



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

PREVALENCIA DE EQUINOCOCOSIS CANINA EN PREDIOS ASESORADOS
POR PRODESAL EN EL SECTOR SUR DE LA ZONA RURAL DE LA COMUNA
DE MELIPILLA, REGIÓN METROPOLITANA, CHILE.

PAMELA ALEJANDRA LARA MOLINA

Memoria para optar al Título

Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Medicina Preventiva.

PROFESOR GUÍA: DR. JOSÉ ANTONIO SEGURA MERY.

SEREMI de Salud Región Metropolitana

SANTIAGO, CHILE

2013



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

PREVALENCIA DE EQUINOCOCOSIS CANINA EN PREDIOS ASESORADOS
POR PRODESAL EN EL SECTOR SUR DE LA ZONA RURAL DE LA COMUNA
DE MELIPILLA, REGIÓN METROPOLITANA, CHILE.

PAMELA ALEJANDRA LARA MOLINA

Memoria para optar al Título

Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Medicina Preventiva.

NOTA FINAL.....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUIA: DR. JOSE ANTONIO SEGURA M.
PROFESOR CORRECTOR: DR. LUIS IBARRA.
PROFESOR CORRECTOR: DR. PEDRO CATTAN.

SANTIAGO, CHILE

2013

DEDICATORIAS

Esta memoria de título para optar al título de Médico Veterinario se la dedico principalmente a mi familia y amigos.

A mi madre Lucía, por vivir por y para nosotras, con tu esfuerzo y dedicación constante me enseñaste a ser una mujer fuerte y dedicada en la vida. Te amo mamá.

A mi tía chita, por el apoyo incondicional a mi madre y en nuestras vidas, un besote enorme, te amo, gracias por tu compañía.

A mi padre, gracias por tu apoyo. Un abrazo.

A mis hermanas; Auchí, Mane y Maca, por el ejemplo que me han dado de vida y por el apoyo constante en este camino académico y siempre. Solo decirles a todas, que nada sería igual sin uds. Las amo.

A mis sobrinos; Francisca y Joaquín, son la luz de mi vida, los adoro por sobre todas las cosas, ya tienen a la última tía profesional.

A mi pololo Carlitos, gracias por haberme acompañado estos últimos dos años y medio y haber sido un apoyo constante en todo tipo de situaciones, risas y emociones. Hoy, emprendemos un nuevo camino. Te amo gran amigo mío.

Al Nino, por apoyarme siempre y acompañarme con largas conversaciones. Un beso.

A mis amigos hermanos; Paula, Primo Cristian, Primo Maty, Cony, Cami, Franco, Vika, Ale, Edu, Negro, Rocío y Kert por haberme acompañado en todo momento, por haber disfrutado de esas risas constantes y explosivas, gracias por alegrar mi vida. Sé que son personitas con las cuales puedo contar siempre y uds. cuentan conmigo. Los adoro.

“Compañera usted sabe que puede contar conmigo, no hasta dos o hasta diez si no contar conmigo. Si alguna vez advierte que la miro a los ojos y una veta de amor reconoces en los míos no alerte sus fusiles ni piense que delirio a pesar de la veta o tal vez porque existe, usted puede contar conmigo. Si otras veces me encuentra huraño y sin motivo no piense que es flojera, igual puede contar conmigo. Es tan lindo saber que usted existe uno se siente vivo y cuando digo esto quiero decir contar aunque sea hasta dos, aunque sea hasta cinco, no ya para que acuda presurosa a mi auxilio si no para saber a ciencia cierta que usted sabe que puede contar conmigo” Mario Benedetti.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. José Antonio Segura M., Jefe de Unidad de Zoonosis, SEREMI de Salud Región Metropolitana, por haberme apoyado constantemente en esta memoria de título.

A mis profesores correctores, Dr. Luis Ibarra y Dr. Pedro Cattán, por haberme apoyado y ayudado a perfeccionar este trabajo de memoria de título.

A la Dra. Myriam Lorca y a Haydeé Gallardo por su apoyo en la etapa de análisis de las muestras y conocimientos entregados. Muchas Gracias.

Al personal de la Unidad de Zoonosis de la Ilustre Municipalidad de Melipilla, a Don Eduardo, Tito y Beto por habernos acompañado y apoyado en esos días de viaje a Melipilla. Muchas gracias y éxito en sus vidas.

Al personal de PRODESAL de Melipilla por el apoyo en las actividades en terreno.

A los usuarios PRODESAL por permitir que sus perros participaran en este estudio.

INDICE DE CAPÍTULOS

Resumen Ejecutivo	7
Abstract	8
Introducción	9
Revisión Bibliográfica	10
Características generales y ciclo de vida de <i>E. granulosus</i>	10
Epidemiología	12
Técnicas diagnósticas	13
Objetivo General	15
Objetivos Específicos	15
Materiales y Métodos	16
Diseño del estudio	16
Área de estudio	16
Universo de muestra	16
Recolección de la información	16
Toma de muestra	17
Análisis de laboratorio	17
Extracción de DNA	17
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	18
Procesamiento y análisis de datos	18
Resultados	19
Discusión	22
Fortalezas/debilidades y recomendaciones	25
Conclusiones	26
Bibliografía	27
Anexos	30

INDICE DE TABLAS

Tabla Nro. 1. Perros según diagnóstico de <i>E. granulosus</i> , por localidad en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM., 2012.	19
Tabla Nro. 2. Usuarios según diagnóstico de <i>E. granulosus</i> en sus perros por localidad en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM., 2012.	20
Tabla Nro. 3. Perros según diagnóstico de <i>E. granulosus</i> y sexo en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM, 2012.	20
Tabla Nro. 4. Perros según diagnóstico de <i>E. granulosus</i> y grupo de edad en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM, 2012.	21

INDICE DE FIGURAS

Figura Nro. 1. Perros según diagnóstico de <i>E. granulosus</i> , en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM., 2012.	19
---	----

RESUMEN EJECUTIVO

La equinococosis, es una enfermedad zoonótica que se presenta en la mayoría de los continentes, desarrollándose especialmente en países con producción ganadera. Las características del ciclo vital de *E. granulosus* predispone a que el ser humano se vea afectado por éste desarrollando uno o varios quistes hidatídicos, pudiendo llevarlo incluso a la muerte. En la Región Metropolitana, la comuna de Melipilla se encuentra en segundo lugar en cuanto a la tasa de egresos hospitalarios de hidatidosis comprendida entre los años 2001 y 2008. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de equinococosis en perros pertenecientes a predios asesorados por el Programa de Desarrollo Local (PRODESAL) en el área rural del sector sur de la comuna de Melipilla, Región Metropolitana, Chile, en el año 2012. Se utilizaron muestras de heces frescas de perros pertenecientes a 64 usuarios con producción ganadera asesorados por PRODESAL distribuidos en 7 localidades de la comuna de Melipilla. Las muestras fueron procesadas por la técnica de reacción de polimerasa en cadena (PCR) en el laboratorio clínico "CAMPVS" ubicado en Santiago. De 234 perros muestreados, 17 de ellos (7,2%) resultaron positivos a la presencia de *E. granulosus*, por lo contrario en 217 perros (92,8%) no se identificó la presencia de dicho parásito. Además, de un total de 7 localidades muestreadas, en 4 de ellas se identificó presencia de *E. granulosus* en perros. También, se comprobó que no existe relación entre la presencia del parásito y el sexo ($p>0,05$) ni edad ($p>0,05$). Es importante contar con esta información para poder establecer programas de prevención y control de esta parasitosis en la población canina de la comuna de Melipilla y así, disminuir el número de animales y personas afectadas por ella.

Palabras claves: Equinococosis, E. granulosus, perros, PCR, Melipilla.

ABSTRACT

Echinococcosis is a zoonotic disease that occurs in most continents, especially in developing countries with livestock production. The lifecycle of *E. granulosus* characteristics predisposes to humans to develop one or more hydatid cysts, which may lead to his dead. In the Metropolitan Region, the Melipilla commune is the second place in terms of Hydatidosis hospital discharges rate between 2001 and 2008. The aim of this study was to determine the prevalence of echinococcosis in dogs belonging to farms advised by the Local Development Programme (PRODESAL) in rural southern of Melipilla commune, Metropolitan Region, Chile, in 2012. We analyzed fresh fecal samples of dogs belonging to 64 users with livestock production advised by PRODESAL distributed in 7 location of Melipilla commune. Samples were processed by polymerase chain reaction technique (PCR) in the clinical laboratory "CAMPVS" located in Santiago. 234 dogs were sampled, 17 of them (7,2%) were positive for the presence of *E. granulosus*, oppositely 217 dogs (92,8%) did not identify the presence of the parasite. In addition, a total of 7 location were sampled, in 4 of them were identified the presence of *E. granulosus* in dogs. Also, it was found that there is no relationship between the presence of the parasite and sex ($p>0,05$) neither age ($p>0,05$). It is important to have this information in order to establish prevention and control programmes of Echinococcosis in dog population of the Melipilla commune and thus reduce the number of animals and people affected by this disease.

Key words: Echinococcosis, E. granulosus, dogs, PCR, Melipilla.

INTRODUCCIÓN

La equinococosis, enfermedad zoonótica causada por *Echinococcus* spp., presenta un hospedero definitivo (HD) cánido el cual se infecta por consumir vísceras infectadas por la forma larval del parásito que afecta a ovinos, bovinos, caprinos y porcinos (FAO, 2007). La equinococosis quística, conocida como hidatidosis, la forma más común de la enfermedad en personas y animales domésticos, es ocasionada por *Echinococcus granulosus* (OIE, 2009) y se adquiere al consumir alimentos contaminados con huevos de este parásito o por contacto directo con huevos presentes en las heces o en el pelaje del cánido. El ciclo evolutivo del parásito se realiza generalmente a través del ciclo del perro, ovino y el hombre (FAO, 2007)

La zona altamente endémica latinoamericana la constituyen Argentina, Brasil, Chile, Bolivia, Perú y Uruguay, provocando pérdidas en la producción agropecuaria, un elevado índice de morbilidad y mortalidad humana, crecientes pérdidas por rendimiento laboral y elevados gastos de hospitalización por intervenciones quirúrgicas e incapacidades físicas (FAO, 2007).

La provincia de Melipilla cuenta con 141.800 habitantes, de los cuales el 42,8% pertenece al área rural. Está compuesta por cinco comunas: Alhué, Curacaví, María Pinto, Melipilla y San Pedro (Ministerio del Interior y Seguridad Pública, 2012). Con respecto a los sistemas productivos en la comuna de Melipilla se presentan predios de bovinos y ovinos con un total de 31.497 y 2.014 cabezas de ganado, respectivamente (INE, 2007).

De acuerdo a la tasa de egresos hospitalarios de hidatidosis comprendida entre los años 2001 y 2008 en la Región Metropolitana (DEIS, 2008), Melipilla, es la segunda comuna con los índices más altos de esta parasitosis en humanos con una tasa de 71,3 casos por cada 100.00 habitantes. Así mismo la comuna de San Pedro es la que presenta la mayor tasa (430,7 casos por 100.000 habitantes) y la prevalencia de equinococosis canina, obtenida mediante la técnica de PCR, bordea el 10% (Sánchez, 2012).

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de *E. granulosus* en la población de perros de los predios que desarrollan producción pecuaria del sector sur de la zona rural de la comuna de Melipilla, pertenecientes a Programa de Desarrollo Local (PRODESAL).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La equinococosis, es una enfermedad parasitaria zoonótica de distribución mundial (OIE, 2009). El agente etiológico descrito en Chile es *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*), siendo el perro el hospedador definitivo de mayor importancia epidemiológica (González *et al.*, 1998).

Echinococcus sp., pertenece al Reino Animalia, Phylum Platyhelminthes, Clase Céstodos, Subclase Eucestoda, Orden Cyclophyllidea, Familia Taeniidae, Género *Echinococcus* y Especie *granulosus*, *multilocularis*, *vogeli*, *oligarthrus* y *shiquicus* (Dwight *et al.*, 2004).

Los hospederos definitivos tales como los perros y otros cánidos, son portadores de los céstodos adultos en forma subclínica. Los hospederos intermediarios (HI) son al principio asintomáticos; sin embargo, el crecimiento del estado larval, forma quistes en órganos vitales como el hígado y los pulmones, pudiendo llevar a la enfermedad y a la muerte del individuo afectado (OIE, 2009). Los humanos, en tanto, también pueden ser infectados albergando uno o más quistes hidatídicos y son considerados HI aberrantes o accidentales (WHO/OIE, 2001; Vera *et al.*, 2003).

Características generales y ciclo vital de *E. granulosus*

El parásito requiere dos hospederos mamíferos para completar su ciclo de vida: la de adulto, que se desarrolla en el intestino del perro y de otros carnívoros (como el zorro), y la larvaria que se desarrolla en forma de quiste, quiste hidatídico, en las vísceras de animales ungulados, especialmente ganado ovino, caprino, bovino o porcino (Larrieu *et al.*, 2004).

La forma adulta corresponde a una tenia blanca microscópica que mide de 3 a 7 mm de longitud, pudiendo existir cientos de ellas en el intestino delgado del perro (especialmente en los primeros 30 cm) sin que este sufra daños o síntomas. El tiempo de vida del adulto se encuentra comprendido entre diez meses y cuatro años (Larrieu *et al.*, 2004).

Con la materia fecal del perro se elimina periódicamente el último de sus tres segmentos o proglótidas conteniendo un promedio de 587 huevos. Estos huevos, son de características ovoideas, de 30 a 40 micras de diámetro, conteniendo un embrión hexacanto (oncósfera o primer estado larval) envueltos en varias membranas, incluyendo

una gruesa pared queratinizada y de alta resistencia, son dispersados por el viento y los insectos contaminando grandes extensiones de campo, el agua de arroyos y pozos de bebida, verduras, etc, pudiendo también permanecer adheridos a los pelos y ano del perro. Los huevos son muy resistentes a las condiciones climáticas pudiendo permanecer viables un año en un amplio rango de temperatura (4 a 15 °C). Por el contrario son sensibles a la desecación pudiendo morir en cuatro días a una humedad ambiente de 0%. (Gemmel y Lawson, 1986.; Gemmel *et al.*, 2001).

La equinococosis quística, es la forma más común de la enfermedad en personas y animales domésticos, ocasionada por *E. granulosus*. Dado que las larvas de este organismo se desarrollan como quistes únicos e independientes, es la forma menos grave y más tratable. No obstante, quistes grandes o múltiples pueden producir daño irreversible a los órganos, y la ruptura o perforación del quiste puede causar reacciones anafilácticas. Por lo general, los humanos manifiestan síntomas muchos años después de la infección (OIE, 2009). Así también, en el caso de herbívoros y personas que padecen equinococosis quística pueden permanecer asintomáticos durante toda su vida (Larrieu *et al.*, 2004).

Los herbívoros (ovinos especialmente) ingieren los huevos al pastorear en campos contaminados. Los huevos eclosionan liberando el embrión hexacanto en el intestino delgado del animal. A través de las vellosidades intestinales, pasan a la circulación venosa y se alojan en el tejido hepático o pulmonar donde forman una o varias hidátides (metacestodo o segundo estado larval) (Larrieu *et al.*, 2004).

Esta parasitosis, provoca pérdidas económicas por el decomiso de los órganos internos en la inspección de la carne. En algunos casos, también puede ocasionar una disminución en la producción de carne y leche, o una disminución del valor del vellón a causa del debilitamiento (OIE, 2009).

Animales parasitados pueden ser faenados por el hombre con fines de alimentación o pueden morir en el campo por otras causas. Si sus vísceras son ingeridas por un perro o por otro cánido (zorro, dingo, etc), los cientos de embriones hexacanto contenidos en un quiste hidatídico son liberados en el intestino del animal dando lugar a la formación de nuevas tenias (Larrieu *et al.*, 2004).

El período prepatente es corto, aproximadamente siete semanas, momento en que comienza la liberación de huevos fértiles, dando lugar a un nuevo ciclo de contaminación ambiental (Larrieu *et al.*, 2004).

El humano es considerado hospedero intermediario accidental, ya que no participa en la transmisión del ciclo parasitario dando término a éste (WHO/OIE, 2001; Vera *et al.*, 2003). Se infecta al ingerir huevos fértiles adheridos al ano o pelos de perros parasitados o por la ingestión de verduras o aguas contaminadas con materia fecal canina. Los huevos eclosionan liberando el embrión hexacanto en el intestino delgado del hombre, los que pasan a la circulación venosa hasta alojarse en el hígado (principal localización), pulmón (segunda localización de importancia) u otra víscera o tejido, donde se formará la hidátide o quiste hidatídico (generalmente solo uno). El crecimiento dependerá del potencial evolutivo del embrión hexacanto, del tejido circundante y de la resistencia del hospedero. Puede ser muy rápido (5 a 10 cm en pocos años) y generar síntomas graves con riesgo de muerte para el portador o puede comportarse en forma benigna, crecer no más de 2 a 7 cm y envejecer con su portador sin producir daño a la salud (Frider *et al.*, 1999).

Epidemiología

La equinococosis quística es una enfermedad endémica descrita en casi todos los continentes, excepto en la Antártica, afectando así a varios países del mundo, especialmente en aquellos con gran actividad agrícola y ganadera. En Sudamérica las mayores prevalencias reportadas corresponden a Argentina, Brasil, Uruguay y Chile (FAO, 2007).

En Chile, las regiones más afectadas son la Región del Maule, Región de Los Lagos, Región de Aysén y la Región de Magallanes y la Antártica chilena. (FAO, 2007). La existencia pecuaria en la comuna de Melipilla alcanza cifras de 31.497 bovinos y un total de 2.014 ovinos (INE, 2007).

En Chile, la hidatidosis humana es una enfermedad de notificación obligatoria diaria. Se notifica una vez confirmado el diagnóstico por el respectivo establecimiento asistencial o por médicos particulares, enviándose al servicio de salud de la zona el formulario de "Enfermedades de Notificación Obligatoria" el mismo día de la confirmación; luego esta información es remitida al Ministerio de Salud semanalmente (MINSAL, 2004).

Durante el año 2011, se realizó un estudio de equinocosis en perros de la comuna de San Pedro, obteniéndose una prevalencia mediante la técnica de reacción de polimerasa en cadena (PCR) de 9,89% en un total de 273 perros muestreados (Sánchez, 2012). Este antecedente de alta contaminación por heces de perros que contienen huevos de *E.granulosus* y contaminan el medio ambiente se relacionan directamente con la alta tasa de egresos hospitalarios de equinocosis quística en dicha comuna la cual registra 430,7 casos por cien mil habitantes durante el periodo comprendido entre los años 2001 y 2008. En el caso de la comuna de Melipilla, la zona presenta todas las condiciones para la circulación del parásito (zona rural, población de perros numerosa, producción pecuaria) y además, registra la segunda tasa más alta de egreso hospitalario de hidatidosis, durante el mismo periodo, la cual es de 71,3 casos por cien mil habitantes (DEIS, 2008).

En cuanto a la presencia del parásito en el hospedero definitivo, es importante mencionar que distintos autores describen que no existe relación entre la presencia del parásito y la edad del perro ni el sexo de éste (Eslami, 1998; Trillo *et al.*,2003).

Técnicas diagnósticas

El diagnóstico de la equinocosis en los perros y otros carnívoros requiere la demostración de los cestodos adultos de *Echinococcus* spp. en las heces o el intestino delgado, la detección de antígenos mediante serología o la detección de los coproantígenos específicos o del copro-DNA (OIE, 2008).

Las pruebas de diagnóstico que tienen mayor validez al identificar el parásito adulto en los perros son la necropsia y la técnica de sedimentación y recuento (TSC). Son pruebas con un 100% de sensibilidad y especificidad pero su limitante principal es que deben ser realizadas en animales muertos, sin embargo, su uso no es viable debido a que requiere la muerte del animal y por el riesgo biológico que involucra la exposición a los huevos altamente infecciosos por parte del personal (Eckert, 2003; Varcasia, 2004; OIE, 2008).

Uno de los métodos más utilizados en la detección de *E. granulosus* y como técnica para establecer programas de control para la equinocosis canina, corresponde al empleo del tenífugo bromhidrato de arecolina. La arecolina, es un agente parasimpático-mimético que genera la purga entre 30 a 60 minutos después de su administración en los perros lo cual permite identificar la muestra de heces correspondiente a cada perro posibilitando la observación directa de las tenias mediante el empleo de una lupa manual y/o microscopio.

Este método ha sido utilizado en todas partes del mundo ya que posee un 100% de especificidad, pero tiene ciertas limitaciones, como la sensibilidad, debido a que no todos los perros responden a la purga (15 a 25% de los perros no resultan purgados) y no siempre es efectiva en la expulsión de los parásitos, por lo cual su sensibilidad varía entre un 60 a 80%, por esta razón la prueba de arecolina puede ser útil para estimar la prevalencia, identificar áreas de riesgo y medir el impacto anual de programas de control de las enfermedades sólo en lugares altamente endémicos, ya que en áreas con bajos niveles de transmisión de la enfermedad, la prueba tiene bajo valor predictivo positivo impidiendo realizar una ajustada evaluación de la prevalencia. Además, la arecolina requiere de personal calificado para su aplicación, debido al riesgo biológico que implica su uso tanto para los operadores como para el ambiente (Varcasia, 2004; OIE, 2008).

Con respecto a las técnicas de diagnóstico realizadas en laboratorio, las pruebas de detección de coproantígenos se basan en la detección del antígeno parasitario presente en las heces utilizando anticuerpos afines purificados contra los antígenos de las proglótidas. Los coproantígenos se pueden detectar mediante la técnica de ELISA de tipo sándwich antes que *Echinococcus* sp. libere sus huevos (Malgor *et al.*, 1997; OIE, 2008). Se ha estimado que la especificidad y sensibilidad de la prueba para detectar los coproantígenos de *Echinococcus* sp. en los perros, es del 92% y 70% respectivamente (Buishi *et al.*, 2005).

Con respecto a los HD, las pruebas serológicas no se consideran totalmente prácticas ya que no diferencia entre las infecciones actuales y las previas, por lo tanto, pueden producirse falsos positivos con las infecciones y producción de anticuerpos en contra de otras especies de *Taenia* sp. (Varcasia, 2004; OIE, 2008).

La técnica de PCR (Reacción de polimerasa en cadena), tiene una especificidad del 100% y una sensibilidad de 94% (Mathis *et al.*, 1996). Además, es útil para diagnosticar la presencia de *E. granulosus* en los casos en que la presencia del parásito en la población canina es relativamente baja (Christofi *et al.* 2002), así como, para discriminar entre los perros positivos a equinococosis canina y aquellos que presentan una parasitosis causada por otro tipo de *Taenia* spp. (Varcasia, 2004).

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de *E. granulosus* en la población de perros de los predios bajo el programa de asesoramiento de PRODESAL del sector sur de la zona rural de la comuna de Melipilla, Región Metropolitana el año 2012.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la prevalencia de equinococosis en la población total de perros en estudio.
2. Identificar perros positivos a presencia de *E. granulosus* por localidad.
3. Evaluar relación presencia de *E. granulosus* según sexo y grupo de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

La obtención de la prevalencia de equinococosis en la población en estudio se realizó mediante un estudio de prevalencia (descriptivo, observacional y transversal).

Área de estudio

Este estudio se realizó obteniendo muestras de heces frescas de la población de perros perteneciente a predios sujetos a PRODESAL que desarrollan producción de ganado (bovino, ovino, caprino y porcino), ubicados en 7 localidades del sector sur de la zona rural de la comuna de Melipilla, Región Metropolitana.

Universo y muestra

Se trabajó con los módulos I, III y IV de PRODESAL los cuales asesoran al sector sur de la comuna de Melipilla (Anexo 1). Además, se contó con el apoyo del área de Zoonosis de la Ilustre Municipalidad de Melipilla.

Cada módulo de PRODESAL asesora a 115 usuarios, obteniéndose un total de 345 usuarios, de los cuales 64 de ellos trabajan con producción de ganado. En el anexo 2 se detalla el número de usuarios con producción de ganado por localidad correspondiente a cada módulo. El muestreo se realizó en el total de estos predios.

Recolección de la información

El muestreo de las heces de los perros pertenecientes a los usuarios sujetos a PRODESAL se realizó durante los meses de Septiembre y Octubre del año 2012. Se muestrearon todos los perros pertenecientes a los predios previamente establecidos en el anexo 2.

Se efectuaron visitas los días martes, miércoles y jueves de cada semana realizando un muestreo diario de perros el cuál dependió del número de animales presentes en cada predio.

Previo a la realización del muestreo, se le explicó al usuario de PRODESAL la importancia de esta parasitosis y se le entregó una ficha de consentimiento informado, la cual fue leída y firmada por el dueño del predio, autorizando la recolección de muestras de heces de los distintos perros pertenecientes a su propiedad (Anexo 3).

Los datos de los perros fueron recopilados en un formulario de registro de perros que se creó para este estudio (Anexo 4). En la ficha se registró el nombre del dueño, dirección y coordenadas tomadas por GPS, localidad, nombre del perro, sexo y edad. Los perros fueron clasificados según su edad en cachorro (menores de 12 meses), adulto (entre 12 meses y 7 años) y senil (más de 7 años) (Debraekeleer *et al.*, 2000).

Toma de muestra

Las muestras de heces frescas fueron recolectadas del medio ambiente donde se encontraban los perros. Dos días antes a la visita se les avisó a los usuarios PRODESAL que participaron en este estudio que se realizaría la visita acordada previamente para realizar el muestreo, indicándoles que tuvieran a sus perros amarrados y así poder coleccionar e identificar las muestras de heces perteneciente a cada perro.

Dentro de las normas de bioseguridad el personal encargado de manipular muestras de heces utilizó guantes, botas, overol y mascarilla facial desechable. Se prestó especial atención a las prácticas de higiene del personal, por ejemplo, correcto lavado de manos luego del trabajo (OIE, 2009). En el anexo 5 se detallan los materiales utilizados para la realización del muestreo de heces.

Se muestrearon aproximadamente 30 gr. de heces frescas las cuales fueron depositadas inmediatamente en un frasco limpio y seco de 50 ml. Las muestras fueron rotuladas de acuerdo a la procedencia del animal. Las muestras fueron depositadas y transportadas adecuadamente en bolsos refrigerantes a Santiago, para ser analizadas en el Laboratorio Clínico Campvs.

Análisis de laboratorio

Una vez entregadas las muestras al laboratorio éstas fueron procesadas por la tecnólogo médico especialista en el análisis de muestras del área de medicina veterinaria del Laboratorio Clínico Campvs mediante el uso de la técnica reacción de polimerasa en cadena (PCR).

Extracción del DNA

Para la extracción del DNA genómico se utilizó una adaptación del protocolo del kit comercial de extracción de DNA WIZARD® GENOMIC PROMEGA (Anexo 6) realizada por Mathis *et al.*, 1996 y Mathis y Desplazes, 2006. Este procedimiento comprende tres

pasos para lograr la obtención del DNA. La primera etapa comprende la purificación mediante la lisis de la pared celular y la pared nuclear para logra exponer el DNA. Luego, las proteínas celulares son removidas por una etapa denominada precipitación de sales dejando así el DNA en suspensión, ya que éste es de mayor peso molecular que las proteínas. Finalmente, el DNA genómico es concentrado y purificado al realizarse una precipitación de sales mediante el uso de Isopropanol (Promega, 2010).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Las condiciones de la técnica de PCR correspondieron a un protocolo estandarizado en el área de bioquímica del laboratorio, modificado del protocolo WIZARD@ GENOMIC PROMEGA, el cual fue complementado según lo descrito por Mathis *et al.*, 1996 y Mathis y Desplazes, 2006.

El programa de la técnica PCR para *E. granulosus* utilizado en el laboratorio se realizó de la siguiente forma: Se dio curso con una denaturación inicial a 94°C x 5 minutos, para luego continuar con la realización de 40 Ciclos, cada ciclo está compuesto por una denaturación a 94°C x 30 segundos; un alineamiento a 56°C x 30 segundos y la extensión del material genético a 72°C x 35 segundos. Posterior a esto, se realizó la extensión final a 72°C x 10 minutos. Al finalizar el procesamiento de la muestra se conservó a 4°C x 1 hora. Los materiales utilizados para la realización del PCR se mencionan en el Anexo 7.

La lectura de los resultados se realizó en un gel de agarosa al 1,5% utilizando espectrofotometría.

Procesamiento y análisis de datos

Los datos fueron digitados en una planilla Excel. Se realizó una depuración de la información, utilizando distribuciones de frecuencia y diagramas de caja para identificar valores errados o perdidos. El análisis de los resultados se realizó con el programa Statistica v.7.

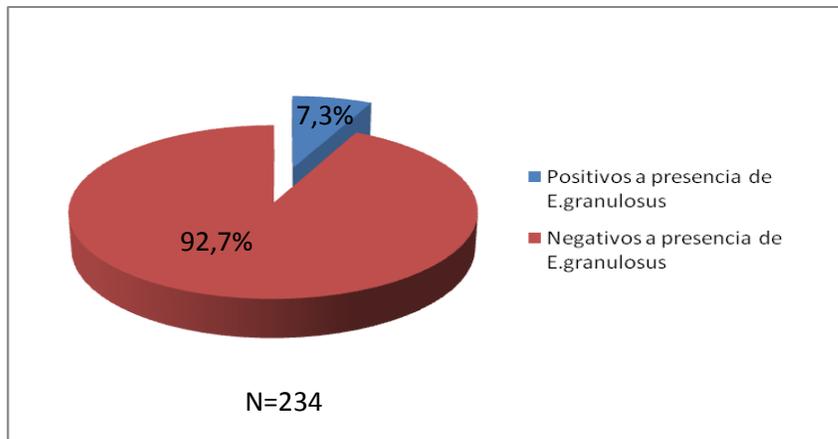
La prevalencia de equinocosis canina en los predios asesorados por PRODESAL en el sector sur de la zona rural de la comuna de Melipilla, RM. se obtuvo utilizando la fórmula de prevalencia puntual (P_t) que expresa la cantidad de individuos (C_t) que presentan una determinada característica de una población total (N_t) en estudio en un tiempo t (Armigón y Jiménez, 2004).

$$\text{Donde, } P_t = \frac{C_t}{N_t}$$

RESULTADOS

De un total de 234 muestras analizadas 17 resultaron positivas a la presencia de *E.granulosus* (figura Nro.1).

Figura Nro. 1. Perros según diagnóstico de *E. granulosus* en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM., 2012.



Al analizar los resultados a nivel de localidad se observó que 4 de ellas (57%) presentaron positividad a presencia de *E. granulosus*, destacando el sector de Culiprán, el que tuvo la mayor cantidad de perros infectados por el parásito, evidenciándose un 18,4% del total de perros muestreados en dicha localidad (Tabla Nro.1).

Tabla Nro. 1. Perros según diagnóstico de *E. granulosus*, por localidad en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM., 2012.

Localidad	Perros muestreados por localidad	Perros positivos a <i>E.granulosus</i>	Proporción de perros positivo a <i>E. granulosus</i> (%)
Codigua	22	1	4,5
Los Maitenes	53	5	9,4
Culiprán	38	7	18,4
Popeta	37	4	10,8
Tantehue	50	0	0,0
Los Guindos	32	0	0,0
Mandinga	2	0	0,0
Total	234	17	7.3

Al evaluar la presencia del parásito por usuario PRODESAL, en la localidad de Culiprán se encontró la mayor proporción de usuarios con perros positivos a la presencia de *E. granulosus*, evidenciándose un 66,6% del total de usuarios visitados en dicha localidad.

Tabla Nro. 2. Usuarios según diagnóstico de *E. granulosus* en sus perros por localidad en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM., 2012.

Localidad	Usuarios con perros muestreados por localidad	Usuarios con perros positivos a <i>E. granulosus</i>	Proporción de usuarios con perros positivo a <i>E. granulosus</i> (%)
Codigua	14	1	7,1
Los Maitenes	13	3	23,0
Culiprán	6	4	66,6
Popeta	10	2	20,0
Tantehue	10	0	0,0
Los Guindos	9	0	0,0
Mandinga	2	0	0,0
Total	64	10	15,6

Tal como se observa en las tablas número 3 y 4, la prueba de independencia utilizando la distribución de Chi² mostró que no existe diferencia significativa según sexo ni edad a la presencia de *E. granulosus* en los perros estudiados.

Tabla Nro. 3. Perros según diagnóstico de *E. granulosus* y sexo en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM, 2012.

Sexo	Diagnóstico de <i>E. granulosus</i>		p*
	Positivos	Negativos	
Macho	10	131	p>0,05*
Hembra	7	86	

*No significativo con un $\alpha = 0,05$.

Tabla Nro. 4. Perros según diagnóstico de *E. granulosus* y grupo de edad en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM, 2012.

Grupo de edad	Diagnóstico de <i>E. granulosus</i>		p*
	Positivos	Negativos	
Cachorros	6	60	p>0,05*
Adultos	10	134	
Seniles	1	23	

*No significativo con un $\alpha = 0,05$.

DISCUSIÓN

Del total de muestras de heces analizadas, un 7,3% resultaron positivas a la presencia del parásito en estudio, demostrando que la población de perros pertenecientes a predios asesorados por PRODESAL presenta un riesgo potencial para la salud pública del sector rural sur de la comuna de Melipilla, RM. La prevalencia de equinococosis canina obtenida en este estudio es similar a la encontrada en la comuna de San Pedro, Provincia de Melipilla, RM., la cual fue de un 9,89%, ya que las condiciones sanitarias, de crianza de animales y población de perros son similares entre ambas comunas (Sánchez, 2012). Así mismo al comparar los resultados con información de Chile se encuentra que la prevalencia del sector en estudio es mayor a la encontrada en la Región de Magallanes y la Antártica chilena, donde en el año 2005 se describe un 1,8% de equinococosis en perros a nivel regional. Esta baja tasa de prevalencia se logró obtener por la implementación de un proyecto de control de la hidatidosis en la dicha región impulsado por el Servicio Agrícola y Ganadero desde el año 1979, ya que al iniciar este plan de control la prevalencia de equinococosis en esta región era de 71,4%. Por el contrario, el porcentaje obtenido se encuentra en un valor menor con respecto a la tasas presentes en las provincias de Argentina, como Río Negro la cual presentó una tasa de prevalencia de esta parasitosis de un 42%, así mismo, en Neuquén se estimó una tasa de 28,8% de equinococosis en perros según lo descrito por Larrieu, 2004.

Por otro lado, se debe considerar que la prevalencia de equinococosis obtenida en el sector en estudio podría ser mayor, ya que como lo describe Thompson (2001), la descarga de proglótidas y huevos es irregular, lo cual influiría directamente en la identificación y amplificación del DNA del parásito, y en la determinación de la frecuencia de esta parasitosis a través de las heces de los perros. Otro de los aspectos que influye en el resultado obtenido de la prevalencia de equinococosis en este sector es que la técnica de PCR tiene una sensibilidad de un 94% (Mathis *et al.*, 1996), lo que está determinado principalmente por dos factores, el primero hace referencia a que una de las fases críticas de la realización de la técnica de PCR es la extracción del DNA a partir del material biológico. Esta etapa contempla a) lisis celular, b) degradación de la fracción proteica asociada al DNA y c) purificación del DNA (Rådström, 2009). El segundo factor que influye en los resultados finales es que en las muestras de heces existen sustancias inhibitoras que interfieren con las DNA polimerasas mediante el bloqueo de su actividad catalítica o mediante la unión directa al DNA de cadena doble impidiendo la amplificación

del DNA (Promega, 2010), por lo tanto, es importante la consideración de estos aspectos al analizar los resultados obtenidos. Cabe mencionar, que el hecho de que existan localidades negativas a la presencia de *E. granulosus*, como Tantehue, Los Guindos y Mandinga, se explica por los antecedentes mencionados.

A su vez, la prevalencia obtenida en este estudio podría ser menor, ya que el kit comercial utilizado para realizar la técnica PCR no está indicado específicamente para extracción de DNA de huevos de parásitos. El kit de purificación de DNA WIZARD® GENOMIC PROMEGA está certificado para extracción de DNA de células sanguíneas humanas, células sanguíneas de ratones, líneas celulares de monos, humano y ratones, de tejido animal de ratones, insectos, tejidos de plantas, bacterias Gram negativas, bacterias Gram positivas y levaduras (Promega, 2010). Dado lo anteriormente descrito es que cabe mencionar la existencia de kits comercial certificados para la extracción de DNA parasitario como el QIAamp DNA mini kit del laboratorio Quiagem (Quiagem, 2012) que además de ser utilizados específicamente para la extracción de DNA de parásitos, eliminan las sustancias inhibidoras de la amplificación del DNA presentes en las heces (Quiagem, 2012), por lo tanto, se plantea que al utilizar este kit comercial del laboratorio Quiagem los resultados de prevalencia en el sector en estudio serían mayores.

Además, se debe mencionar que este tipo de muestras establecen un buen sistema biológico para obtener DNA a partir de huevos de *E. granulosus* como lo describen; Mathis *et al.*, 1996; Monnier *et al.*, 1996 y Dinkel *et al.*, 1998, a pesar de que resulte muy trabajoso el aislamiento del DNA según lo descrito por Varcasia, *et al.*, 2007. De esta manera, los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que es factible obtener DNA desde heces de perros con el uso del protocolo de kit comercial indicados para la extracción de DNA a partir de huevos de *E. granulosus* y así lograr definir la situación zoonosológica a nivel de predios asesorados por PRODESAL en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, RM.

En cuanto a la distribución geográfica del parásito en 4 de 7 de las localidades donde se realizó el muestreo para este estudio, se evidenció presencia de *E. granulosus* sin privilegiar un área geográfica determinada, lo que demuestra que la distribución de este parásito en el sector sur rural de la comuna de Melipilla, no cumple con un patrón geográfico establecido. Además, al evaluar la presencia del parásito por usuario

asesorado por PRODESAL, se evidenció que en la localidad de Culiprán se encuentra el 66,6% de los usuarios con perros positivos a la presencia de *E. granulosus*. Esto último, plantea que al realizar planes de control y erradicación de esta parasitosis principalmente en esta localidad determinaría el éxito de la eliminación del parásito de esta zona. La información anteriormente mencionada se explicaría principalmente, según la información entregada por los usuarios, a que la cantidad de perros en cada localidad y usuario y los manejos ganaderos son similares dentro del sector sur de la comuna de Melipilla, RM. La presencia del parásito en áreas rurales donde se trabaja con animales de ganado se debería principalmente a que la comunidad conserva usos y costumbres culturales que acentúan el crecimiento y la persistencia de esta parasitosis en la comunidad como la costumbre de alimentar a sus perros con vísceras crudas, estrecha convivencia con ellos, alta población canina con permanencia en el ámbito doméstico, esto debido principalmente al desconocimiento de la patología de la hidatidosis, ya que tienen poco acceso a salud y educación respecto al tema (Remis *et al.*, 2009; Santivañez *et al.*, 2010). Con respecto al aspecto social mencionado en el párrafo anterior, aunque la equinocosis sea una enfermedad zoonótica que puede llegar a generar un cuadro grave en el ser humano e incluso la muerte (OIE, 2009) hay un aspecto social de suma importancia a considerar y es que la perspectiva antropológica propone que la enfermedad más allá de su existencia como fenómeno físico, existiría cuando se la reconoce desde la cultura, como se plantea en el estudio de “Vulnerabilidad social frente a hidatidosis humana” realizado por Osorio y Godoy el año 2008 en la Región de Aysén, en donde se concluyó que la población campesina reconoce que la presencia del parásito es un problema de sanidad animal que afecta de manera indirecta la salud humana y que este padecimiento, la hidatidosis, es también común y en general no inhabilita por mucho tiempo a la persona afectada, que si sigue el tratamiento adecuado, puede volver a su estado de salud normal en poco tiempo. Por lo tanto el ámbito de educación ambiental a los habitantes del sector es un aspecto importante de considerar al momento de realizar planes de control y erradicación de esta parasitosis.

Por otro lado, al evaluar los resultados obtenidos en cuanto a que no existe relación entre la presencia del parásito con el grupo etario del perro o el sexo de éste, cabe mencionar que se debe a que en el ciclo biológico de *E. granulosus* no existe transferencia vertical ni predilección por sexo del perro (Larrieu *et al.*, 2004, OIE, 2009). Es así como se confirma la información entregada por distintos autores respecto al tema, donde Trillo *et al.* (2003)

plantean que no existe relación entre el sexo del perro en estudio y la presencia de helmintos enteroparásitos zoonóticos. Además, específicamente en cuanto a la presencia de *E. granulosus* en perros Eslami (1998) declara que no existe relación entre la edad del perro y la presencia del parásito, ni entre el sexo de éste y la presencia de *E. granulosus*.

Fortalezas/Debilidades y Recomendaciones

Al analizar las fortalezas y debilidades del presente estudio se identificó que la principal fortaleza de esta memoria de título es que se realizó el muestreo a la totalidad de la población de perros pertenecientes a los usuarios de PRODESAL del sector rural de la comuna de Melipilla sur, RM., por lo tanto, esto establece un resultado de la prevalencia de equinocosis canina del sector bastante cercana a la realidad de esta zona geográfica.

Es importante mencionar que para la realización de un estudio similar a éste se recomienda considerar la forma de obtención de las muestras de heces de los perros, la cual idealmente pudiese ser mediante tacto rectal para así disminuir el rango de error de los resultados obtenidos, ya que al obtener las muestras de heces frescas del medio ambiente donde se encuentra el perro se corre el riesgo de muestrear más de una vez las heces de un mismo individuo, no así, al realizar el muestreo mediante tacto rectal asegurando la obtención e identificación de cada muestra y así lograr aumentar la exactitud de la prevalencia en estudio. Además, se debe considerar la utilización de un kit comercial descrito para la extracción de DNA parasitario.

Finalmente, se propone la realización de este estudio en predios no asesorados por PRODESAL para así poder obtener la prevalencia total del sector rural de la comuna de Melipilla sur, RM y además evaluar la situación sanitaria en los animales de abasto y la población humana.

CONCLUSIONES

- Se identificó presencia de *E. granulosus* en perros de predios sujetos a PRODESAL en el área rural del sector sur de la comuna de Melipilla, Región Metropolitana, obteniéndose una prevalencia de equinococosis canina de un 7,2%.
- Se evidenció que la presencia de *E. granulosus* se encuentra ampliamente distribuida en el sector rural sur de la comuna de Melipilla, Región Metropolitana, Chile.
- Se evidenció que la mayor cantidad de usuarios asesorados por PRODESAL con perros positivos a la presencia de *E. granulosus* se concentran principalmente en una localidad.
- Se confirma que no existe relación entre el sexo del perro y presencia del parásito ($p>0,05$) ni entre el grupo de edad y la presencia de *E. granulosus* ($p>0,05$).

BIBLIOGRAFÍA

ALVAREZ, F.; TAMAYO, R.; ERNST, S. 2005. Estimación de la prevalencia de equinococosis canina en la XII región, Chile, 2002. [Comunicación] Revista de Parasitología Latinoamericana, 60. pp: 74-77.

ARMIGÓN, J.; JIMENEZ, J. 2004. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 3ra Edición, Editorial Elsevier. Madrid. España. pp: 140-143.

BUIISHI, I.; NJOROGUE, E.; BOUAMRA, O.; CRAIG, P. 2005. Canine echinococcosis in northwest Libya: assessment of coproantigen ELISA, and a survey of infection with analysis of risk factors. *Vet. Parasitol.*,130, 223–232.

CHRISTOFI, G.; DESPLAZES, P.; CHRISTOFI, N.; TANNER, I.; ECONOMIDES, P.; ECKERT, J. 2002. Screening of dogs for *Echinococcus granulosus* copro-antigen in a low endemic situation in Cyprus. *Vet. Parasitol.* 104: 299-306.

DEBRAEKERLEER, J.; GROSS, K.; ZICKER, S. 2000. Perros normales. In: Hand, M.; Thatcher, C.; Remillard, R.; Roudebush, P. Nutrición clínica en pequeños animales (4ª Edición). Buenos Aires, Mark Morris Institute. pp. 255-311.

DEPARTAMENTO DE ESTADÍSTICA E INFORMACIÓN DE SALUD (DEIS). 2008. Estadística de enfermedades de notificación obligatoria. Egresos Hospitalarios de hidatidosis en la comuna de Melipilla, año 2001-2008.

DINKEL, A.; VON NICKISCH-ROSENEGK, M.; BILGER, B.; MERLI, M.; LUCIUS, R.; ROMING, T. 1998. Detection of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host. Coprodiagnosis by PCR an alternative to necropsy. *J. Clin. Microbiology*, 36: pp: 1871-1876.

DWIGHT, D.; RANDY, C.; MARK, L. 2004. Parasitología para Veterinarios. Capítulo 3: Helmintos. Madrid. pp. 139-153.

ECKERT, J. 2003. Predictive values and quality control of techniques for the diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in definitive host. Institute of parasitology, University of Zürich. Volumen 85. Issue 2. pp. 157-163.

ESLAMI, A. 1998. *Echinococcus granulosus* infection of farm dogs of Iran. *Parasitol. Res.* 84: pp. 205-207.

FAO/RLC. 2007. Estimación del impacto económico de la Equinocosis Quística en el cono sur (Argentina, Brasil, Chile y Uruguay). Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Pp. 4-8.

FRIDER, B.; LARRIEU, E.; ODRIZOLA, M. 1999. Long term outcome of asymptomatic liver hydatidosis. *J Hepatol*; 30: 228-31.

GEMMEL, M.; LAWSON, J. 1986. Epydemiology and control of hydatid disease. In: The biology of *Echinococcus granulosus* and hydatid disease (Thompson R, Lymbery J.) George Allen and Unwin. London 1986. pp189- 216.

GEMMEL, M.; ROBERTS, M.; BEARD, T. 2001. Control of Echinococcosis. In: Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a public health problema of global concern (Eckert, J, Gemmel M, Meslin F, Pawlowski Z) 195–203 WHO/OIE. France.

GONZÁLEZ J, GONZÁLEZ G, SBAFFO A. 1998 Equinococosis canina en un sector del Departamento de Río Cuarto, Provincia de Córdoba, Argentina. Archivo Medicina Veterinaria.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA. 2007. Censo Agropecuario y Forestal 2007, resultados por comuna. Cuadro N° 12: Existencia de ganado en las explotaciones agropecuarias y forestales por especie, según región, provincia y comuna.

LARRIEU, E.; BELLOTO, A.; ARAMBULO, P.; TAMAYO, H. 2004. Echinococcosis Quística: epidemiología y control en América del Sur. Parasitología Latinoamericana. 59: pp. 82-89.

MALGOR, R.; NONAKA, N.; BASMADJIAN, I.; SAKAI, H.; CARÁMBULA, B.; OKU, Y. CARMONA, C.; KAMIYA, M. 1997. Copro-antigen detection in dogs experimentally and naturally infected with *Echinococcus granulosus* by monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. Journal Paratitology. 27(12): 1605-1612.

MATHIS, A.; DEPLAZES, P.; ECKERT, J. 1996. An improved test system for PCR-based specific detection of *Echinococcus multilocularis* eggs. Journal Helminthology. 70: 219-222.

MATHIS, A.; DEPLAZES, P. 2006. Copro-DNA test for diagnosis of animal taeniid cestodes. Parasitology Int., 55: 87-90.

MINISTERIO DE SALUD DE CHILE (MINSAL). 2004. Reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de notificación obligatoria. Decreto 158. Ministerio de Salud.

MINISTERIO DEL INTERIOR Y SEGURIDAD PÚBLICA DE CHILE. 2012. Información de turismo. Gobernación de la Provincia de Melipilla. [En línea] http://www.gobernacionmelipilla.gov.cl/info_turismo.html [Consulta: 08-07-2012].

MONNIER, P.; CLIQUET, F.; AUBERT, M.; BRETAGNE, S. 1996. Improvement of a polymerase chain reaction assay for the detection of *Echinococcus multilocularis* DNA in fecal samples of foxes. Vet. Parasitology, 67: pp: 185-195.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE). 2008. Equinococosis/Hidatidosis. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.1.4. pp. 1-13.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE). 2009. Echinococcosis. Echinococcosis, Hidatidosis, Enfermedad hidatídica. Centro para la Seguridad Alimentaria y Salud Pública. Univerisidad del Estado de Iowa. pp. 1- 10.

OSORIO, M.; GODOY, H. 2008. Estudio vulnerabilidad social frente a hidatidosis humana. Núcleo de Antropología aplicada. pp. 5-60. [En línea] <http://seremiaysen.redsalud.gob.cl/url/item/9dada14d3923c7d2e04001011f01719c.pdf> [Consulta: 17 de Febrero del 2013]

PROMEGA. 2010. Technical Manual. **Wizard® Genomic DNA Purification Kit** INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A1120, A1123, A1125 AND A1620. pp. 1-19.

QUIAGEM. 2012. Product Detail QIAamp DNA mini kit. [En línea] <http://www.qiagen.com/products/genomicdnastabilizationpurification/qiaampsystem/qiaampdnaminikit.aspx#Tabs=t1> [Consulta: 05 de Enero del 2013]

RÄDSTRÖM, P. 2009. La extracción y purificación del ADN para el análisis por PCR, mitos y realidades. Microbial Newsletter. Núm. 3. pp:1-2.

REMIS, J.; GUARNERA, E.; PARRA, A. 2009. Impacto de la hidatidosis: Influencia de factores ambientales y socioculturales en Tucumán, Argentina. Enfermedades Endémicas. Vol. 73. N° 3. pp. 303-312.

SÁNCHEZ, R. 2012. Frecuencia de Equinococcosis canina en la comuna de San Pedro, Melipilla, RM, Chile; Mediante PCR. Proyecto de título para optar al grado de licenciado en Medicina Veterinaria y al título de Médico Veterinario. Santiago. Chile. U. Mayor. Fac. Cs. Silvoagropecuarias. Escuela de Medicina Veterinaria. pp: 53 - 56.

SANTIVAÑEZ, S.; NAQUIRA, C.; GAVIDIA, C.; TELLO, L.; HERNANDEZ, E.; BRUNETTI, E.; KACHANI, M.; GONZALEZ, A.; GACÍA, H. 2010. Factores domiciliarios asociados con la presencia de hidatidosis humana en tres comunidades rurales de Junín, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 27(4). pp. 498-505.

THOMSON, R.; McMANUS, P. 2001. Aetiology: parasites and life-cycles. In: Eckert, J.; Gemmel, M.; Meslin, F.; Pawlowski, Z. WHO/OIE Manual on Equinococcosis in humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Paris, The World Health Organization. pp:1-15.

TRILLO, M.; CARRASCO, A.; CABRERA, R. 2003. Prevalencia de helmintos enteroparásitos zoonóticos y factores asociados en Canis familiaris en una zona urbana de la ciudad de Ica, Perú. Parasitología Latinoamericana 58: pp. 136-141.

VARCASIA, A.; GARIPPA, G.; SCALA, A. 2004. The diagnosis of Echinococcus granulosus in dogs. University of Sassari, Italia. Parassitologia 46: 409-412.

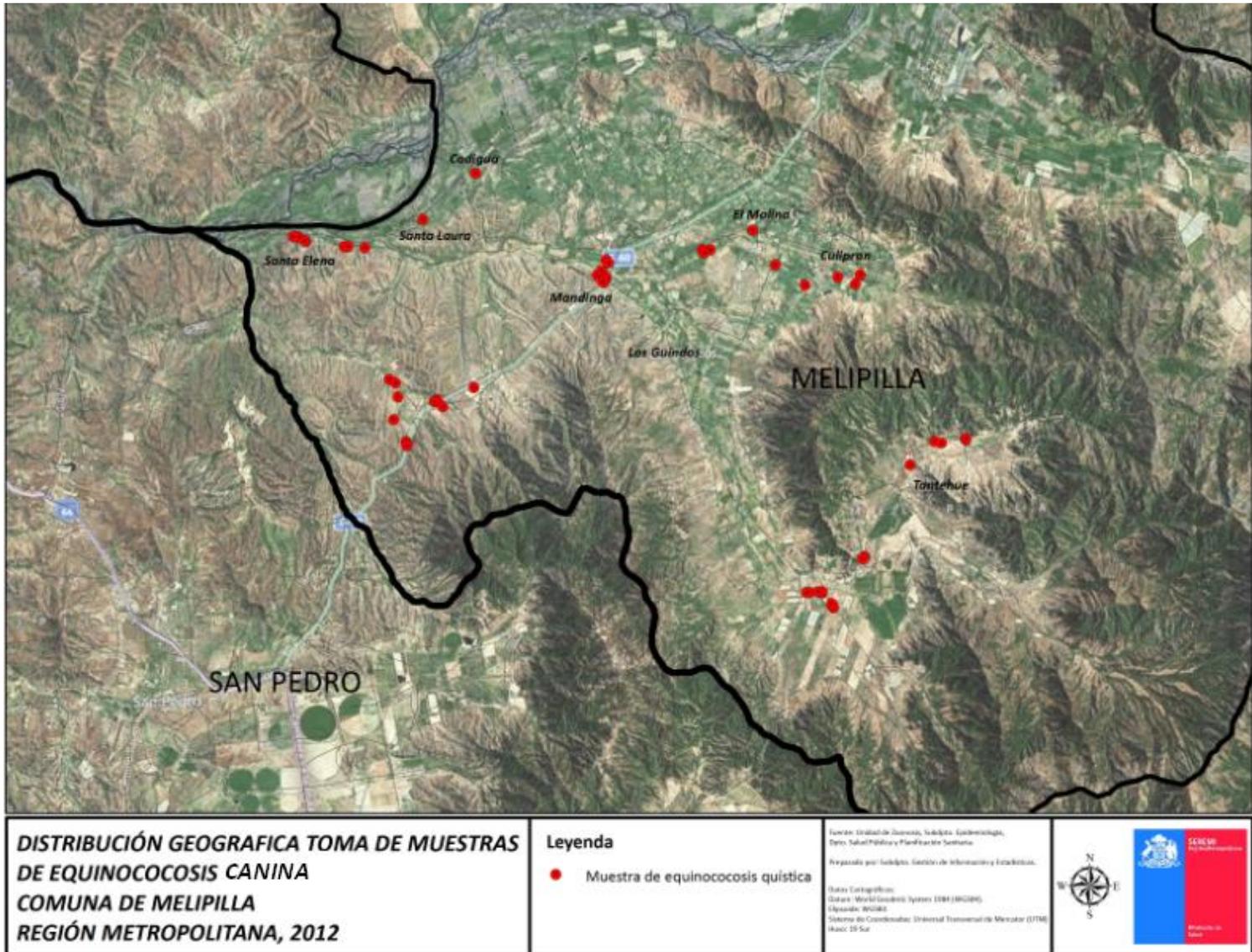
VARCASIA, A.; CANUS, S.; KOGKOS, A.; PIPIA, A.; GARIPPA, G. 2007. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in sheep and goat of Peloponnesus, Greece. Parasitology Res., 101, pp: 1135-1139.

VERA, G.; VENTURELLI, F.; RAMIREZ, J.; VENTURELLI, A. 2003. Hidatidosis humana. Cuaderno de Cirugía. 17: 88 – 94.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) / OFICINA INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE). 2001. Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of global concern. pp. 1-118.

ANEXOS

Anexo 1. Georeferenciación de predios donde se realizó el muestreo de los perros. Sector Sur de la Comuna de Melipilla, Provincia de Melipilla, RM, Chile.



Anexo 2. Detalle de Módulos PRODESAL con sus correspondientes localidades y número de usuarios participantes en este estudio.

Módulo	Localidad	Nº Usuarios PRODESAL
1	Los Maitenes	13
	Culiprán	6
3	Tantehue	10
	Los Guindos	9
	Mandinga	2
4	Codigua	14
	Popeta	10
	Total	64

Anexo 3. Ficha de consentimiento informado

Ficha de consentimiento informado

La Hidatidosis/Equinocosis es una enfermedad ocasionada por un parásito que se encuentra en el intestino del perro y es liberado al medio ambiente a través de sus heces. Bovinos, ovinos y otros herbívoros adquieren el parásito al ingerir agua o alimento contaminado, afectando principalmente al hígado. El ser humano puede contraer la enfermedad directamente, al tener contacto con perros infectados o a través del consumo de agua o alimentos infectados con los huevos de este parásito, poniendo en riesgo su salud.

Yo Rut
propietario del predio ubicado en, localidad
de..... Coordenadas : X Y, he sido
informado de la importancia para la salud Pública de este problema, y estoy consciente de
la necesidad de efectuar el estudio de “Prevalencia de Equinocosis Canina en la zona
rural de la Comuna de Melipilla, Región Metropolitana” y autorizo la toma de muestras al
(los) siguiente (s) perro (s), perteneciente (s) a mi predio:
.....
.....
.....
.....

Firma Propietario

Fecha:

Anexo 5. Materiales utilizados en terreno para recolección de muestras fecales y sanguíneas

- Guantes desechables de latex.
- Mascarilla desechable.
- Overol o delantal.
- Frasco desechable de 50 ml.
- Cucharas plásticas.
- Bolso refrigerante.

Anexo 6. Extracción del DNA genómico mediante una adaptación del protocolo del kit comercial de extracción del DNA WIZARD® GENOMIC PROMEGA.

- 1) Se tomaron 0,5 - 0,7 g. de heces y se diluyeron en 7 ml de PBS 1X (Buffer fosfato salino) y se añadieron a un tubo Eppendorf de 1,5 ml.
- 2) Se añadió 700 µl de solución de lisis celular (Cell Lysis Solution WIZARD® GENOMIC PROMEGA) y se invirtió el tubo cinco o seis veces para mezclar y se incubó a 70 °C por veinte minutos.
- 3) Luego, se añadió 40 µl de proteinasa K 10 mg/ml y se incubó toda la noche a 56 °C.
- 4) Se centrifugó la mezcla a 13.200 rpm por noventa segundos y se eliminó el sobrenadante.
- 5) Se añadió 300 µl de solución de lisis de núcleo (Nucleo Lysis Solution WIZARD® GENOMIC) al tubo con el pellet en el interior.
- 6) Se resuspendió la muestra con la pipeta cinco a seis veces para lisar los núcleos, se dejó a temperatura ambiente por diez minutos.
- 7) Se añadió 100 µl de solución de precipitación de proteínas (Protein Precipitation Solution WIZARD® GENOMIC) y se agitó en el vortex.
- 8) Se centrifugó a 13.200 rpm por tres minutos. Posteriormente se transfirió el sobrenadante a otro tubo Eppendorf con 300 µl de Isopropanol y se mezcló.
- 9) Se centrifugó a 13.200 rpm por cinco minutos, luego se descartó el sobrenadante y se añadió 300 µl de etanol 70% con el objeto de lavar el pellet de DNA y se centrifugó a 13.200 rpm por noventa segundos.
- 10) Finalmente, se descartó el etanol cuidadosamente y se dejó secar el tubo Eppendorf sobre papel absorbente durante diez minutos y se añadió 100 µl de solución rehidratante de DNA (DNA rehydration Solution WIZARD® GENOMIC).
- 11) Se almacenó el DNA a -20 °C.

Anexo 7. Materiales utilizados para la realización del PCR estandarizados por CAMPVS Laboratorio.

- Buffer (μl)
- MgCl_2 (μl)
- Primer 1 (μl)
- Primer 2 (μl)
- DNTPs (μl)
- Taq-DNA Polimerasa (μl)
- H_2O para biología molecular
- DNA de *Echinococcus granulosus*

Los partidores utilizados fueron diseñados en el área de biología molecular de Campvs Laboratorio.