgo de hidatidosis en población general del distrito de Ninacaca, Pasco halló una mayor prevalencia en zonas rurales de 9,80% y zonas urbanas de 8,20%, Pasco.

Bakal,⁷ en el 2012 en un estudio de detección de ultrasonidos portátil basado en la prevalencia y factores de riesgo de la equinocosis quística en niños de primaria en Turquía oriental halló una prevalencia de 0,20%. Al igual que nuestro presente estudio no está asociado a la prevalencia de equinocosis quística en cuanto al nivel y la institución educativa.

El distrito de Hualla tiene una población total de 2 937 habitantes con dos centros poblados, como San Pedro de Hualla con 2 222 habitantes que tiene tres instituciones educativas con mayor número de estudiantes siendo estas: I.E.P. San Martín de Porres con 124 alumnos, I.E.P Virgen de Fátima con 115 alumnos y I.E.S José Carlos Mariátegui con 200 escolares, en comparación a la localidad de Tiquihua que solo tiene 715 habitantes y dos instituciones educativas con un menor número de estudiantes siendo estas: I.E.P. N° 38480 con 68 estudiantes y la I.E.S. Cesar Vallejo con 70 estudiantes; se encontró un mayor número de positivos en estudiantes de nivel primario (Virgen de Fátima) de la localidad de San Pedro de Hualla debido a la mayor concentración de la población y por ende una mayor cantidad de perros que en general son animales de compañía que son acogidos por las personas y por tanto la exposición es mayor.⁴⁸

A diferencia de Bakal que halló una baja prevalencia en niños de nivel primario debido a que en Turquía se han implementado programas de vigilancia obligatoria y el control es permanente.⁷

Factores de riesgo asociados

En la tabla 6, se muestra el nivel de conocimiento de los escolares del distrito de Hualla con respecto al quiste hidatídico, donde se resalta que del total de positivos (100%) 84,62% afirman no conocer el quiste hidatídico y solo un 15,38% conoce el quiste (bolsas de agua). Al calcular el riesgo (Odds Ratio) de los que no conocen el quiste hidatídico respecto a los que si conocen, se obtiene un resultado de 1,27 veces de riesgo a contraer la enfermedad en escolares que no conocen el quiste hidatídico, pero sin embargo este valor se encuentra en el intervalo de confianza (IC 95%) menor y mayor a 1 lo cual nos confirma que nos es un factor de riesgo. Moro,¹⁷ en el 2008 en la investigación práctica, conocimientos y actitudes sobre la hidatidosis humana en poblaciones procedentes de zonas endémicas, donde obtiene un Odds Ratio de 1,90 con un intervalo de confianza (IC95%) de 0,50 a 6,70 con respecto a los que vieron el quiste hidatídico en sus ganados, por tanto esta variable no representa un factor de riesgo.

Un intervalo de confianza de 95% no debe contener la unidad, es decir ser mayores a uno para considerarlo como un factor de riesgo y menor a uno para ser un factor de protección, Por tanto en la presente investigación el intervalo de confianza fue menor y mayor a uno, en tanto esta no puede ser de protección y de riesgo a la vez. Aparentemente el valor de Odds Ratio fue mayor a uno y se le

consideraría como un factor de riesgo pero esta fue confirmada con el intervalo de confianza de 95%.

El analfabetismo aún sigue siendo un gran problema debido a la situación socioeconómica y el limitado acceso a los servicios esenciales en el distrito de Hualla, tales como la educación, uno de los factores a este problema es también las barreras culturales y socioeconómicas. Condiciones que favorecen al desconocimiento de esta parasitosis que impiden que los padres puedan de alguna manera proteger a sus hijos de esta parasitosis que es transmitida por el perro, de igual manera la falta de charlas de concientización de las autoridades Municipales y de Salud por la falta de un programa integral de control de equinocosis quística. A pesar de que un gran porcentaje afirma conocer el quiste hidatídico tanto el presente estudio y el de Moro; muchos desconocen la manipulación, por tanto son usados para alimentar al perro o arrojados al piso donde este animal doméstico tiene acceso a las vísceras infectadas.

En la tabla 7, se muestra la seroprevalencia a equinocosis quística en relación al saneamiento básico, donde un 76,92% (11) no cuenta con sistema de desagüe y solo un 23,08% (2) cuenta con sistema de desagüe. Al realizar la prueba de Ji- Cuadrado, el no contar con desagüe resulta ser significativa por tanto eleva el porcentaje de contraer equinocosis quística. Con respecto al análisis de Odds Ratio se determinó que el no contar con sistema de desagüe es un factor que implica el incremento de riesgo, de 5,38 veces más que los niños que si tiene desagüe, con un intervalo de confianza IC (95%) de 1,25 a 26,55. Núñez,¹⁴ en el 2003 en la investigación prevalencia y factores de riesgo de hidatidosis en población general del distrito de Ninacaca, halla que un 81,10% no cuenta con desagüe, mientras que el 16,40% si lo tiene, estando asociadas a los casos positivos de esta parasitosis ($p < 0,05$).

Estos resultados se deben a que en el distrito de Hualla en todo su ámbito no se implementan, ni se practican programas de inspección y saneamiento de agua potable y desagüe, recojo y disposición final de los residuos sólidos, limpieza de viviendas. La vigilancia epidemiológica se realiza con poca frecuencia, esto se debe a la falta de profesionales de la salud especializado en epidemiología.

El sistema de desagüe y alcantarillado en el distrito de Hualla cuenta con una laguna de oxidación hasta donde las aguas servidas son conducidas para su respectivo tratamiento físico biológico, la misma que necesita ser mejorada, tratada y ampliada por el crecimiento poblacional. Gran parte de la población,

principalmente en los anexos y estancias realizan la deposición de sus excretas al aire libre, de igual manera la carencia de lavaderos domésticos ayudan a la contaminación de los manantiales, riachuelos y ríos, siendo estas principales fuentes del consumo de agua. En la capital del distrito si existe un 15,90 % que cuentan con instalación en su domicilio de desagüe, mientras que el 30,43 % son redes secundarias fuera de sus viviendas, las letrinas y pozos sépticos son mínimos en la capital del distrito, y un 52,45% no cuenta con ninguno de estos servicios, porcentaje alto que influye en la contaminación de los recursos hídricos. En cuanto a Tiquihua 10,50% cuenta con desagüe al interior de su domicilio y el 6,08% redes secundarias fuera de su vivienda, las letrinas y pozo ciego un 23,57% y quienes no cuentan con ninguno de estos servicios un 56,65%.⁴⁹

Por todos estos factores ya mencionados, el no contar con saneamientos básicos importantes, contribuyen y son factores de riesgo para contraer la equinocosis quística.

En la tabla 8, se observa la seroprevalencia a equinocosis quística en relación a la crianza del hospedero definitivo, donde un 84,6% (11) afirma criar perros en casa, mientras que un 15,40% (2) dicen no tener perros. Por otro lado un 45,50% (5) tiene de 3 a más perros. Al realizar la prueba de Ji- Cuadrado y el Odds Ratio se determinó que criar perros no tiene asociación estadística significativa ($P > 0,05$). Mas así en aquellos niños con más de 3 perros eleva el porcentaje de tener equinocosis quística, por lo tanto tiene asociación estadística significativa ($P < 0,05$). Por otro lado al realizar la prueba de Odds Ratio (OR) de igual manera el criar de 3 a más perros representa 3,48 veces un factor de riesgo para contraer equinocosis quística con respecto a los niños que crían menos de 3 perros, con un intervalo de confianza (IC 95%) de 1,01 a 11,97. En cuanto a la desparasitación de sus perros un 90,9% (10) no desparasita a sus perros y solo un 9,10% lo desparasita. Al realizar la prueba de Ji- Cuadrado y el Odds Ratio no se encontraron asociación significativa.

Santibañez,¹⁵ en el 2010 en la investigación factores domiciliarios asociados con la presencia de hidatidosis humana en tres comunidades rurales de Junín, determina que un 72,90% cría perros, y al igual que nuestro presente estudio no es un factor asociado a la equinocosis quística. Moro,¹⁷ en el 2008 en la investigación práctica, conocimientos y actitudes sobre la hidatidosis humana en poblaciones procedentes de zonas endémicas, reporta que el haber criado más

de 10 perros tiene 8,7 veces más riesgo a contraer equinocosis quística (OR=8,7; IC 95% = 1,3 a 57,5) siendo un factor de riesgo asociado.

En áreas endémicas del Perú hasta un tercio de los perros pueden estar infectados con la tenia adulta del *Equinococcus granulosus*. La probabilidad de ser dueño de un perro infectado aumenta mientras más perros se tengan. Por lo tanto no debe llamar la atención que el riesgo aumente a medida a que el número de perros en el hogar se incrementa.¹⁶ Varios estudios han demostrado un mayor riesgo de hidatidosis en aquellos individuos que eran dueños de varios perros, de la misma manera el no tener perros tuvo un efecto protector en áreas endémicas de China.⁵⁰

El perro es el hospedero definitivo y propagador de los huevos de *Echinococcus granulosus*. Cuando un perro es alimentado con vísceras que contengan quistes, los protoescolices se transforman en parásitos adultos, y comienza nuevamente el ciclo del parásito. El período prepatente es corto, de aproximadamente 7 semanas. En ese momento comienza la liberación de huevos infectantes, que salen al exterior con la materia fecal del perro. Los niños adquiere la infección a través de la ingestión de agua o de alimentos contaminados con los huevos del parásito, o por el contacto estrecho y descuidado con perros parasitados (dejarse lamer, darle besos).¹

En la tabla 9, se observa la seroprevalencia a equinocosis quística en relación a la crianza de los hospederos intermediarios, se tiene que del 100% (41) de casos positivos resalta el hecho de que un 80,16% (9) afirma tener bovino en casa, un 71,43% (10) ovino, un porcentaje menor en cuanto a caprinos 28,17 % (2), muy similar a los equinos con 28,97%, por muy debajo de estas un 5,56% afirma tener porcinos. Al realizar la prueba de Ji- Cuadrado, para determinar la existencia de asociación en relación a los casos positivos, no se halló significancia estadística ($p > 0.05$). Sin embargo, cuando se calcula el Odds Ratio (OR), el riesgo es mayor a uno en la crianza de ovino (OR=1,33; IC 95% = 0,36 a 4,98) y porcino (OR=1,42; IC 95% = 0,17 a 11,69); vemos que sus intervalos de confianza están por debajo y encima de uno, lo cual indica de que estas no representan factores de riesgo. Moro,¹⁷ en el 2008 en la investigación práctica, conocimientos y actitudes sobre la hidatidosis humana en poblaciones procedentes de zonas endémicas presenta resultados similares, donde determina que la crianza de vacunos, porcinos, caprinos, equinos no representan un factor de riesgo, más si la crianza de ovinos donde el riesgo de tener

equinocosis quística es 5,9 veces con respecto a los que no los crían (IC95%= 1,2 a 28,1; $q < 0,05$).

La ganadería es la segunda actividad económica más importante de Hualla; brinda ocupación a un sector importante de la comunidad campesina de Hualla y Tiquihua. Se caracteriza por una crianza mixta de vacuno, ovino, porcino, caballos y adicionalmente se desarrolla la crianza de caprinos en las quebradas y de camélidos (llamas y alpacas) en las punas.⁴⁹

Como bien se sabe el mayor riesgo de equinocosis en sujetos que crían ganado ovino es consistente con observaciones previas en áreas endémicas del Perú y de otros países latinoamericanos que muestran que la equinocosis quística es prevalente en aquellos lugares donde el ganado predominantemente es el ovino.¹⁶ En cuando a la presente investigación, el criar ovino no mostraron asociación positiva, debido a que la crianza se da en menor cantidad y casi siempre es para su consumo propio.⁴⁸

En la tabla 10, se observa la seroprevalencia de equinocosis quística con relación al lugar de beneficio del ganado y disposición de vísceras contaminadas con quiste hidatídico, resalta el hecho de que un 100% tanto de los casos positivos y negativos, benefician su ganado dentro de sus casas. En cuanto a cómo disponen las vísceras contaminadas con quiste hidatídico de su animal beneficiado un 76,90% (10) alimenta al perro. Al realizar la prueba de Ji-Cuadrado y el Odds Ratio (OR), para determinar la existencia de asociación y que este represente un factor de riesgo, se halló significancia estadística ($p < 0,05$) y el riesgo de tener equinocosis quística es de 4,33 veces en aquellos niños que alimentan a sus perros con vísceras contaminadas con respecto a los que no lo alimentan, con un intervalo de confianza IC 95% de 1,16 a 16,12. Moro,¹⁶ en el 2008, en la investigación identificación de factores de riesgo para equinocosis quística en población periurbana, halló que un 56,30% alimentaban a sus perros con vísceras crudas y 54,80% vio a los perros ser alimentados con vísceras infectadas de quiste hidatídico, estos resultados al igual que nuestro estudio obtuvieron significancia estadística ($p < 0,005$) y fueron determinados como factores de riesgo de 3,4 veces (IC 95%= 1,4 a 8,4) y 9,5 veces (IC95% = 2,1 a 42,9) respectivamente, a contraer equinocosis quística con respecto a los que realizan buenas prácticas en cuanto a la disposición de vísceras contaminadas, es decir el alimentar a los perros con vísceras crudas y

que estas estén infectadas con quistes hidatídicos, tienen asociación estadística significativa y representa un factor de riesgo.

Moro,¹⁶ halló significancia estadística en cuanto a la disposición de vísceras, debido a que en su investigación captó casos de zonas endémicas del Hospital Nacional Hipólito Unanue en Lima, la mayoría provenían de zonas endémicas. Con esto concluimos que el distrito de Hualla, Ayacucho, es una zona endémica para la equinocosis quística ya que también se determinó como un factor de riesgo alimentar a los perros con vísceras contaminadas.

Los perros pueden contaminarse al consumir vísceras infectadas con la forma larval de *Echinococcus granulosus*, proporcionados por los dueños. El protoescólex forma parte del estadio larvario o metacéstode y se origina a partir de la capa germinal del quiste o de las vesículas prolíferas. Juega un rol clave en el ciclo de vida del parásito, al ser la forma infectiva para el perro entre otros carnívoros. Una vez contaminado el perro y al interior de ellos y estos como hospederos definitivos es donde se desarrolla el parasito adulto que es una tenia de 3 a 7 mm de longitud, vive fijado a la mucosa del intestino delgado del perro mediante una corona de ganchos. El cuerpo o estróbila se encuentra dividido en 3 o 4 (raramente 6) segmentos rectangulares llamados proglótides, el último o grávido presenta mayor tamaño, forma ovoidea y contiene huevos esféricos o elipsoidales. Al llegar a la madurez cada proglótide grávido puede contener un promedio de 587 huevos fértiles, que son eliminados con la materia fecal del perro. Los huevos ovoides son microscópicos (30-40 μm), contienen en su interior un embrión hexacanto (oncósfera o primer estado larval) envuelto en varias membranas, y rodeado externamente por una gruesa pared queratinizada y de alta resistencia (embrióforo).¹

En la tabla 11, se muestra la seroprevalencia a equinocosis quística en relación a los hábitos de higiene personal, donde un 53,85% del total positivos a equinocosis quística refirió no lavarse las manos antes de consumir sus alimentos y un 76,92% no lavarse las manos después de entrar en contacto con los perros. Al someterlos a la prueba estadísticas de Ji- Cuadrado no dio significancia en ninguna de las dos variables de higiene personal ($p > 0,05$); el Odds Ratio (OR) es mayor en lavado de manos después de su contacto con el perro, teniendo 1,04 veces más riesgo a contraer hidatidosis en niños que no se lavan la mano, esta podría ser un factor de riesgo sin embargo sus límites de

intervalo de confianza (IC 95%= 0,28 a 3,91) se halla por debajo y encima del 1, por lo tanto no representa un factor de riesgo.

Núñez,¹⁴ en el 2003 en la investigación prevalencia y factores de riesgo de hidatidosis en población general del distrito de Ninacaca, Pasco, en el 2003, reporto resultados similares, donde un 60,20% y 23,6% refirió no lavarse las manos después de ir al baño y antes de almorzar respectivamente, de igual manera no se observa asociación significativa entre higiene de manos en diversos momentos.

El lavarse las manos es un principio básico de higiene que todo niño debe saber, como se pudo observar un gran porcentaje (53,85% y) de ellos no suelen seguir estas buenas prácticas, mas aun después de entrar en contacto con el perro (76,92%). Al menos un porcentaje considerable (46,15 %) refirió lavarse las manos antes de comer, esto debido a que existen programas como Juntos que enseñan a sus niños a lavarse las manos, de todos modos algunos niños algún no suelen tener estos hábitos estando propensos a cualquier momento de contaminarse con esta parasitosis. Puede que los niños no escuchen cuando les dice que se laven las manos antes de las comidas pero es un mensaje que vale la pena repetir. Lavarse las manos es sin duda la mejor manera de evitar la propagación de gérmenes y de protegerse.

En la tabla 12, se muestra la seroprevalencia a equinocosis quística en relación al consumo de vegetales de tallo corto, donde el 100% de los niños positivos a equinocosis quística consume vegetales de tallos cortos y de estos un 69,23% lo consume de forma cruda. Al realizar la prueba de Ji- Cuadrado es no significativo para las dos variables, pero el Odds Ratio (OR) es mayor a 1 en la forma de consumo de los vegetales, teniendo 1,04 veces más riesgo de tener hidatidosis cuando se consume los vegetales en forma cruda, sin embargo el intervalo de confianza está por debajo y encima de 1, lo cual indica de que esta no puede ser de protección y de riesgo a la vez, por lo tanto no representa un factor de riesgo. Sena,⁵¹ en el 2010 en la investigación, análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano reporta que un 46,60% de los vegetales presento resultados positivos para algún tipo de parásitos. Las muestras de lechugas fueron las más contaminadas con 52,50% por una variedad de helmintos.

Como se puede observar del 100% de los niños positivos a equinocosis quística consume vegetales de tallos cortos y el 69,23% lo consume de forma

cruda, la mayoría de ellos refirió consumir entre lechuga, col, espinaca, culantro, perejil, etc. La infección alimentaria por protozoos y helmintos transmitidos por la ingestión de vegetales que se comen crudos, es uno de los factores que conducen a la propagación de estas enfermedades. Así mismo el agua contaminada por materia fecal de origen humano y animal (perros), a menudo es utilizada para el riego de los sembríos y la contaminación de los alimentos por manipuladores que tienen las manos sucias también puede ser una de las causas de contaminación de vegetales.⁵² Las infecciones parasitarias se encuentran entre los trastornos más generalizados que afectan a los niños en edad escolar y los residentes de las zonas pobres de los centros urbanos.⁵³

VI. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla de la provincia de Víctor Fajardo es de 4,91% (13).
- Se determinó la seroprevalencia de equinococosis quística por la prueba de tamizaje ELISA IgG de 61,50% y por la prueba confirmatoria de Inmunoblot IgG de 4,91%.
- Los factores de riesgo significativo para equinococosis quística fueron el no contar con un sistema de desagüe, criar más de 3 perros en casa, así mismo el alimentar a los perros con vísceras contaminadas.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de prevalencia en edad adulta, que permitan estimar los números de casos y la situación de esta parasitosis a nivel de toda la población.
- Realizar estudios de prevalencia canina mediante estudios coprológicos, ya que estos son los transmisores principales de esta parasitosis.
- Implementar programas de control, prevención y vigilancia de la equinococosis quística.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guía para el Equipo de Salud N° 11. Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación.
2. Huaman I. Frecuencia de hidatidosis en niños y adolescentes hospitalizados en el Instituto Nacional del Niño (periodo 1996- 2005). *Rev. Inv Vet Perú*. 2010;21(1):54–60.
3. Gavidia CM, Gonzalez AE, Zhang W, McManus DP, Lopera L, Ninaquispe B, *et al*. Diagnosis of cystic echinococcosis, central Peruvian Highlands. *Emerging infectious diseases*. 2008 Feb;14(2):260–66.
4. García V, Vargas FH, Martínez J, Huamani N. Seroprevalencia de hidatidosis en escolares de Huncasancos, [tesis Ayacucho, 2004. *Rev Peru Med* 2008;25(3):290–3.
5. García V. Seroprevalencia de hidatidosis humana en población adulta de Sancos, Ayacucho 2005. *Rev Peru Med*. 2009;26(2):193–7.
6. Rojas N. Seroprevalencia de hidatidosis humana en el distrito de quinuá. [Tesis de Pregrado para optar el Título Profesional] FCB-D- R.D.N° 182-2006.
7. Bakal U, Kazez A, Akyol M, Kocakoc E, Simsek S. A portable ultrasound based screening study on the prevalence and risk factors of cystic echinococcosis in primary school children in East Turkey. *Elsevier B.V.*; 2012;123(2):91–5.
8. Fotiou V, Malissiova E, Minas A, Petinaki E, Hadjichristodoulou C. Seroprevalence of IgG antibodies against *Echinococcus granulosus* in the population of the region of Thessaly, Central Greece. *PLoS One* . 2012;7(5):37-112.
9. Ulgen Ok UZ, Ozkol M, Kilimcioğlu A A, Dinç G, Bayindir P, Ostan I, *et al*. A province-based study using sampling method to investigate the prevalence of cystic echinococcosis among primary school children in Manisa, Turkey. *Acta Trop* . 2007;103(2):116–22.
10. Dopchiz MC, Elissondo MC, Andresiuk M V, Maiorini E, Gutiérrez a M, Muzulin PM, *et al*. Pediatric hydatidosis in the south-east of the Buenos Aires province, Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2009;41(2):105–11.
11. Lorca M, Garrido M, Contreras MC, Salinas P, Alvarez C, Ruiz M, Soto P. *et al* Seroprevalencia de hidatidosis humana en la Región de Coquimbo. Chile. *Parasitol*. 2006;61:111–116.
12. Hinostroza HR. Prevalencia de hidatidosis humana durante el periodo 2002-2006 en la provincia de Osorno. *Red Vet*. 2010 [cited 2014;11:1–14.
13. Alva P. Encuesta serológica para hidatidosis humana por la prueba de Doble Difusión arco 5 en la provincia de Chupa, Junín, Perú. 2008;25(1):149–52.
14. Núñez E, Calero D, Estares L, Morales A. Prevalencia y factores de riesgo de hidatidosis en población general del distrito de Ninacaca-Pasco, Perú 2001. 2003;64, N°1-20:34–42.
15. Santivañez S, Naquira C, Gavidia CM, Tello L, Hernandez E, Brunetti E, Kachani M, *et al*. Factores domiciliarios asociados con la presencia de hidatidosis humana en tres comunidades de Junin, Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2010;27(4):498–505.
16. Cabrera R, Talavera E. Conocimientos , actitudes y prácticas de los matarifes acerca de la hidatidosis / equinococosis , en dos zonas urbanas del Departamento de Ica , Perú. *An Fac Med (Lima)*. 2005;66(3):203–11.
17. Moro P, Cavero C, Tambini M. Prácticas, conocimientos y actitudes sobre la Hidatidosis Humana en poblaciones procedentes de zonas endémicas. *Rev Gas*. 2008;28:43–9.

18. Moro PL, Garcia HH, Gonzales AE, Bonilla JJ, Verastegui M, Gilman RH. Screening for cystic echinococcosis in an endemic region of Peru using portable ultrasonography and the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) assay. *Parasitol Res.* 2005 Jun;96(4):242–6.
19. Chumbe G, Lopera B. Prevalencia de hidatidosis humana mediante técnicas de imagen en Yanahuanca, Pasco. *Vet del Perú.* 2010;21(1):61–7.
20. Murray P. *Microbiología Médica.* 5 ta ed. Madrid. Elsevier; 2006
21. Thompson R.C.A. and McManus D. P Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. 2002. *Trends in Parasitology* 18(10): 452-457.
22. Xiao N., Qui Jiamin., Nakao M., Li T., Yang W., Chen X., Schantz P., Craig P and Ito A. *Echinococcus shiquicus* n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *Internacional Journal for Parasitology.* 2005; 35: 693 – 701.
23. Xiao N., Qui Jiamin., Nakao M., Li T., Yang W., Chen X., Schantz P., Craig P and Ito A. *Echinococcus shiquicus*, a new species from the Qinghai – Tibet plateau region of China: Discovery and epidemiological implications. *Parasitology Internacional.* 2006; 55: 233 – 236.
24. Lavikainen A., Lehtinen M., Meri T., Hirvela-Koski V and Meri S. Molecular genetic characterization of the fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology.* 2003; 127: 207 – 215.
25. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Human and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. 2000 Guarnera E. *Hidatidosis en Argentina: carga de enfermedad.* 1a ed. -Buenos Aires: Organización Panamericana de la Salud - OPS, 2009.
26. Marco Antonio Becerril. *Parasitología medica.* 3^{ra} ed. Mexico. 2012. Pag: 171.
27. Galindo, M.; Schadebrodt, G. and Galanti, N. Cellular territories and morphological regions in *Echinococcus granulosus protoscoleces*. *Experimental Parasitology* 2008; 119, 524-33.
28. Atías A. *Parasitología Médica.* 1^a ed. Santiago, Chile: Universitaria; 1992.
29. Gorodner J. *Enfermedades Infecciosas* 2da edición Rosario: Corpus Librus.: 2004; V1.102 -111
30. Feraina P, Oria A. *Cirugía de Michans.* 5ta ed. Buenos Aires. El ateneo; 2005; 355-358; 519-528.
31. Bielsa, M. "Hidatidosis o Quiste Hidatídico". Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Zaragoza, España 2003. Disponible en URL: http://starmedia.saludalia.com/Saludalia/web_saludalia/temas_de_salud/doc/infecciosas/doc/hidatidosis.htm.
32. Sánchez Acedo C, Estrada Peña A, Del Cacho Malo E y *et al.* ¿Qué es la Hidatidosis? Departamento de Patología animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España 2005.
33. Larrieu E., Costa M., Cantoni G. *et al.* Control program of hydatid disease in the Province of Río Negro, Argentina, 1980-1997. *Bol Chil. Parasitol* 2000; 55:49-53.
34. Gómez JC. Valor diagnóstico de Inmunoblot con líquido hidatídico humano, frente a antígeno ovino, bovino. *patología clínica .Rev Mex Patol Clin.* 2004; 51 (2). 75-89.
35. Manterola C, Vial M, Carrasco R, Bustos L, Losada H, *et al:* Hidatidosis abdominal de localización extra hepática: características clínicas y evolución de una serie de casos. *Rev Chil Cir* 2002; 54: 128-34.
36. Pérez JA, Pérez A, Valenzuela M. Quistes hidatídicos primitivos de localización extraabdominal y extrapulmonar. *Rev Chil Cir* 1999; 51: 341-6

37. Saide F. Tratamiento de los quistes hidatídicos hepáticos. En: Nyhus, Baker, Fischer (eds), El dominio de la Cirugía. Buenos Aires, Panamericana, 2001;11:19-36
38. Martínez, M.; Galarza, E.; Leguía, G.; Rojas, G. Y Rodríguez, J. Prevalencia y fertilidad de Quiste Hidatídicos en ovinos de raza Junín en Ganadería de la Sierra Central del País. V Congreso Peruano de Parasitología 2002.
39. Miranda E, Velarde F, Somocursio J, Ayala E. Evaluación de dos pruebas de Inmunoblot con antígeno hidatídico de caprino y ovino para el diagnóstico de equinococosis humana. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2010; 27(2): 209-14.
40. Manual de Procedimientos Para el Diagnostico Serologico de la Zoonosis Parasitaria. Norma Tecnica N°32, Lima 2010.
41. Instituto Nacional de Estadística e Informática. INEI Compendio Estadístico 2006-2007. {Página de internet}. Lima: INEI; 2007 Disponible en URL:<http://www.inei.gob.pe/biblioineipub/bancopub/Lib0442/libro.pdf>
42. ESCALE. Estadística de la Calidad Educativa del Ministerio de Educación, proporcionada por la Unidad de Gestión Educativa (UGEL) 2013.
43. Murray R. Spiegel y Larry J. Stephens. Estadística. 4ta edición. Mc Graw-Hill. México, D.F. 2009.
44. Carmena D, Benito A, Eraso E. Avances recientes en el inmunodiagnóstico de la hidatidosis humana. 2007;25(4):263–9.
45. Larrieu e, Del Carpio M, Salvitti JC, Mercapide C, Sustersic J, Panomarenko h, *et al.* Ultrasonographic diagnosis and medical treatment of human cystic echinococcosis in asymptomatic school age carriers: 5 years of follow-up. Acta Trop. 2004; 91(1): 5-13.
46. Tamayo L, Pacheco R, Fernández R, Chungara J. Hidatidosis. Experiencia institucional. Rev Soc Bol Ped 2004;43: 149-154. 47.
47. Noemí I, Viovy A, Zamoran R, Blanco A, Revello D, Vojkovic M, Cerva J. Hidatidosis en la infancia: Albendazol en su tratamiento médico y quirúrgico. Rev Chil Infectol 2003;20: 229-234.
48. Instituto Nacional de Estadística e Informática. INEI, Censos de población 1993 y 2007. {Página de internet}. Lima: INEI; 2007. Disponible en URL: <http://www.inei.gob.pe/biblioineipub/bancopub/Est/Lib0442/libro.pdf>.
49. Instituto Nacional de Estadística e Informática INEI – Sistema de Consulta de Datos de Centros Poblados y Población Dispersa – Ayacucho. {Página de internet}. Lima: INEI; 2007. Disponible en URL: <http://www.inei.gob.pe/biblioineipub/bancopub/Est/Lib0442/libro.pdf>
50. Yang YR, Sun T, Liz, *et al.* Community surveys and risk factor analysis of human alveolar and cystic echinococcosis in Ningxia Hui Autonomous Region, China. Bull World Health Organ 2006; 84:714-721.
51. Sena A, Ribeiro R, Ferraz N, Pincinato EC, Ferreira R, *et al.* Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano. Rev Cubana Med Trop 2010; 62(1):21-7.
52. Paula P, Rodríguez PSS, Tórtora JCO, Uchoa CM, Farage S. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. Rev Soc Bras Med Trop. 2003; 36:535-7.
53. Falavigna LM, De Freitas CBR, De Melo GC, Nishi L, de Araújo SM, Guilherme- Falavigna AL. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. Parasitol Latinoam. 2005; 60:144-9.

IX. ANEXOS

Anexo 1

Datos geográficos y demográficos del distrito de Hualla

Tabla 13. Coordenadas y Altitud del distrito de Hualla

Distrito	Coordenadas		Altitud	REGIÓN
	LATITUD	LONGITUD	m. s. n. m*	
hualla	13°50'42''	73°56'56''	3 341	Sierra

*metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m)

Tabla 14. Población total del distrito de Hualla, ^{48,49}

Distrito	Censo	Población	Población	Población
		Total	Urbana	Rural
Hualla	1993	2 732	2 508	224
	2007	3 188	2 937	251

Tabla 15. Población del distrito de Hualla y centros poblados. ^{48,49}

Distrito	Censo	Población	Centro Poblado	Centro Poblado
		Urbana	de Hualla	Urbano Tiquihua
		1 + 2	1	2
Hualla	1993	2 508	1 647	861
	2007	2 937	2 222	715

Tabla 16. Número de Instituciones Educativas del distrito de Hualla. ^{48,49}

ETAPA, MODALIDAD Y NIVEL EDUCATIVO	TOTAL	GESTION		ÁREA	
		Publica	Privada	Urbana	Rural
Total	10	10	-	7	3
Básica regular	10	10	-	7	3
Inicial (jardín y PRONOI)	5	5	-	2	3
Primaria	3	3	-	3	-
Secundaria	2	2	-	2	-

Anexo 2

Consentimiento informado

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA

Título: “Seroprevalencia de Equinocosis quística y factores de riesgo asociados en la población escolar del distrito de Hualla, Ayacucho, 2013.”.

1.-Propósito: La Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga está realizando una investigación en zonas de riesgo con casos de equinocosis quística humana principalmente en los pobladores del distrito de Hualla. Esta infección no siempre se manifiesta con sintomatología y su riesgo de contagio por malos hábitos y costumbres es muy alto. Por lo que deseamos realizar el presente estudio con el fin de conocer la prevalencia de esta infección.

2.- Participación: En este estudio participaran todos los escolares de 6 a 18 años de edad del distrito de Hualla en quienes se sospecha un mayor riesgo para contagiarse con esta enfermedad.

4.- Procedimiento: Para realizar este estudio necesitamos tomarle a su hijo menor una muestra de 8 ml. (una cucharada y media) de sangre de su antebrazo, empleando una jeringa. La muestra obtenida será procesada en el Laboratorio Regional referencial de Ayacucho- DIRESA y luego enviadas al Laboratorio del Instituto Nacional de Salud – Lima para su confirmación. De encontrarse positivo se le comunicará directamente, manteniendo en todo momento la confidencialidad y absoluta reserva de esta información.

4.-Riesgo: El procedimiento no le ocasionará a su hijo menor. Ningún malestar, ni consecuencias posteriores, solo podrían sentir una molestia pasajera o un dolor leve al momento de que se le tome la muestra.

5. Beneficios: Usted se beneficiará con los exámenes para saber si su hijo tiene la infección por equinocosis quística. La participación en esta investigación no le costará a Ud. Absolutamente nada.

6.- Participación Voluntaria: La aprobación de la participación de su hijo menor en el presente estudio es totalmente voluntaria. Si no desea participar, no habrá ningún tipo de represalia. Será Ud. Quien decida voluntariamente su participación en este estudio. La UNSCH no le ofrecerá compensación económica alguna.

7. Información Adicional: Para obtener mayor información sobre la investigación usted puede conversar con la Blgo, Víctor Cárdenas López docente de la Facultad de Ciencias Biológicas. Por favor, si acepta que su hijo participe recuerde que lo hace de forma voluntaria, luego de leer este documento. En señal de ello, le solicitamos firmar este documento en el lugar que corresponde.

Nombre del participante.....

Firma del padre (madre o apoderado)..... Fecha...../...../.....

Nombre del Responsable del estudio:.....

Firma de Responsable..... Fecha...../...../.....

Anexo 3

Consentimiento informado

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA

Título: Seroprevalencia de Equinococosis quística y factores de riesgo asociados en la población escolar del distrito de Hualla, Ayacucho, 2013.”.”

(Para ser firmado por el menor de 6 a 18 años)

En el caso de que en el sorteo haya sido elegido te invitamos a que nos permitas sacar una pequeña cantidad de sangre de tu brazo y también entregarás una muestra de heces. La muestra de las heces la pondrás en un frasco de vidrio o plástico que se entregará con una etiqueta.

1. ¿Quién soy? Soy la responsable del estudio de “Seroprevalencia de Equinococosis quística en población escolar del distrito de Hualla, Ayacucho, 2012”. A cargo de la tesista, Zárate Sulca, Yanina, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.

2. ¿Para qué hemos venido a verte? Queremos contarte acerca de la Investigación que se está realizando aquí en la localidad de Hualla. Nosotros queremos saber si tú quieres colaborar en esta investigación.

3. ¿Por qué estamos realizando esta investigación? El Ministerio de Salud y la Universidad se preocupa en tu salud. Por eso, queremos saber si estas infectado con equinococosis quística (Hidatidosis). Esta es una enfermedad que causa deformaciones de órganos y alteraciones funcionales. Para ello necesitamos 192 participantes de esta localidad. Esta información será importante para conocer el porcentaje de infectados por equinococosis quística.

4. ¿Qué sucedería si decides estar en el estudio? Para saber si estas infectado contra equinococosis quística queremos pedirte que nos permitas tomarte solo 7 a 10 mL de sangre. Además te pediremos algunos datos para el llenado de la encuesta que no tomará más de cinco minutos de tu valioso tiempo.

5. ¿Me va doler? Solo sentirás un pequeño pinchazo cuando el personal de laboratorio inserte la aguja en tu brazo. En algunos casos puedes tener una molestia o un pequeño moretón, que no afectará tu salud. No te preocupes la cantidad es tan pequeña que no te debilitará.

6. ¿Qué de bueno voy a conseguir de este estudio? Tú conocerás si estas infectado contra equinococosis quística o hidatidosis. Este análisis es completamente gratuito y confidencial.

7. ¿Quiénes sabrán que estás cooperando en este estudio? Nosotros no diremos a nadie que te hemos sacado una muestra de sangre. Solamente tú y los investigadores que están conduciendo el estudio sabrán los resultados. Los datos pueden ser vistos y estudiados por el personal del Ministerio de salud, comité de ética que controlan el estudio y los investigadores principales.

8. ¿Estás obligada(o) a participar en este estudio? No, no estás obligada(o). Nadie se va molestar ni fastidiar sino quiere participar en este estudio. Tu participación es completamente voluntaria y libre, recuerda que en cualquier momento puedes cambiar de opinión y salirte del estudio. Si sales del estudio podrás seguir tu vida en forma normal.

¿Tienes preguntas? Cualquier consulta comuníquese con:

Zárate Sulca, Yanina, tesista de la facultad de ciencias biológicas de la UNSCH. Telf. 990009371.

Nombre del niño o niña.....

Firma del niño niña.....Fecha...../...../.....

Firma del padre (madre o apoderado):.....

Nombre del responsable del estudio.....Fecha...../...../.....



Ficha de investigación epidemiológica para el diagnóstico de equinocosis quística.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA

Ficha N°.....

1. DATOS DEL PARTICIPANTE

Apellidos y nombres:.....

Fecha de nacimiento:...../...../..... Edad.....Sexo F () M ()

Región..... Provincia..... Distrito..... Urbano () Rural ()

Localidad:.....Dirección:

Nivel de educación: Primaria () Secundaria ()

Institución educativa:

2. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

- ¿Conoce el quiste hidatídico?:
Si () No ()
- ¿Cuenta con sistema de desagüe?:
Si () No ()
- ¿Cría perros en casa?:
Si () No ()
Cantidad de perros que posees:
- ¿Desparasita a su perro? (si es que lo tuviera):
Si () No ()
- ¿Qué tipo de ganado cría?:
Bovino () Ovino () Caprino () Otros:.....
- ¿Dónde beneficia a su ganado? (responda si en caso tiene ganado):
Dentro de casa (clandestino) () Camal ()
- ¿Cómo dispone las vísceras contaminadas con quiste hidatídico de su animal beneficiado? (responda si en caso tiene ganado):
Alimenta al perro () Lo elimina ()
- ¿Se lava las manos antes de consumir sus alimentos?:
Si () No ()
- ¿Se lava las manos después de entrar en contacto con el perro?
Si () No ()

3. DATOS DE LA ENFERMEDAD

- ¿Presentan sintomatología?:
Si () No ()

Si su respuesta es "Si" marque los síntomas que presenta:

Nauseas () Vómitos () Diarrea () Ictericia () Dolor hepático () Dolor abdominal ()

Dolor torácico () Tos frecuente ()

4. ANTECEDENTES FAMILIARES:

- ¿Algún familiar tiene o ha tenido equinocosis quística o hidatidosis?:
Si () No ()

5. DATOS CULTURALES:

- ¿Consume vegetales de tallos cortos?:
Si () No ()

En qué forma lo consume:

Cruda () Cocida ()

6. DATOS DEL INVESTIGADOR

Nombres y apellidos:

Fecha de notificación:

Firma del investigador:.....

Anexo 5



Charlas de sensibilización a los padres en la municipalidad de San Pedro de Hualla



Charlas de sensibilización a las alumnas de la Institución Educativa Virgen de Fátima.



Charlas de sensibilización a estudiantes de la Institución Educativa secundaria José Carlos Mariátegui.



Charlas de sensibilización a estudiantes de la Institución Educativa Secundaria César Vallejo



Aplicación de la ficha epidemiológica



Toma de muestra sanguínea en escolares de San Pedro de Hualla

Figura 16. Charlas de sensibilización en padres y escolares del distrito de Hualla, Ayacucho 2013.

Anexo 6

Registro de calidad del proceso de toma de muestra sanguínea en tubos al vacío.

Toma de muestra sanguínea	
MUESTRA N°:	SI NO
CODIGO: FECHA:	
SUPERVISOR: Blgo. Víctor Luis Cárdenas López	
<hr/>	
<p>Se verificó que los elementos por utilizar estén listos, y que la paciente se sienta cómoda.</p> <p>Se rotuló adecuadamente los tubos a utilizar con el código de cada paciente.</p> <p>Se retiró el estuche protector de la aguja y éste se enrosca al dispositivo para extracción de sangre al vacío.</p> <p>Se colocó la ligadura cuatro dedos por encima de la flexión del codo o 10 cm por encima de éste.</p> <p>Se pidió a la paciente que abra y cierre la mano varias veces, para favorecer la dilatación de las venas.</p> <p>Se desinfectó la vena escogida con una pieza de algodón embebido en alcohol al 70%.</p> <p>Se colocó la aguja en dirección paralela a la vena.</p> <p>Se perforó la piel haciendo avanzar la aguja entre 0,5 cm y 1 cm en el tejido subcutáneo.</p> <p>Se insertó el tubo al vacío por la parte posterior hasta escuchar el sonido del vacío que avisará que la extracción terminó.</p> <p>Se retiró la ligadura tirando del extremo doblado.</p> <p>Se colocó un pedazo de algodón seco sobre la parte donde se encuentra oculta la aguja.</p> <p>Se sacó la aguja con un movimiento rápido y cuidadoso.</p> <p>La aguja se depositó en un recipiente de plástico no reciclable que indique la peligrosidad del mismo.</p> <p>Se pidió a la paciente que presione firmemente el algodón durante 3 minutos, con el brazo extendido.</p> <p>La muestra se centrifugó después de 1 hora de su obtención a 3000 RPM por 10 minutos para obtención del suero sanguíneo.</p> <p>Se codificó adecuadamente el criovial plástico de 1ml según el código de la ficha epidemiológica.</p> <p>El suero fue separado en alícuotas de 1 ml utilizando una micropipeta de 1000µL</p> <p>El suero se mantuvo en congelamiento a una temperatura de -20 °C hasta su respectivo análisis.</p>	

Anexo 7

Registro de calidad de técnica de Elisa IgG

Procedimiento de la Técnica de ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para diagnóstico de equinocosis quística humana :

MUESTRA N°:

CODIGO:

SI NO

FECHA:

HORA:

SUPERVISOR: Blgo. Víctor Luis Cárdenas López

Se sensibilizó la placa de microtitulación colocando 100 µL por pozo de solución antigénica.

Se cubrió la placa de microtitulación con tapa o parafilm y luego se incubó a 4°C durante toda la noche.

Se retiró del refrigerador la placa sensibilizada con solución antigénica y vació el contenido de los pozos.

Se bloqueó los sitios inespecíficos mediante la adición de 100 µL en PBS-Tween 0,05% leche en cada pozo.

Se cubrió la placa e incubó en estufa a 37°C por 30 minutos.

Se lavó los pozos de la placa adicionando a cada uno de ellos 200 µL de PBS-Tween 0,05%, utilizando lavador de microplacas.

Repetimos el lavado por cuatro veces más, en el último lavado se eliminó por completo el líquido residual, invirtiendo la placa sobre el papel absorbente (aplicar golpes firmes).

Se añadió en los pozos respectivos lo siguiente: suero control positivo (SCP), suero control negativo (SCN), ambos diluidos 1/500(en solución diluyente), 100 µL por pozo (2 pozos por control); suero problema (SP) diluido a partir de 1/500(en solución diluyente), 100 µL por pozo.

Se cubrió la placa e incubó a 37°C por una hora.

Se descartó el contenido de los pozos sobre un recipiente conteniendo hipoclorito de sodio al 5%, mediante inversión de microplaca.

Se lavó los pozos de la placa adicionando a cada uno de ellos 200 µL de PBS-Tween 0,05%, utilizando lavador de microplacas.

Se repitió el lavado por cuatro veces más, en el último lavado se eliminó por completo el líquido residual, invirtiendo la placa sobre el papel absorbente (aplicar golpes firmes)

Se colocó en cada pozo 100 µL de anti IgG humano peroxidasa de HRP diluido 1/1000.

Se incubó en estufa a 37° C por una hora.

Se lavó los pozos de la placa al igual que los anteriores.

Se colocó en cada pozo de la placa 100µL de la solución sustrato.

Se dejó a oscuridad a temperatura ambiente por 15 minutos.

Se detuvo la reacción adicionando 25 µL de ácido sulfúrico 2,5 M en cada pozo.

Anexo 8

Registro de calidad de la técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de equinocosis quística

Técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de equinocosis quística

MUESTRA N°:	CÓDIGO:	SI	NO
FECHA:	HORA:		
SUPERVISOR: Blgo. Víctor Luis Cárdenas			

Etapa I: Separación de las proteínas del antígeno por electroforesis en gel de poliacrilamida conteniendo Dodecil Sulfato de sodio (SDS-PAGE) .

Tratamiento del antígeno

El antígeno total de líquido de quiste hidatídico (ATLH-O) se diluyó volumen a volumen, con una solución de tratamiento de muestra. El antígeno se sometió en Baño María a 100°C por 5 minutos. Luego se adicionó un colorante marcador de corrida a razón de 1 µL por cada 30 µL de muestra.

Preparación del gel de separación o de corrida para el modelo Mini Protean II, BIO-RAD.

Se usó 2 placas de vidrio de 73 mm de alto x 102 mm de ancho x 1 mm de espesor y 2 espaciadores de plástico de 0,75 mm de espesor.

Se limpió las placas de vidrio con alcohol y se secó.

Se montó las placas, empleando los espaciadores untados con una capa fina de vaselina neutra para unir las placas.

Luego se preparó el gel en la concentración de 15%.

Se encajó las placas en un soporte.

Con auxilio de una jeringa se colocó el gel en el espacio de las placas montadas hasta 65 mm de altura e inmediatamente se completó con agua destilada.

Se dejó polimerizar a temperatura ambiente por 30 minutos.

Aplicación del gel de empaquetamiento para el modelo Mini Protean II, BIO-RAD

Se eliminó el agua destilada de la parte superior del gel, con ayuda de una jeringa.

Se secó con papel filtro la superficie del gel de separación.

Se colocó el gel de empaquetamiento preparado sobre el gel de separación e inmediatamente insertar un peine preparativo de 0,75 mm de espesor, dejando un espacio entre el fondo del peine y el gel de separación.

Se dejó polimerizar a temperatura ambiente por 30 minutos.

Preparación de la electroforesis

Se retiró el peine y se lavó las cavidades que deja con Buffer Tris-Glicina-SDS o de corrida.

Se aplicó en la cavidad del gel de empaquetamiento 40 µL de suspensión de antígeno en una concentración 4 µg/µL de proteínas.

En las cavidades del extremo derecho de este gel, se colocó 5 µL de proteínas de peso molecular patrón y 3 µL de peso molecular patrón preteñido.

Luego se adicionó aproximadamente 200 mL buffer de corrida en el recipiente superior y 300 mL del mismo buffer en el recipiente inferior de la cubeta, para iniciar la corrida electroforética.

Corrida electroforética

Se conectó los terminales eléctricos en la fuente de poder. La electroforesis se efectúa a 15 Ma por gel.

Se prestó atención al colorante marcador de corrida.

Cuando los complejos SDS-proteínas entraron uniformemente en el gel de separación o de corrida, la corriente es aumentada a 30 mA por gel.

Se desconectó el sistema cuando el colorante marcador de corrida alcanza la base del gel de separación.

ETAPA II: Transferencia de proteínas del gel de poliacrilamida a la membrana de nitrocelulosa.

Preparación de la transferencia

En un recipiente conteniendo buffer de transferencia se colocó, el gel sobre una membrana de nitrocelulosa. Estos a su vez, se colocaron entre dos hojas de papel filtro embebidas en el mismo buffer.

El conjunto de gel, nitrocelulosa y papel de filtro se colocaron entre dos esponjas de 3 mm de espesor y a su vez todo este conjunto quedó empacado en una pieza plástica con perforaciones en ambos lados.

Enseguida, este conjunto, se encajó en una cámara de transferencia, con el gel colocado hacia el cátodo y la membrana de nitrocelulosa hacia el ánodo.

Electrotransferencia

Finalizada la electrotransferencia, se retiró la membrana de nitrocelulosa y se lavó 5 veces por 5 minutos cada una, con buffer fosfato salino (PBS) 0,01M pH 7,2; conteniendo 0,3% de tween 20 (PBS-T) y 1 vez más con PBS sin tween.

Se cortó la tira de nitrocelulosa que contiene los patrones de peso molecular y se coloreo con solución al 1% de tinta china.

A continuación se cortó la membrana de nitrocelulosa conteniendo las proteínas del antígeno, en tiras de 3 mm de ancho y se guardó a -20°C entre hojas de papel filtro humedecidos en PBS hasta el momento de su uso.

ETAPA III: Reacción inmunoenzimática

Se empleó placas de plástico divididas en compartimentos.

Se colocó las tiras de nitrocelulosa conteniendo el antígeno hidatídico en los compartimentos de las placas.

Se incubó las tiras con PBS-T conteniendo 5% de leche descremada (PBS-TL) por 30 minutos a temperatura ambiente y en agitación.

Se descartó el PBS-TL y se colocó los sueros problemas diluidos a 1:100 en PBS-TL e incubó por 1 hora.

Se lavó las tiras 5 veces por 5 minutos cada una, con PBS-T.

Luego se adicionó una solución de anti-IgG humano marcado con peroxidasa diluido a 1:1000 en PBS-TL e incubó por 1 hora.

Se lavó las tiras 5 veces por 5 minutos cada una con PBS-T y 1 vez más con PBS sólo.

Se reveló la reacción adicionando una solución conteniendo 5 mg de diamino bencidina (DAB) 10µL de H₂O₂ (30%) por cada 10 mL de PBS.

Luego de visualizar las bandas, se lavaron las tiras varias veces con agua deionizada.

Luego se dejó secar las tiras a temperatura ambiente en la oscuridad.

Anexo 9
Registro de densidades ópticas y resultados de la prueba de Elisa IgG

PROYECTO SEROPREVALENCIA DE HIDATIDOSIS - HUALLA- AYACUCHO																	
DO1	DO2	PROMEDIO	VC	RESULTADO	BLANCO	C (+)	C (-)										
1	0,108	0,123	0,1155	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	22	0,102	0,097	0,0995	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
2	0,421	0,462	0,4415	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	23	0,251	0,255	0,253	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
3	0,341	0,349	0,345	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	24	0,053	0,052	0,0525	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
4	0,227	0,229	0,228	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	25	0,092	0,093	0,0925	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
5	0,091	0,096	0,0935	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	26	1,063	1,188	1,1255	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
6	0,083	0,081	0,082	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	27	0,082	0,08	0,081	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
7	0,048	0,044	0,046	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	28	0,21	0,21	0,21	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
8	0,454	0,446	0,45	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	29	0,097	0,099	0,098	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
9	0,129	0,132	0,1305	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	30	0,253	0,249	0,251	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
10	0,077	0,073	0,075	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	31	0,034	0,033	0,0335	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
11	0,15	0,148	0,149	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	32	0,58	0,573	0,5765	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
12	0,086	0,084	0,085	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	33	0,034	0,031	0,0325	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
13	0,214	0,208	0,211	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	34	0,054	0,051	0,0525	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
14	3,058	3,108	3,083	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	35	0,162	0,151	0,1565	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
15	0,195	0,189	0,192	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	36	0,109	0,105	0,107	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
16	0,14	0,132	0,136	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	37	0,098	0,088	0,093	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
17	0,26	0,254	0,257	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	38	0,377	0,402	0,3895	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
18	0,608	0,626	0,617	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	39	0,047	0,043	0,045	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
19	0,395	0,294	0,3445	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	40	0,453	0,502	0,4775	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192
20	0,787	0,798	0,7925	0,155	Reactivo	0,007	2,958	0,192	41	0,055	0,049	0,052	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
21	0,146	0,144	0,145	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	42	0,11	0,107	0,1085	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
									43	0,086	0,081	0,0835	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192
									44	0,034	0,031	0,0325	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192

45	0,109	0,1	0,1045	0,155	No reactivo	0,007	2,958	0,192	71	0,059	0,057	0,058	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
46	0,489	0,464	0,4765	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	72	2,053	2,033	2,043	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
47	0,999	1,049	1,024	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	73	0,109	0,108	0,1085	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
48	0,176	0,185	0,1805	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	74	0,063	0,07	0,0665	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
49	0,188	0,187	0,1875	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	75	0,295	0,304	0,2995	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
50	0,119	0,128	0,1235	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	76	0,317	0,346	0,3315	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
51	1,286	1,318	1,302	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	77	0,259	0,262	0,2605	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
52	0,478	0,497	0,4875	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	78	0,239	0,242	0,2405	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
53	0,321	0,318	0,3195	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	79	0,168	0,17	0,169	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
54	0,039	0,042	0,0405	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	80	0,114	0,12	0,117	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
55	0,029	0,026	0,0275	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	81	0,75	0,731	0,7405	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
56	0,081	0,088	0,0845	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	82	0,066	0,067	0,0665	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
57	0,081	0,081	0,081	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	83	0,469	0,504	0,4865	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
58	0,212	0,212	0,212	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	84	0,063	0,067	0,065	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
59	0,459	0,489	0,474	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	85	0,137	0,143	0,14	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
60	0,054	0,061	0,0575	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	86	0,117	0,124	0,1205	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
61	0,389	0,4	0,3945	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	87	0,228	0,247	0,2375	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
62	0,317	0,324	0,3205	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	88	0,12	0,128	0,124	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151
63	0,177	0,175	0,176	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	89	0,353	0,355	0,354	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
64	0,118	0,116	0,117	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	90	0,386	0,382	0,384	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151
65	0,26	0,255	0,2575	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	91	0,193	0,186	0,1895	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
66	0,215	0,194	0,2045	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	92	0,044	0,044	0,044	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219
67	0,092	0,086	0,089	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	93	0,057	0,06	0,0585	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219
68	0,16	0,161	0,1605	150	Reactivo	0,0065	0,16	3,151	94	0,188	0,185	0,1865	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
69	0,096	0,095	0,0955	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	95	1,89	1,865	1,8775	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
70	0,073	0,071	0,072	150	No reactivo	0,0065	0,16	3,151	96	1,571	1,535	1,553	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219

97	0,465	0,472	0,4685	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	123	0,846	0,873	0,8595	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
98	0,254	0,245	0,2495	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	124	1,278	1,341	1,3095	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
99	0,041	0,038	0,0395	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	125	0,29	0,295	0,2925	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
100	0,195	0,2	0,1975	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	126	0,04	0,041	0,0405	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219
101	0,044	0,045	0,0445	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	127	1,389	1,423	1,406	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
102	0,056	0,057	0,0565	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	128	0,162	0,167	0,1645	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
103	0,177	0,168	0,1725	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	129	0,22	0,233	0,2265	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
104	0,147	0,146	0,1465	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	130	0,467	0,578	0,5225	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
105	0,643	0,632	0,6375	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	131	0,038	0,044	0,041	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219
106	0,073	0,074	0,0735	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	132	0,176	0,192	0,184	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
107	0,689	0,665	0,677	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	133	0,5	0,53	0,515	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
108	0,2	0,201	0,2005	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	134	0,285	0,316	0,3005	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219
109	0,397	0,393	0,395	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	135	0,046	0,051	0,0485	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219
110	0,031	0,031	0,031	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	136	1,724	1,692	1,708	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
111	0,073	0,07	0,0715	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	137	0,3	0,289	0,2945	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
112	0,136	0,135	0,1355	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	138	0,106	0,113	0,1095	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
113	0,229	0,236	0,2325	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	139	0,147	0,148	0,1475	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
114	0,221	0,223	0,222	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	140	0,43	0,43	0,43	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
115	0,042	0,043	0,0425	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	141	0,152	0,146	0,149	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
116	0,565	0,555	0,56	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	142	0,293	0,291	0,292	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
117	0,373	0,372	0,3725	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	143	0,536	0,541	0,5385	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
118	0,242	0,245	0,2435	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	144	1,254	1,248	1,251	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
119	0,058	0,058	0,058	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	145	0,107	0,107	0,107	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058
120	0,216	0,22	0,218	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	146	0,039	0,038	0,0385	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058
121	1,375	1,443	1,409	0,128	Reactivo	0,0055	0,153	3,219	147	0,062	0,058	0,06	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058
122	0,064	0,067	0,0655	0,128	No reactivo	0,0055	0,153	3,219	148	0,1	0,099	0,0995	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058

149	0,191	0,186	0,1885	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	175	0,313	0,302	0,3075	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
150	0,66	0,664	0,662	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	176	0,116	0,112	0,114	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058
151	0,07	0,072	0,071	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	177	0,345	0,348	0,3465	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
152	0,15	0,141	0,1455	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	178	0,431	0,435	0,433	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
153	0,398	0,401	0,3995	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	179	0,322	0,31	0,316	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
154	0,158	0,158	0,158	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	180	0,873	0,819	0,846	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058
155	0,116	0,111	0,1135	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	181	0,095	0,096	0,0955	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047
156	0,182	0,179	0,1805	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	182	0,112	0,103	0,1075	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047
157	0,352	0,36	0,356	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	183	0,336	0,341	0,3385	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
158	0,103	0,102	0,1025	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	184	1,079	1,075	1,077	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
159	0,459	0,474	0,4665	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	185	0,335	0,319	0,327	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
160	0,196	0,197	0,1965	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	186	0,296	0,301	0,2985	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
161	0,671	0,708	0,6895	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	187	0,155	0,151	0,153	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047
162	0,064	0,064	0,064	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	188	0,281	0,276	0,2785	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
163	0,097	0,093	0,095	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	189	0,153	0,148	0,1505	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047
164	0,088	0,081	0,0845	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	190	0,185	0,182	0,1835	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
165	0,066	0,058	0,062	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	191	0,224	0,23	0,227	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
166	0,581	0,575	0,578	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	192	0,171	0,173	0,172	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
167	0,416	0,426	0,421	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	193	0,321	0,326	0,3235	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
168	0,088	0,078	0,083	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	194	0,3	0,291	0,2955	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
169	0,698	0,708	0,703	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	195	0,498	0,499	0,4985	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
170	0,126	0,128	0,127	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	196	1,489	1,536	1,5125	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
171	0,434	0,43	0,432	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	197	0,802	0,79	0,796	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047
172	0,293	0,288	0,2905	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	198	0,161	0,163	0,162	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047
173	0,311	0,291	0,301	0,169	Reactivo	0,0075	2,697	0,058	199	0,118	0,116	0,117	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047
174	0,055	0,05	0,0525	0,169	No reactivo	0,0075	2,697	0,058	200	0,264	0,265	0,2645	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047

201	0,129	0,143	0,136	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	227	0,799	0,832	0,8155	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
202	2,535	2,652	2,5935	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	228	2,421	2,237	2,329	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
203	0,103	0,104	0,1035	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	229	0,31	0,319	0,3145	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
204	0,239	0,249	0,244	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	230	0,297	0,29	0,2935	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
205	0,091	0,09	0,0905	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	231	0,316	0,312	0,314	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
206	0,074	0,075	0,0745	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	232	0,056	0,055	0,0555	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
207	0,368	0,39	0,379	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	233	0,188	0,186	0,187	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
208	0,271	0,273	0,272	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	234	0,113	0,113	0,113	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
209	0,398	0,406	0,402	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	235	0,365	0,364	0,3645	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
210	0,378	0,355	0,3665	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	236	1,643	1,619	1,631	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
211	0,069	0,067	0,068	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	237	0,555	0,537	0,546	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
212	0,278	0,29	0,284	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	238	0,077	0,081	0,079	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
213	0,524	0,512	0,518	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	239	0,664	0,64	0,652	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
214	0,057	0,059	0,058	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	240	0,276	0,276	0,276	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
215	0,416	0,414	0,415	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	241	0,307	0,306	0,3065	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
216	0,276	0,275	0,2755	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	242	0,082	0,083	0,0825	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
217	1,002	1,017	1,0095	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	243	1,042	1,013	1,0275	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
218	0,707	0,69	0,6985	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	244	0,128	0,129	0,1285	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
219	0,051	0,051	0,051	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	245	0,668	0,661	0,6645	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
220	0,045	0,049	0,047	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	246	0,303	0,297	0,3	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
221	0,257	0,246	0,2515	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	247	0,957	0,933	0,945	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
222	0,044	0,043	0,0435	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	248	1,025	1,024	1,0245	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
223	0,728	0,735	0,7315	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	249	0,269	0,27	0,2695	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
224	0,051	0,048	0,0495	0,165	No reactivo	0,007	2,694	0,047	250	0,164	0,166	0,165	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
225	2,878	2,916	2,897	0,165	Reactivo	0,007	2,694	0,047	251	0,638	0,65	0,644	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
226	0,068	0,068	0,068	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053	252	0,447	0,471	0,459	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053

253	0,061	0,063	0,062	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
254	0,039	0,038	0,0385	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
256	0,243	0,242	0,2425	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
257	0,077	0,079	0,078	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
258	0,11	0,111	0,1105	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053
259	0,168	0,166	0,167	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
260	0,144	0,141	0,1425	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
261	0,241	0,236	0,2385	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
262	0,042	0,041	0,0415	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
263	0,065	0,062	0,0635	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
264	0,21	0,195	0,2025	0,142	Reactivo	0,008	2,751	0,053
265	0,09	0,088	0,089	0,142	No reactivo	0,008	2,751	0,053

Anexo 10

Registro de resultados de la prueba confirmatoria de Inmunoblot

N°	Código	Edad	ELISA	IMUNOBLOT										
1	91486913	13	No reactivo	Negativo	21	91488913	8	No reactivo	Negativo	42	91491113	11	No reactivo	Negativo
2	91487013	17	Reactivo	Negativo	22	91489113	9	No reactivo	Negativo	44	91491213	7	No reactivo	Negativo
3	91487113	11	Reactivo	Negativo	23	91489213	10	Reactivo	Negativo	45	91491313	9	No reactivo	Negativo
4	91487213	11	Reactivo	Negativo	24	91489313	9	No reactivo	Negativo	46	91491413	10	Reactivo	Negativo
5	91487313	13	No reactivo	Negativo	25	91489413	6	No reactivo	Negativo	47	91491513	10	Reactivo	Negativo
6	91487413	13	No reactivo	Negativo	26	91489513	7	Reactivo	Negativo	48	91491613	11	Reactivo	Negativo
7	91487513	11	No reactivo	Negativo	27	91489613	10	No reactivo	Negativo	49	91491713	11	Reactivo	Negativo
8	91487613	12	Reactivo	Negativo	28	91489713	10	Reactivo	Negativo	50	91491813	13	No reactivo	Negativo
9	91487713	11	No reactivo	Negativo	29	91489813	7	No reactivo	Negativo	51	91491913	15	Reactivo	Negativo
10	91487813	12	No reactivo	Negativo	30	91489913	6	Reactivo	Negativo	52	91492013	14	Reactivo	Negativo
11	91487913	12	No reactivo	Negativo	31	91490013	6	No reactivo	Negativo	53	91492113	13	Reactivo	Negativo
12	91488013	14	No reactivo	Negativo	32	91490113	9	Reactivo	Negativo	54	91492213	15	No reactivo	Negativo
13	91488113	14	Reactivo	Negativo	33	91490213	8	No reactivo	Negativo	55	91492313	12	No reactivo	Negativo
14	91488213	12	Reactivo	Positivo	34	91490313	10	No reactivo	Negativo	56	91492413	16	No reactivo	Negativo
15	91488313	11	Reactivo	Negativo	35	91490413	9	Reactivo	Negativo	57	91492513	13	No reactivo	Negativo
16	91488413	11	No reactivo	Negativo	36	91490513	8	No reactivo	Negativo	58	91492613	16	Reactivo	Negativo
17	91488513	11	Reactivo	Negativo	37	91490613	6	No reactivo	Negativo	59	91492713	19	Reactivo	Negativo
18	91488613	12	Reactivo	Negativo	38	91490713	10	Reactivo	Negativo	60	91492813	13	No reactivo	Negativo
19	91488713	13	Reactivo	Negativo	39	91490813	10	No reactivo	Negativo	61	91492913	16	Reactivo	Negativo
20	91488813	8	Reactivo	Negativo	40	91490913	9	Reactivo	Negativo	62	91493013	15	Reactivo	Negativo
					41	91491013	8	No reactivo	Negativo	63	91493113	16	Reactivo	Negativo

64	91493213	16	No reactivo	Negativo	90	91495913	12	Reactivo	Negativo	116	91498613	8	Reactivo	Negativo
65	91493413	16	Reactivo	Negativo	91	91496013	10	Reactivo	Negativo	117	91498713	10	Reactivo	Negativo
66	91493513	18	Reactivo	Positivo	92	91496113	10	No reactivo	Negativo	118	91498813	12	Reactivo	Negativo
67	91493613	15	No reactivo	Negativo	93	91496213	8	No reactivo	Negativo	119	91498913	7	No reactivo	Negativo
68	91493713	17	Reactivo	Negativo	94	91496313	18	Reactivo	Negativo	120	91499013	12	Reactivo	Negativo
69	91493813	16	No reactivo	Negativo	95	91496413	16	Reactivo	Negativo	121	91499113	9	Reactivo	Negativo
70	91493913	15	No reactivo	Negativo	96	91496513	6	Reactivo	Negativo	122	91499213	6	No reactivo	Negativo
71	91494013	14	No reactivo	Negativo	97	91496613	12	Reactivo	Negativo	123	91499313	12	Reactivo	Negativo
72	91494113	17	Reactivo	Positivo	98	91496713	8	Reactivo	Negativo	124	91499413	14	Reactivo	Negativo
73	91494213	12	No reactivo	Negativo	99	91496813	8	No reactivo	Negativo	125	91499513	13	Reactivo	Negativo
74	91494313	14	No reactivo	Negativo	100	91496913	10	Reactivo	Negativo	126	91499613	12	No reactivo	Negativo
75	91494413	15	Reactivo	Negativo	101	91497013	9	No reactivo	Negativo	127	91499713	12	Reactivo	Negativo
76	91494513	17	Reactivo	Negativo	102	91497113	11	No reactivo	Negativo	128	91499813	12	Reactivo	Negativo
77	91494613	15	Reactivo	Negativo	103	91497213	8	Reactivo	Negativo	129	91499913	13	Reactivo	Negativo
78	91494713	18	Reactivo	Negativo	104	91497313	10	Reactivo	Negativo	130	91500013	13	Reactivo	Positivo
79	91494813	16	Reactivo	Negativo	105	91497413	8	Reactivo	Negativo	131	91500113	14	No reactivo	Negativo
80	91494913	15	No reactivo	Negativo	106	91497513	8	No reactivo	Negativo	132	91500213	16	Reactivo	Negativo
81	91495013	10	Reactivo	Negativo	107	91497713	10	Reactivo	Negativo	133	91500313	13	Reactivo	Negativo
82	91495113	6	No reactivo	Negativo	108	91497813	9	Reactivo	Negativo	134	91500413	12	Reactivo	Negativo
83	91495213	12	Reactivo	Negativo	109	91497913	13	Reactivo	Negativo	135	91500513	13	No reactivo	Negativo
84	91495313	13	No reactivo	Negativo	110	91498013	11	No reactivo	Negativo	136	91500613	14	Reactivo	Negativo
85	91495413	9	No reactivo	Negativo	111	91498113	14	No reactivo	Negativo	137	91500713	13	Reactivo	Negativo
86	91495513	11	No reactivo	Negativo	112	91498213	11	Reactivo	Negativo	138	91500813	13	Reactivo	Negativo
87	91495613	14	Reactivo	Negativo	113	91498313	11	Reactivo	Negativo	139	91500913	13	Reactivo	Negativo
88	91495713	10	No reactivo	Negativo	114	91498413	12	Reactivo	Negativo	140	91501013	13	Reactivo	Negativo
89	91495813	11	Reactivo	Negativo	115	91498513	9	No reactivo	Negativo	141	91501113	15	Reactivo	Negativo

142	91501213	12	Reactivo	Negativo	168	91503913	16	No reactivo	Negativo	194	91506613	15	Reactivo	Negativo
143	91501313	17	Reactivo	Negativo	169	91504013	18	Reactivo	Negativo	195	91506713	16	Reactivo	Negativo
144	91501413	16	Reactivo	Negativo	170	91504113	13	Reactivo	Negativo	196	91506813	17	Reactivo	Positivo
145	91501513	14	No reactivo	Negativo	171	91504213	15	Reactivo	Negativo	197	91506913	17	Reactivo	Positivo
146	91501613	15	No reactivo	Negativo	172	91504313	14	Reactivo	Negativo	198	91507013	18	No reactivo	Negativo
147	91501713	13	No reactivo	Negativo	173	91504413	15	Reactivo	Negativo	199	91507113	16	No reactivo	Negativo
148	91501813	13	No reactivo	Negativo	174	91504513	13	No reactivo	Negativo	200	91507213	16	Reactivo	Negativo
149	91502013	12	Reactivo	Negativo	175	91504613	16	Reactivo	Negativo	201	91507313	16	No reactivo	Negativo
150	91502113	13	Reactivo	Negativo	176	91504713	15	No reactivo	Negativo	202	91507413	16	Reactivo	Positivo
151	91502213	13	No reactivo	Negativo	177	91504813	16	Reactivo	Negativo	203	91507513	16	No reactivo	Negativo
152	91502313	16	Reactivo	Negativo	178	91504913	15	Reactivo	Negativo	204	91507613	16	Reactivo	Negativo
153	91502413	13	Reactivo	Negativo	179	91505013	15	Reactivo	Negativo	205	91507713	18	No reactivo	Negativo
154	91502513	14	No reactivo	Negativo	180	91505113	18	Reactivo	Negativo	206	91507813	15	No reactivo	Negativo
155	91502613	13	No reactivo	Negativo	181	91505213	16	No reactivo	Negativo	207	91507913	17	Reactivo	Negativo
156	91502713	14	Reactivo	Negativo	182	91505313	18	No reactivo	Negativo	208	91508013	17	Reactivo	Negativo
157	91502813	14	Reactivo	Negativo	183	91505413	17	Reactivo	Negativo	209	91508113	15	Reactivo	Negativo
158	91502913	14	No reactivo	Negativo	184	91505513	16	Reactivo	Negativo	210	91508213	15	Reactivo	Negativo
159	91503013	13	Reactivo	Negativo	185	91505613	15	Reactivo	Negativo	211	91508313	16	No reactivo	Negativo
160	91503113	15	Reactivo	Negativo	186	91505713	17	Reactivo	Negativo	212	91508413	15	Reactivo	Negativo
161	91503213	15	Reactivo	Negativo	187	91505813	17	No reactivo	Negativo	213	91508513	18	Reactivo	Negativo
162	91503313	18	No reactivo	Negativo	188	91505913	18	Reactivo	Negativo	214	91508613	16	No reactivo	Negativo
163	91503413	15	No reactivo	Negativo	189	91506013	17	No reactivo	Negativo	215	91508713	7	Reactivo	Negativo
164	91503513	15	No reactivo	Negativo	190	91506113	17	Reactivo	Negativo	216	91508813	12	Reactivo	Negativo
165	91503613	14	No reactivo	Negativo	191	91506313	17	Reactivo	Negativo	217	91509013	10	Reactivo	Negativo
166	91503713	14	Reactivo	Positivo	192	91506413	17	Reactivo	Negativo	218	91509113	8	Reactivo	Negativo
167	91503813	16	Reactivo	Negativo	193	91506513	18	Reactivo	Negativo	219	91509213	10	No reactivo	Negativo

220	91509313	9	No reactivo	Negativo	246	91511913	12	Reactivo	Negativo
221	91508913	9	Reactivo	Negativo	247	91512013	11	Reactivo	Positivo
222	91509413	8	No reactivo	Negativo	248	91512113	11	Reactivo	Negativo
223	91509513	8	Reactivo	Negativo	249	91512213	9	Reactivo	Negativo
224	91509613	9	No reactivo	Negativo	250	91512313	12	Reactivo	Negativo
225	91509713	9	Reactivo	Positivo	251	91512413	12	Reactivo	Negativo
226	91509813	10	No reactivo	Negativo	252	91512513	11	Reactivo	Negativo
227	91509913	9	Reactivo	Negativo	253	91512613	11	No reactivo	Negativo
228	91510013	9	Reactivo	Positivo	254	91512713	12	No reactivo	Negativo
229	91510113	9	Reactivo	Negativo	255	91512813	12	No reactivo	Negativo
230	91510213	8	Reactivo	Negativo	256	91512913	11	Reactivo	Negativo
231	91510313	10	Reactivo	Negativo	257	91513013	11	No reactivo	Negativo
232	91510413	9	No reactivo	Negativo	258	91513113	11	No reactivo	Negativo
233	91510613	13	Reactivo	Negativo	259	91513213	11	Reactivo	Negativo
234	91510713	8	No reactivo	Negativo	260	91513313	7	Reactivo	Negativo
235	91510813	13	Reactivo	Negativo	261	91513413	7	Reactivo	Negativo
236	91510913	8	Reactivo	Positivo	262	91513513	7	Reactivo	Negativo
237	91511013	14	Reactivo	Negativo	263	91513613	10	Reactivo	Negativo
238	91511113	8	No reactivo	Negativo	264	91513713	6	Reactivo	Negativo
239	91511213	9	Reactivo	Negativo	265	91513813	8	No reactivo	Negativo
240	91511313	9	Reactivo	Negativo					
241	91511413	8	Reactivo	Negativo					
242	91511513	9	No reactivo	Negativo					
243	91511613	11	Reactivo	Positivo					
244	91511713	9	No reactivo	Negativo					
245	91511813	9	Reactivo	Negativo					

Anexo 11

Extracción de líquido hidatídico para la obtención de antígeno hidatídico de *Equinococcus granulosus*

Obtención de líquido hidatídico

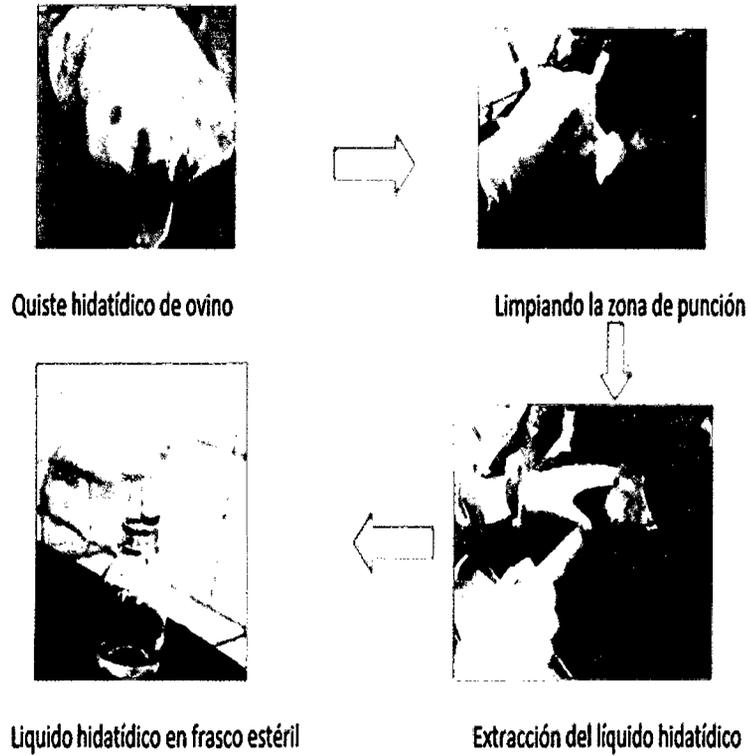


Figura 17. Obtención de líquido hidatídico de bovino y ovino.

Anexo 12

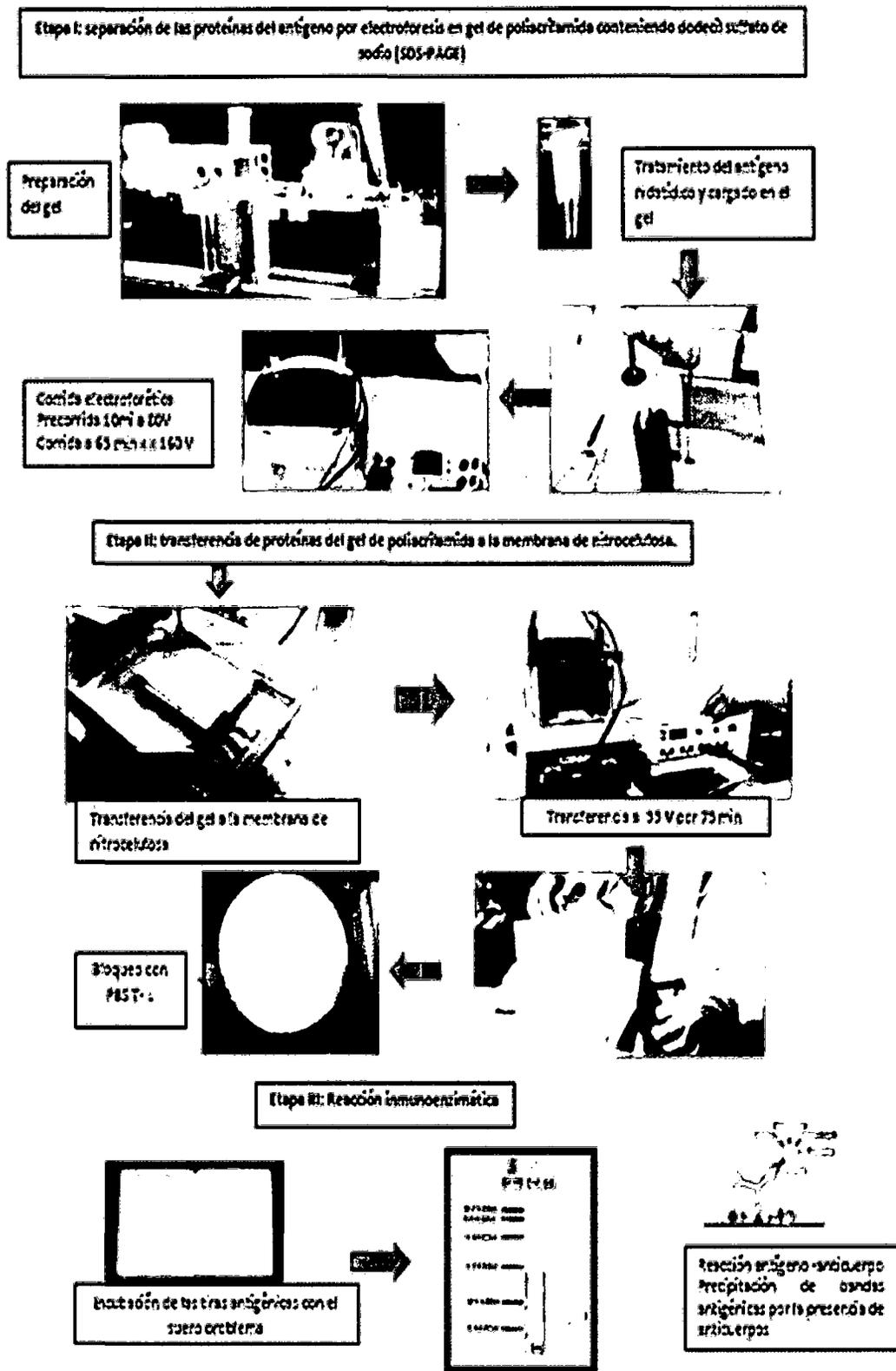


Figura 18. Técnica de Inmunoblot para el diagnóstico de equinocosis quística.

Anexo 13

Constancia de aprobación de protocolo de tesis por el comité de Ética del Instituto Nacional de Salud. Lima, 2013.



PERU

Ministerio de Salud

Instituto Nacional de Salud

Comité Institucional de Ética en Investigación

DECENIO DE LAS PERSONAS CON DISCAPACIDAD EN EL PERU
Año de la Inversión para el Desarrollo Rural y la Seguridad Alimentaria

Jesús María, 13 de noviembre del 2013

OFICIO N° 1741-2013-CIE/INS

Señor Doctor
TOMAS CASTRO CARRANZA
Decano
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
Presente.

ASUNTO: CONSTANCIA DE APROBACION DEL PROTOCOLO DE TESIS.

REFERENCIA: OFICIO N°026-2013-CI/MS

Da mi consideración

Mediante el presente, expreso a usted mi cordial saludo y a la vez hago de su conocimiento que el Comité Institucional de Ética en Investigación del INS, ha **EVALUADO y APRUEBA** el proyecto de tesis titulado: **"Seroprevalencia de Equinococosis quística y factores de riesgo asociados en población escolar del Distrito de Huafra, Ayacucho. 2013"**, por lo que le hacemos llegar la Constancia de Aprobación respectiva, la misma que tendrá vigencia desde el 05 de noviembre del 2013 hasta el 04 de noviembre del 2014.

Asimismo, le solicitamos hacer llegar el **Informe Semestral de avance de ejecución** del proyecto de ser necesario presentar con un mes de antelación la solicitud de extensión cumpliendo los siguientes requisitos:

- Carta dirigida al presidente del CIEI
- Haber cumplido con presentar **Informes Periódicos de Avance del CIEI (formato G)**
- Haber cumplido con los compromisos ante el CIEI, según documento adjunto

Si en otro particular, reitero a usted las muestras de mi especial consideración

Atentamente,



Mg. Elias Wilfredo Salinas Castro
Presidente

Comité Institucional de Ética en Investigación
Instituto Nacional de Salud

EWSC/NLF/cml

Reg: 17441-13
Exp: 01-064-13

Cápac Yupanqui N° 1400, Jesús María, Lima 11
Central: 749-1111, e-mail: postmaster@ins.gob.pe / Página Web: www.ins.gob.pe

Anexo 14
Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	MARCO TEORICO	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>¿Cuál será la seroprevalencia de equinococosis quística y factores de riesgo asociados en la población escolar del distrito de Hualla, Ayacucho. 2013?</p>	<p>Objetivo general: - Determinar la seroprevalencia de equinococosis quística en escolares del distrito de Hualla de la provincia de Víctor Fajardo. Ayacucho, 2013.</p> <p>Objetivos específicos: - Determinar la seroprevalencia de equinococosis quística humana por la técnica de ELISA IgG. - Determinar la seroprevalencia de equinococosis quística humana por el método Inmunoblot IgG para la confirmación del diagnóstico. - Identificar los factores de riesgo asociados a la infección de equinococosis quística mediante el uso de fichas elaboradas.</p>	<p>Existen un alto porcentaje de equinococosis quística asociados a factores de riesgo en población escolar del distrito de Hualla. Ayacucho. 2013.</p>	<p>La equinococosis o hidatidosis humana: es una parasitosis causada por cestodos del género <i>Echinococcus</i>. Las especies <i>E. granulosus</i> y <i>E. multilocularis</i>, agentes causales de la equinococosis quística y equinococosis alveolar, respectivamente, son los más importantes desde el punto de vista de salud pública y por su distribución geográfica e impacto económico a nivel mundial. Transmisión. Algunos animales herbívoros y omnívoros son huéspedes intermediarios de <i>Echinococcus</i>. Esto significa que contraen la infección a través de la ingesta de huevos del parásito en el suelo contaminado, y desarrollan las fases larvianas del parásito en sus vísceras. Los carnívoros, que son huéspedes finales para el parásito, se infectan mediante el consumo de vísceras de huéspedes intermediarios que albergan el parásito, y también al escharbar en animales muertos infectados.</p>	<p>VARIABLE PRINCIPAL: Seroprevalencia de equinococosis quística en la población escolar del distrito de Hualla.</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Positivo: Se detecta la presencia de anticuerpos específicos (IgG) contra la larva o hidátide de <i>Echinococcus granulosus</i> - Negativo: No se detecta la presencia de anticuerpos específicos (IgG) contra la larva o hidátide de <i>Echinococcus granulosus</i> <p>VARIABLE SECUNDARIA: Factores de riesgo asociados a la prevalencia de equinococosis quística</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sociales: edad, género, lugar de procedencia; nivel de educación: primaria, secundaria. - Epidemiológicos: conoce el quiste hidatídico; cuenta con agua potable; cuenta con un sistema de desagüe; cría perros en casa; desparasita a su perro; tipo de ganado que tienen en su casa; beneficio de su ganado; disposición de vísceras; lavarse la mano antes del consumo de sus alimentos; lavarse las manos después de entrar en contacto con el perro. - Clínicos: Náuseas, vómitos, diarrea, ictericia, dolor hepático, dolor abdominal, dolor del tórax, tos frecuente. - Antecedentes familiares: Algún familiar tiene o ha tenido equinococosis quística o hidatidosis. - Datos culturales: Consumo de vegetales de tallos cortos, en que forma lo consume. 	<ul style="list-style-type: none"> - TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Básico - Descriptivo. - POBLACIÓN: Estuvo conformada por la totalidad de estudiantes de las 5 Instituciones Educativas, tanto de educación primaria con un total de 307 estudiantes y educación secundaria con un total de 270 estudiantes siendo esta un total de 577. - MUESTRA: Se obtuvo un total de 265 muestras sanguíneas. - PROCEDIMIENTOS: - Se coordinó con las autoridades de la Municipalidad e Instituciones educativas, para el desarrollo de charlas de sensibilización y la toma de muestras. - Se obtuvo los consentimientos y asentimientos firmados por los padres y niños participantes. - Se recolectó las muestras sanguíneas previo llenado de la ficha epidemiológica.. - Se centrifugaron las muestras de sangre para obtener el suero donde se rotularon y fueron conservadas en viales a una temperatura de 4°C en el laboratorio del Centro de Salud Hualla. - Se realizó el análisis serológico en el laboratorio de Referencia Nacional de Zoonosis Parasitaria del INS, para determinar la seroprevalencia mediante la técnica de ELISA IgG (tamiz) e Inmunoblot (confirmatoria) - La interpretación de resultados fue en el laboratorio de Referencia Nacional de Zoonosis Parasitaria del INS, Lima. - Se construyó la base de datos. - Se hizo el análisis de los resultados. - Se redactó el informe final.