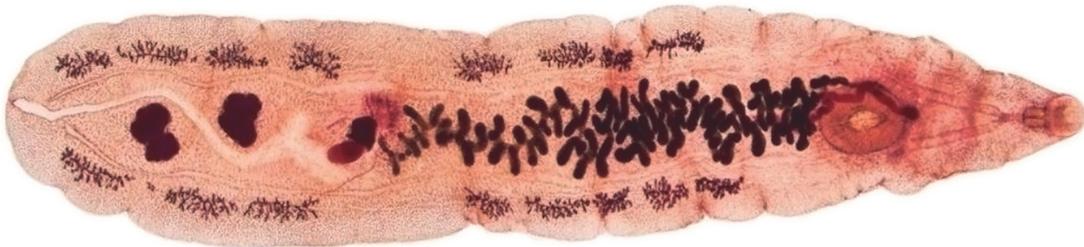


NUEVO MÉTODO PARA DETECTAR LA PRESENCIA DEL PARÁSITO DUELA HEPÁTICA *Amphimerus spp.*



Amphimerus spp.

La poca cocción de alimentos animales como los peces puede ser fuente de parásitos que afectan al hígado.

La población Chachi, que vive en lugares apartados a lo largo del río Caypas en la provincia de Esmeraldas, se expone al riesgo permanente de sufrir una enfermedad endémica (propia de una zona determinada) denominada Amphimeriasis, ocasionada por el parásito duela hepática *Amphimerus spp.* de la familia *Opisthorchiidae* que vive en los peces de agua dulce. Esta enfermedad zoonótica (proviene de animales en este caso los peces) se presenta en animales domésticos y en seres humanos. Aunque en general no causa síntomas, se ha comprobado que afecta al hígado y a la vesícula biliar.

En esta zona se ha reportado la Amphimeriasis en porcentajes de **15,5%** a **34,1%** en seres humanos, posiblemente debido al consumo de peces ahumados o medianamente

cocidos. También se ha reportado infección en **71,4%** de perros y **38,7%** de gatos, animales que sirven como huéspedes definitivos y reservorios del parásito.

Hasta el momento se puede identificar a la duela hepática *Amphimerus spp.* únicamente con el análisis microscópico de las heces fecales humanas en las que se encuentran los óvulos del parásito, pero muchas veces el diagnóstico se ve afectado por la temperatura a la hora de conservar las muestras que puede dañar a los óvulos y también porque este método tiene baja sensibilidad, es decir, no puede detectar el parásito en todas las muestras, aunque estas sí tengan el parásito. Por estas razones, un grupo de investigadores de la Facultad de Medicina de la Universidad Central del Ecuador y de la Universidad de Sa-

lamanca, realizó una investigación para detectar al parásito aplicando dos nuevos métodos.

El grupo desarrolló una técnica ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay o ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas) para detectar anticuerpos (IgG, inmunoglobulina G) contra el parásito *Amphimerus* en sueros humanos (componente de la sangre) y un método molecular basado en la tecnología LAMP (llamada LAMPhimerus) para la detección específica de segmentos ADN (genes) de los parásitos en muestras de heces.

El estudio se realizó en 102 participantes Chachis de 1 a 65 años de edad, que habitaban en El Progreso y Estero Vicente del Cantón Eloy Alfaro, junto al Río Caypas en la Provincia de

Esmeraldas. Cada participante recibió un frasco adecuado para la recolección de una muestra de heces. Las muestras fueron transportadas al laboratorio de parasitología ubicado en el Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador.

En el laboratorio se analizaron las muestras para ver la presencia de parásitos en el microscopio mediante tres técnicas a) sedimentación simple que es permitir que la parte gruesa de la materia quede en fondo de un recipiente, b) concentración de formalina-éter que consiste en verter una solución de formalina y éter en una muestra y luego someter el compuesto a centrifugación y c) técnica de Kato-Katz en la que la muestra se pasa por un tamiz para obtener heces sin fibras, luego someterla a aclarado utilizando glicerina, y adicionar un colorante -verde de malaquita- para que resalte la presencia de huevos de parásitos.

Como siguiente paso, se tomó un poco de cada muestra y se la extendió con un hisopo sobre un pedazo de papel de filtro de 10 x 2 cm, numerado para cada muestra, el que se secó al aire y dobló en la mitad para envolverlo individualmente en papel de aluminio. Las

muestras secas se almacenaron a temperatura ambiente hasta enviarlas al Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Universidad de Salamanca, donde permanecieron almacenadas durante 1 año.

En tanto, se obtuvo ADN (material genético) de parásitos *Amphimerus* spp congelados, que ya habían sido extraídos de hígados de perros y gatos infectados que vivían en la zona de los Chachis. El material genético sirvió como control positivo, es decir, para compararlo en todas las reacciones del método molecular propuesto, LAMP.

Posteriormente se obtuvo el ADN de las muestras secas de heces humanas que se conservaron a temperatura ambiente. Estas muestras de ADN se almacenaron a 20 grados centígrados para luego estudiarlas con el método LAM-Phimerus, que consistió en multiplicar el ADN de *Amphimerus* spp mediante diferentes reacciones químicas, para luego ser visualizado con un colorante fluorescente al exponerlo a la luz ultravioleta.

Como resultado de los análisis realizados a las 102 muestras, con la aplicación de las distintas técnicas microscópicas, se encontró 38

muestras positivas con huevos del parásito *Amphimerus* spp.

Los análisis realizados con el método propuesto por los investigadores, LAMPhimerus, demostraron que de las 102 muestras, 61 resultaron positivas. Esta cantidad incluye las 28 muestras que resultaron positivas en el método microscópico y otras 33 que salieron negativas con ese método. Es decir, esta nueva técnica molecular era más efectiva que la microscopía para diagnosticar Amphimeriasis.

Los investigadores también demostraron por primera vez que el papel de filtro común sirve para almacenar durante largo tiempo las heces humanas sin que se altere el material genético y es útil para obtener el material genético ADN que permita detectar la presencia del parásito. Este método de almacenamiento es económico y de fácil manejo y combinado con el ensayo LAMPhimerus específico y sensible, tiene el potencial de ser utilizado como una prueba de detección molecular en gran escala para anphimeriasis endémica y también para el diagnóstico molecular de otras enfermedades parasitarias infecciosas humanas en áreas alejadas y con entornos pobres.

Cevallos y cols. 2018

Proveer información sobre la cocción de los alimentos a poblaciones aisladas evitará riesgos de enfermedades parasitarias.

