



Situación Actual y Avances en la Detección de la Infección de *Strongyloides stercoralis* en la Provincia de Salta (Argentina)

Current Situation and Advance in the Detection of the *Strongyloides stercoralis* Infection in the Province of Salta (Argentina)

Rubén O. Cimino 

Instituto de Investigaciones de Enfermedades Tropicales (IINET), Facultad Regional Orán. Cátedra de Química Biológica-Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150 (A4408FVY), Salta, Argentina. rubencimino@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4253-9077>

Resumen

Las geohelmintiasis (STH: soil transmitted helminths) o parasitosis *intestinales* son un grupo de parásitos transmitidos por el suelo, agua y ambientes contaminados por materia fecal. El *Strongyloides stercoralis*, es un parásito de amplia distribución en el mundo y afecta entre 380 a 600 millones de personas en el mundo. La epidemiología de *S. stercoralis*, todavía tiene vacíos de conocimiento, entre ellos el diagnóstico rápido, seguro y preciso. Desde la Universidad Nacional de Salta se vienen desarrollando hace más de 10 años actividades de investigación con el objetivo de mejorar la precisión en el diagnóstico. Nuestra experiencia abarca mejoras en el diagnóstico parasitológico, combinando hasta 4 técnicas como sedimentación-concentración; Baermann, Harada-Mori y placa de agar. Paralelamente, las técnicas inmunoenzimáticas (por ejemplo, ELISA o inmunoblot) y moleculares (qPCR, LAMP y Multiplex PCR) están mejorando la calidad del diagnóstico. Los avances logrados en la actualidad son importantes, pero aún falta trabajar en aspectos como: 1) desarrollo de plataformas moleculares para detectar varias especies de STH; 2) desarrollo de pruebas para la detección de resistencia a drogas *in situ*; 3) desarrollo de biomarcadores específicos y sensibles para decidir cuándo poner fin a un tratamiento y 4) estandarizar los procedimientos de diagnóstico y confeccionar directrices. Las STH siguen siendo un problema de salud pública, a la fecha hay evidencias suficientes que sugieren que se puede diseñar alguna plataforma inmunológica y/o molecular eficiente para el diagnóstico de la infección de *S. stercoralis*, para ser aplicado por el sistema de salud pública en zonas de alta endemicidad como es el norte de Salta.

Palabras clave: Diagnóstico; Geohelmintiasis; Salta (Argentina); Serología

Abstract

Geohelminthiasis (STH: soil-transmitted helminths) or intestinal parasitosis are a group of parasites transmitted by soil, water, and environments contaminated by fecal matter. *Strongyloides stercoralis* is a parasite with a wide distribution in the world and affects between 380 to 600 million people in the world. The epidemiology of *S. stercoralis* still has gaps in knowledge, including rapid, safe, and accurate diagnosis. From the National University of Salta, research activities have been carried out for more than 10 years with the aim of improving diagnostic accuracy. Our experience covers improvements in parasitological diagnosis, combining up to four techniques such as sedimentation-concentration, Baermann, Harada-Mori, and an agar plate. In parallel, immunological techniques (for example, ELISA or immunoblot) and molecular (qPCR, LAMP, and Multiplex PCR) are improving the quality of diagnosis. The advances achieved at present are important, but there is still work to be done in aspects such as: 1) the development of molecular platforms to detect several STH species; 2) the development of on-site resistance screening tests; 3) the development of specific and sensitive biomarkers to decide when to stop treatment and 4) standardize diagnostic procedures and develop guidelines. STH continues to be a public health problem, to date there is sufficient evidence to suggest that an efficient immunological and/or molecular platform can be designed for the diagnosis of *S. stercoralis* infection, to be applied by the public health system. in areas of high endemicity such as the north of Salta.

Keywords: Diagnosis; Geohelminthiasis; Salta (Argentina); Serology

Cimino, R. O. (2023). Situación actual y avances en la detección de la infección de *Strongyloides stercoralis* en la provincia de Salta. Revista Ciencias Naturales, 1(2), 92–98.

Introducción

La Organización Mundial de la Salud, propuso agrupar a 20 enfermedades como Enfermedades Tropicales Desatendidas (NTDs: Neglected Tropical Diseases) estas enfermedades se caracterizan por ser prevalentes principalmente en áreas tropicales, que afectan a más de mil millones de personas pertenecientes de comunidades empobrecidas. Entre estas enfermedades encontramos a la Enfermedad de Chagas, dengue, leishmaniasis y geohelminCIAS, entre otras (Organización Mundial de la Salud, 2021).

La geohelminCIAS (STH: soil transmitted helmintos) afecta a uno de cuatro individuos en el mundo, e involucra a cinco especies de parásitos: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, uncinarias (*Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*), y más recientemente *Strongyloides stercoralis* (Fig.1). Las estrategias para el control y erradicación están orientadas principalmente a la intervención mediante administración de tratamiento (antiparasitarios) como así también a las mejoras y acceso a agua potable, saneamiento (cloacas) oportunidades en el desarrollo socioeconómico (Chan *et al.*, 2023; Krolewiecki *et al.*, 2013).

La particularidad que tiene la biología de

S. stercoralis, que lo diferencia de los demás helmintos, es que tiene un ciclo de vida que involucra el suelo (vida libre) y otro de autoinfección dentro del humano, esto permite perpetuar la infección (Fig. 2). Otra diferencia es que es el único helminto que se libera como larva en la materia fecal, los demás se liberan como huevos. Esta liberación es intermitente y por lo tanto la detección por métodos parasitológicos es un problema (Cimino & Krolewiecki, 2014).

Las similitudes y características distintivas de *S. stercoralis* con los demás helmintos se resumen en la Tabla 1. De acuerdo con esto se puede entender las dificultades que tiene el diagnóstico y pensar en el diseño de nuevas estrategias que se complementen con el tradicional método parasitológico.

Los primeros estudios moleculares acerca de la variabilidad genética de *S. stercoralis* analizando el gen *cox1* (citocromo c oxidasa subunidad 1, gen mitocondrial) como marcador molecular en Latino América, permitió identificar la presencia de 10 haplotipos organizados en dos clústeres. Si bien todavía no se encontró asociación entre los haplotipos y presentación clínica o estatus inmunológico, se debe continuar estudiando más en profundidad, usando otros marcadores moleculares (Repetto *et al.*, 2022).

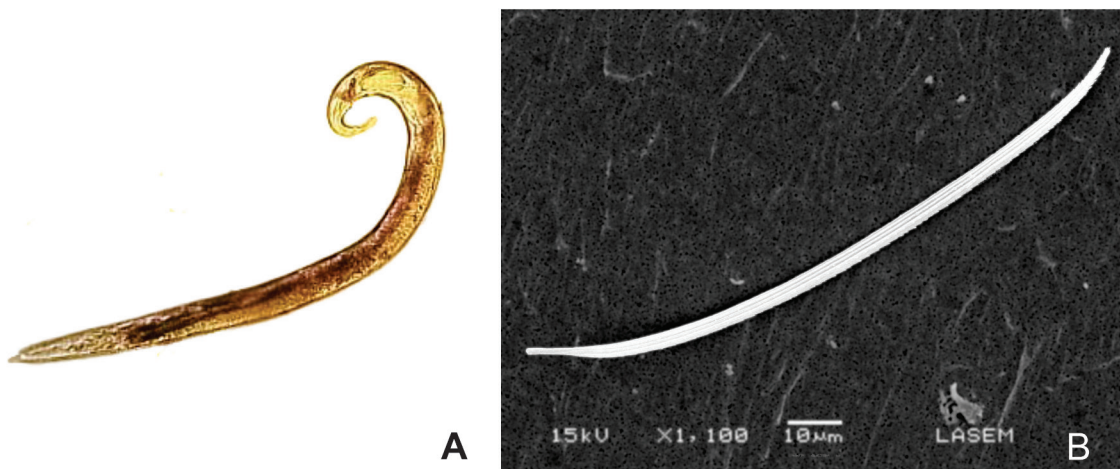


Figura 1. *Strongyloides stercoralis*. **A.** aspecto microscópico con microscopio de luz. **B.** vista con microscopio electrónico de barrido.

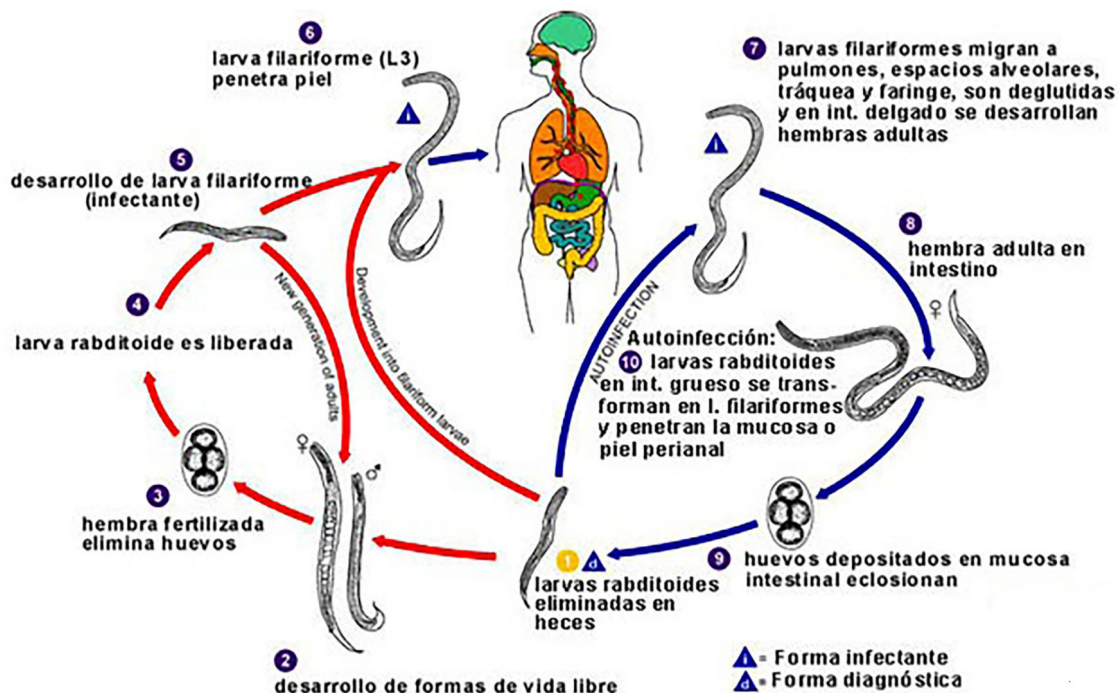


Figura 2. Ciclo de vida del *Strongyloides stercoralis*. Tomado de *Strongyloides_LifeCycle_Ig.jpg* (cdc.gov).

CARACTERÍSTICAS	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Trichuris trichiura</i>	<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Necator americanus</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i>
Multiplicación dentro del hospedador/ autoinfección	-	-	-	-	+++
Morbilidad aguda/crónico	+/+++	+/+++	++/++++	+/+++	++/++++
Potencial fatalidad	+	-	++	+	++++
Diagnóstico	huevo	huevo	huevo	huevo	larva
Medición de la intervención	cura o descenso de la carga de parásitos	cura o descenso de la carga de parásitos	cura o descenso de la carga de parásitos	cura o descenso de la carga de parásitos	cura
Medición de la intervención	tasa de cura y tasa de reducción de huevos	tasa de cura y tasa de reducción de huevos	tasa de cura y tasa de reducción de huevos	tasa de cura y tasa de reducción de huevos	tasa de cura

Tabla 1. Principales características de los geohelmitos y *Strongyloides stercoralis* (Krolewiecki et al., 2013).

Técnicas para la detección de *Strongyloides stercoralis*

Técnicas Parasitológicas

Actualmente los métodos parasitológicos son las pruebas de referencia para la detección de larvas de *S. stercoralis*, se basan en la examinación de la materia fecal, tejido en biopsias o lavado broncoalveolar al microscopio de forma directa. Los métodos coproparasitológicos son: 1) sedimentación-concentrado, 2) Baermann, 3) placa de agar y 4) Harada-Mori, estos métodos tienen las desventajas de poseer baja sensibilidad, son laboriosos y son operador dependiente (Gelaye *et al.*, 2021; Krolewiecki *et al.*, 2013). La combinación de estos métodos permite mejorar la sensibilidad, según algunos reportes. La examinación de múltiples muestras es otra estrategia para aumentar la sensibilidad de estos métodos. El método de Baermann según los reportes puede detectar cuatro veces más casos que el método de sedimentación-concentración. En los casos de infecciones crónicas donde la carga parasitaria es baja la sensibilidad de estos métodos se ve disminuida (Knopp *et al.*, 2014).

Métodos serológicos

Los métodos inmunoenzimáticos como ELISA (immunosorbent assay), IFAT (inmunofluorescencia test), western blot, LIPS (luciferase immunoprecipitation system assay) y más recientemente tiras reactivas inmunocromatográficas (dpstick test IgG4 SSRapid), son usados como alternativas para el diagnóstico de la infección por *S. stercoralis* y presentan ciertas ventajas sobre los métodos parasitológicos (Tabla 2) (Bisoffi *et al.*, 2014; Krolewiecki *et al.*, 2010). Varios estudios han demostrado que las pruebas serológicas tienen alta sensibilidad, dependiendo de tipo de prueba evaluada. El rango de sensibilidad y especificidad de las diferentes pruebas diagnósticas varían entre el 43% al 100%. La evaluación de 5 métodos inmunológicos (entre ellos ELISA comerciales, IFAT in-house, antígenos recombinantes NIE en ELISA y LIPS) realizado por Bisoffi *et al.*, 2014, revelaron una sensibilidad entre un 75% al 94%, comparados con IFAT usado como

prueba de referencia. La sensibilidad puede reducirse en pacientes inmunosuprimidos, en un estudio en Tailandia se reportó una sensibilidad del 43% usando IgG ELISA. Recientemente, un kit comercial ELISA (Strongy Detect, Inbios) combinando los antígenos recombinantes NIE/SSIR para detectar anticuerpos de los tipos IgG e IgG4, tuvieron una sensibilidad del 92% y 81%, respectivamente, mientras que la especificidad fue del 91% y 94%, respectivamente (Chan *et al.*, 2023).

Métodos moleculares

Las técnicas moleculares son una herramienta que se complementa con las técnicas parasitológicas y serológicas permitiendo aumentar la precisión del diagnóstico. Las variantes de técnicas van desde PCR convencional, Nested PCR, multiplex PCR, Illumina, qPCR y más recientemente LAMP. Estas técnicas permiten la identificación molecular de especies, filogenia y estudios de diversidad genética de *S. stercoralis* (Fleitas *et al.*, 2021; Chan *et al.*, 2023; Knopp *et al.*, 2014). Las ventajas y limitaciones se describen en la Tabla 2.

Avances en el diagnóstico de *Strongyloides stercoralis* a nivel local

El norte de la provincia de Salta es zona de alta endemicidad de la geohelmintiasis, las características ambientales, la pobreza, la falta de accesibilidad al agua potable y cloacas para la eliminación de excretas permite que aumente el riesgo de la contaminación del suelo por materia fecal. Al año 2000, se reportaron prevalencias de geohelminfos que alcanzaban el 70%, y la infección por *S. stercoralis* de un 50% (Taranto *et al.*, 2003).

El Instituto de Investigaciones de Enfermedades Tropicales (IIET) de la Universidad de Nacional de Salta y en colaboración con otros grupos de investigadores vienen desarrollando actividades de innovación tecnológica como así también de búsqueda de estrategias para mejorar el diagnóstico de la infección por *S. stercoralis*.

En el laboratorio del IIET de la Facultad Regional Orán de la U.N.Sa., de

MÉTODOS	VENTAJAS	LIMITACIONES
Parasitológicos	<ul style="list-style-type: none"> ■ Bajo costo comparado a las técnicas inmunológicas y moleculares. ■ Fácil implementación en el campo. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Requiere gran cantidad de muestras para mejorar la sensibilidad debido a la irregularidad en la liberación de larvas en la materia fecal. ■ Se puede confundir con larvas de uncinarias debido a la similitud de morfología. ■ Requiere larvas vivas.
Inmunológicas	<ul style="list-style-type: none"> ■ Alta sensibilidad, con respecto a los parasitológicos y técnicas moleculares. ■ No dependiente a la liberación de larvas. ■ Alta especificidad, principalmente los antígenos recombinantes. ■ Se puede realizar usando otro material biológico como saliva y/o materia fecal. ■ Baja complejidad de equipamiento y adiestramiento técnico. ■ Tiras inmunocromatográficas son prácticas para diagnóstico de laboratorio y/o campo. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Potencial reacción cruzada con otros helmintos (principalmente los extractos crudos de parásitos como antígenos). ■ Persistencia de anticuerpos impide determinar si es infección presente o pasada (principalmente en área endémicas).
Moleculares	<ul style="list-style-type: none"> ■ Mayor sensibilidad que los métodos parasitológicos. ■ Alta especificidad con respecto a los métodos serológicos. ■ Capacidad de detectar larvas muertas. ■ Aumenta la precisión para identificación molecular de especies. ■ Capacidad de detectar otros helmintos mediante ensayos múltiples. ■ Detección de parásitos en otros ambientes, como suelo y/o orina. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Potencial reacción cruzada con otros helmintos. ■ Falta de standard para PCR y protocolo de extracción de ADN, causando variación en la sensibilidad y especificidad. ■ Por la irregularidad en la liberación de larvas se necesita aumentar el volumen de muestra.

Tabla 2. Ventajas y limitaciones de cada técnica para la detección de *Strongyloides stercoralis*. (Chan *et al.*, 2023).

forma rutinaria se realizan cinco métodos coproparasitológicos: a) sedimentación concentración, b) McMaster, c) Harada-Mori, d) Baermann, y e) Placa de Agar. La posibilidad de contar con todos estos métodos permite aumentar la sensibilidad para detectar principalmente las larvas de *S. stercoralis* y otros helmintos. En un estudio realizado en el norte de Salta, se pudo determinar una sensibilidad del 43,6% (IC95%: 25,7%-70,4%) combinando tres métodos parasitológicos

(sedimentación-concentración, Harada-Mori y Baermann) (Krolewiecki *et al.*, 2018).

Paralelamente se fue avanzando en la incorporación de una serología para el diagnóstico específico, los diferentes estudios donde se evaluó el ELISA-NIE con panel de sueros del norte de Salta, se determinó una sensibilidad entre un 75%-85%, y especificidad del 94%-100%. Este antígeno no cruza con otros helmintos como uncinarias

y *A. lumbricoides*. Además, por este método se puede detectar los falsos negativos de la coproparasitológica.

Si bien la sensibilidad del ELISA-NIE puede ser baja para el diagnóstico clínico, representa un avance importante y particularmente como herramienta para estudios epidemiológicos como son los estudios de prevalencias e impacto de intervención quimioterapéutica y de saneamiento en agua e higiene. De acuerdo con esto, se estimó que la prevalencia serológica en la región del noroeste es aproximadamente el 20% (IC: 19,4-22,4%). Mientras que, en un estudio llevado a cabo en la localidad de Pichanal, se pudo detectar seroconversión (cura serológica) en la población y se pudo concluir que el impacto combinado entre la intervención quimioterapéutica con antiparasitarios acompañado con mejoras en las condiciones de saneamiento e higiene mejora el estatus de salud poblacional (Cimino *et al.*, 2015; Echazú *et al.*, 2017; Vargas *et al.*, 2017).

Con el avance del desarrollo biotecnológico y principalmente en el diagnóstico de la biología molecular, se desarrollaron y evaluaron las técnicas de qPCR y multiplex PCR para aumentar la sensibilidad del diagnóstico e identificación de especies de parásitos. Con esta última técnica se pudo determinar una sensibilidad del 97,4% para *S. stercoralis* y 90,3% para uncinarias, y una especificidad del 100% y 87,6%, respectivamente. Lo importante de este multiplex PCR es que se pudo detectar 4 veces más casos de coinfecciones comparado con la parasitología (15,3% vs 3,5%). Con respecto a la identificación de especies, se observó una asociación positiva entre *S. stercoralis* con *N. americanus* (odds ratio= 3,22) (Cimino *et al.*, 2015; Fleitas *et al.*, 2021).

De manera exploratoria, se iniciaron los primeros ensayos en el diagnóstico de *S. stercoralis*, utilizando como material biológico la orina de pacientes, principalmente pensado en el desarrollo de una técnica no invasiva alternativa a la extracción de sangre. La sensibilidad de la PCR para detectar ADN de *S. stercoralis* en orina fue de un

75% (IC95%: 54%-92%) (Krolewiecki *et al.*, 2018). Estos resultados nos alientan a seguir trabajando y poder extrapolar esta modalidad para el diagnóstico de otras patologías regionales como Enfermedad de Chagas o leishmaniasis cutánea.

Los avances en el diagnóstico son importantes, aun así, todavía falta trabajar en cómo se puede transferir estas herramientas al sistema público de salud y puede ser utilizado el diagnóstico clínico. Sin dudas es otro eslabón que se necesita introducirse para poder vincular los logros en el campo científico con el sistema de salud asistencial y la industria en salud.

Referencias

- Bisoffi, Z., Buonfrate, D., Sequi, M., Mejia, R., Cimino, R. O., Krolewiecki, A. J., Albonico, M., Gobbo, M., Bonafini, S., Angheben, A., Requena-Mendez, A., Muñoz, J., & Nutman, T. B. (2014). Diagnostic accuracy of five serologic tests for *Strongyloides stercoralis* infection. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 8(1), e2640. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002640>
- Cimino, R. O., Jeun, R., Juárez, M., Cajal, P. S., Vargas, P., Echazú, A., Bryan, P. E., Nasser, J., Krolewiecki, A., & Mejia, R. (2015). Identification of human intestinal parasites affecting an asymptomatic peri-urban Argentinian population using multi-parallel quantitative real-time polymerase chain reaction. *Parasites Vectors*, 8, 380. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0994-z>
- Cimino, R. O., & Krolewiecki, A. (2014). The Epidemiology of Human Strongyloidiasis. *Current Tropical Medicine Reports*, 1, 216-222. <https://doi.org/10.1007/s40475-014-0035-6>
- Echazú, A., Juárez, M., Vargas, P. A., Cajal, S. P., Cimino, R. O., Heredia, V., Caropresi, S., Paredes, G., Arias, L. M., Abril, M., Gold, S., Lammie, P., & Krolewiecki, A. J. (2017). Albendazole and ivermectin for the control of soil-transmitted helminths in an area with high prevalence of *Strongyloides stercoralis* and hookworm in northwestern Argentina: A community-based pragmatic study. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 11(10), e0006003. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006003>
- Fleitas, P. E., Vargas, P. A., Caro, N., Almazán, M. C., Echazú, A., Juárez, M., Cajal, P., Krolewiecki, A. J., Nasser, J. R., & Cimino, R. O. (2021). Scope and limitations of a multiplex conventional PCR for the diagnosis of *S. stercoralis* and hookworms. *The Brazilian*

- Journal of Infectious Diseases, 25(6), 4-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.101649>
- Gelaye, W., Williams, N. A., Kepha, S., Junior, A. M., Fleitas, P. E., Marti-Soler, H., Damtie, D., Menkir, S., Krolewiecki, A. J., Van Lieshout, L., & Enbiale, W. (2021). Performance evaluation of Baermann techniques: The quest for developing a microscopy reference standard for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis*. PLoS Neglected Tropical Disease, 15(2), 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009076>
- Chan, A. H. E., & Thienkham, U. (2023). From past to present: opportunities and trends in the molecular detection and diagnosis of *Strongyloides stercoralis*. Parasites Vectors, 16, 123. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05763-8>
- Knopp, S., Salim, N., Schindler, T., Karagiannis Voules, D. A., Rothen, J., Lweno, O., Mohammed, A. S., Singo, R., Benninghoff, M., Nsojo, A. A., Genton, B., & Daubenberg, C. (2014). Diagnostic Accuracy of Kato-Katz, FLOTAC, Baermann, and PCR Methods for the Detection of Light-Intensity Hookworm and *Strongyloides stercoralis* Infections in Tanzania. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 90(3), 535-545. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0268>
- Krolewiecki, A. J., Koukounari, A., Romano, M., Caro, N. N., Scott, A. L., Fleitas, P., Cimino, R., & Shiff, C. J. (2018). Transrenal DNA-based diagnosis of *Strongyloides stercoralis* (Grassi, 1879) infection: Bayesian latent class modeling of test accuracy. PLoS Neglected Tropical Disease, 12(6), e0006550 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006550>
- Krolewiecki, A. J., Lammie, P., Jacobson, J., Gabrielli, A.-F., Levecke, B., Socias, E., Arias, L. M., Sosa, N., Abraham, D., Cimino, R., Echazú, A., Crudo, F., Verduyck, J., & Albonico, M. (2013). A public health response against *Strongyloides stercoralis*: time to look at soil-transmitted helminthiasis in full. PLoS Neglected Tropical Disease, 7(5), e2165. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002165>
- Krolewiecki, A. J., Ramanathan, R., Fink, V., McAuliffe, I., Cajal, S. P., Won, K., Juarez, M., Di Paolo, A., Tapia, L., Acosta, N., Lee, R., Lammie, P., Abraham, D., & Nutman, T. B. (2010). Improved diagnosis of *Strongyloides stercoralis* using recombinant antigen-based serologies in a community-wide study in northern Argentina. Clinical and Vaccine Immunology, 17(10), 1624-1630. <https://doi.org/10.1128/CVI.00259-10>
- Organización Mundial de la Salud. (2021). Poner fin a la desatención para alcanzar los Objetivos de Desarrollo Sostenible: hoja de ruta sobre enfermedades tropicales desatendidas 2021-2030 [Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases. <https://www.who.int/es/publications/item/9789240010352>
- Repetto, S. A., Braghini, J. Q., Risso, M. G., Argüello, L. B., Batalla, E. I., Stecher, D. R., Sierra, M. F., Burgos, J. M., Radisic, M. V., González Cappa, S. M., & Ruybal, P. (2022). Molecular typing of *Strongyloides stercoralis* in Latin America, the clinical connection. Parasitology, 149(1), 24-34. <https://doi.org/10.1017/S0031182021001517>
- Taranto, N. J., Cajal, S. P., De Marzi, M. C., Fernández, M. M., Frank, F. M., Brú, A. M., Minvielle, M. C., Basualdo, J. A., & Malchiodi, E. L. (2003). Clinical status and parasitic infection in a Wichí Aboriginal community in Salta, Argentina. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene, 97(5), 554-558. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15307425>
- Vargas, P., Krolewiecki, A. J., Echazú, A., Juárez, M., Cajal, P., Gil, J. F., Caro, N., Nasser, J., Lammie, P., & Cimino, R. O. (2017). Serologic monitoring of public health interventions against *Strongyloides stercoralis*. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 97(1). <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0857>