

# Sensibilidad de la prueba ELISA para detectar los anticuerpos IgG contra el *Strongyloides stercoralis* en pacientes inmunocomprometidos

Sensitivity of the ELISA test for the detection of IgG antibodies against *Strongyloides stercoralis* among immunocompromised patients

Laurent Gétaz<sup>1,2</sup>, Maria del Rosario Castro Soto<sup>3</sup>

## Resumen

**Objetivo:** la sensibilidad subóptima de las pruebas coproparasitológicas dificulta el diagnóstico de la estrongiloidiasis. Los métodos serológicos son más sensibles, pero los estudios en pacientes inmunodeprimidos son escasos. El objetivo del estudio fue de evaluar la sensibilidad de una prueba ELISA comercial en pacientes inmunodeprimidos. **Métodos:** se realizó en Bolivia un estudio multicéntrico en pacientes con cáncer, VIH, enfermedades reumatológicas y hematológicas. 88 pacientes con larvas de *S. stercoralis* en heces identificadas mediante técnicas coproparasitológicas tuvieron una prueba serológica ELISA (Bordier Affinity Products). **Resultados:** la sensibilidad de la técnica ELISA fue de 77,3% (61/88) (CI95%: 67,7-85,1). La sensibilidad de este test serológico fue identificada más baja en pacientes HIV+ con CD4<300 (64,5%) que en pacientes HIV+ con CD4>300 o una serología VIH desconocida (84,2%) (p=0,035). **Conclusiones:** la sensibilidad del ELISA es inversamente proporcional al grado de inmunosupresión. Este resultado refuerza la recomendación de diagnosticar la estrongiloidiasis mediante una combinación de técnicas serológicas y coproparasitológicas.

**Palabras claves:** *Strongyloides stercoralis*, pruebas serológicas, pruebas de sensibilidad parasitaria, ensayo de inmunoadsorción enzimática

## Abstract

**Objectives:** the sensitivity of coproparasitological tests for the diagnosis of strongyloidiasis are suboptimal. Serological methods are more sensitive, but studies among immunocompromised patients are scarce. The aim of this study was to evaluate the sensitivity of a commercial ELISA test among immunocompromised patients. **Methods:** a multicenter study was conducted in Bolivia among patients with cancer, HIV, rheumatologic or hematologic diseases. 88 patients with *S. stercoralis* larvae in stool identified by coproparasitological techniques had an ELISA serological test (Bordier Affinity Products). **Results:** the sensitivity of the ELISA technique was 77,3% (61/88) (CI95%: 67,7-85,1), and was identified lower among HIV+ patients with CD4<300 (64,5%) than among HIV+ patients with CD4>300 or unknown HIV serology (84,2%) (p=0,035). **Conclusions:** the sensitivity of ELISA is inversely proportional to the degree of immunosuppression. This result reinforces the recommendation to diagnose strongyloidiasis by a combination of serological and coproparasitological techniques.

**Keywords:** *Strongyloides stercoralis*, serologic tests, parasitic sensitivity tests, enzyme-linked immunosorbent assay

La estrongiloidiasis es una enfermedad desatendida causada por el parásito *Strongyloides stercoralis*. Suele permanecer asintomática o paucisintomática durante décadas en personas inmunocompetentes, pero puede provocar cuadros graves con altas tasas de mortalidad en pacientes con alteraciones de la inmunidad celular<sup>1</sup>. El diagnóstico de la estrongiloidiasis se basa en una combinación de pruebas coproparasitológicas y serológicas por detección de anticuerpos específicos. No existe un “estándar de oro” para el diagnóstico de la estrongiloidiasis, ya que ninguna prueba tiene una sensibilidad y especificidad óptimas. Incluso las pruebas de biología molecular no tienen un rendimiento máximo, a pesar y usualmente no son

disponibles por, su alto costo en países que tienen recursos escasos.

El diagnóstico de la estrongiloidiasis se ve dificultado por la sensibilidad subóptima de las pruebas fecales. Sin embargo, la sensibilidad de las pruebas coproparasitológicas varía según la inmunidad del paciente. En pacientes inmunosuprimidos, la concentración de larvas en las heces aumenta, lo que mejora la sensibilidad de las técnicas coproparasitológicas.

La serología, que detecta los anticuerpos contra *S. stercoralis*, es un método muy útil en la práctica clínica. Existen varias técnicas: ensayos inmunoenzimáticos tipo ELISA, de inmunofluorescencia indirecta (IFAT), o ensayo de sistemas de inmunoprecipitación con luciferasa (LIPS), que detectan anticuerpos séricos, y que utilizan una variedad de antígenos diferentes (antígenos recombinantes o de *S. stercoralis* o de *S. ratti*). Reacciones cruzadas con otros nemátodos, como la filarisis o esquistosomiasis, pueden disminuir la especificidad<sup>2</sup>. Un panel de cinco pruebas serológicas diferentes, incluidos los dos kits disponibles comercialmente, tienen una sensibilidad entre el 71 y el 95% y una especificidad

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Tropical y Humanitaria, Hospital Universitario de Ginebra, y Facultad de Medicina de la Universidad de Ginebra, Suiza.

<sup>2</sup>Servicio de Medicina Penitenciaria, Hospital Universitario de Ginebra, y facultad de Medicina de la Universidad de Ginebra, Suiza. <http://orcid.org/0000-0002-8724-861X>.

<sup>3</sup>Servicio de Infectología, Hospital Clínico Viedma, Cochabamba, Bolivia.

<http://orcid.org/0000-0003-1240-6422>

\*Correspondencia a: Laurent Gétaz

Correo electrónico: Laurent.getaz@hcuge.ch

Recibido el 11 de enero de 2023. Aceptado el 01 abril de 2023.

entre 87 y 100%; estos valores se calcularon con una estándar de referencia que incluye también sujetos de zonas tropicales y coinfectados con otras infecciones parasitarias<sup>3</sup>. Sin embargo, la mayoría de los estudios que evaluaron la sensibilidad de las pruebas serológicas se realizaron en poblaciones inmunocompetentes. Los pocos estudios que han evaluado la sensibilidad en pacientes inmunodeprimidos tienen además un pequeño tamaño muestral. Schaffel y coll estudiaron en Brasil el papel del ELISA en 22 pacientes con enfermedades hematológicas y confirmación de la estrongiloidiasis por la presencia de larvas en las heces. Encontraron una sensibilidad del 68%<sup>4</sup>. Luvira y coll lo estudiaron en Tailandia en siete pacientes inmunocomprometidos igualmente con presencia de larvas de estrongiloidiasis en las heces. Encontraron una sensibilidad del 43%<sup>5</sup>. Estos escasos datos apoyan una hipótesis que alega que el deterioro de las defensas inmunitarias disminuye la sensibilidad de las pruebas serológicas, siendo que una inmunidad reducida conlleva una menor síntesis de anticuerpos<sup>2,5</sup>.

El objetivo del estudio fue de evaluar la sensibilidad de una prueba ELISA comercial en pacientes inmunodeprimidos en Bolivia.

## Materiales y métodos

El presente estudio observacional es de tipo cuantitativo, transversal. Se realizó un estudio serológico en Bolivia en nueve instituciones: en Santa Cruz en el “Instituto Oncológico del Oriente Boliviano (IOOB)”, en el “Centro Departamental de Vigilancia y Referencia de VIH/Sida (CDVIR)” y en el Centro de Enfermedades Reumatológicas Kramer; en Cochabamba en los servicios de infectología, de reumatología, de hematología y de oncología del Hospital Clínico Viedma, en el Instituto Nacional de Oncología de Tiquipaya y en la Clínica los Olivos. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: hombres o mujeres mayores de 18 años, que padecían patologías que predisponían a un síndrome de hiperinfestación o de estrongiloidiasis diseminada (neoplasia (hematológica o de órgano sólido), enfermedad reumatológica indicando la prescripción de medicamentos inmunosupresores o infección por el VIH). Los criterios de exclusión fueron: un tratamiento antiparasitario en los últimos seis meses, un estado clínico que dificulte la supervivencia a corto plazo, o una incapacidad para dar su consentimiento informado. El cálculo del tamaño muestral y el perfil sociodemográfico y clínico de la población se describen en detalle en una publicación de *PlosNTD*<sup>1</sup>.

### Análisis de laboratorio

**Exámenes de heces:** se analizaron dos muestras de heces frescas de cada participante utilizando cuatro técnicas parasitológicas (Examen Directo, Ritchie, Baermann y Cultivo en placa de agar-agar).

**Serología ELISA para *Strongyloides*:** para las serologías, los sueros separados de la sangre recién extraída se almacenaron a -20° antes de la prueba. Los IgG se detectaron mediante un ensayo inmunoenzimático según los procedimientos recomendados por el fabricante (*Bordier*

*Affinity Products*). Esta prueba comercial detecta anticuerpos IgG utilizando antígenos somáticos de larvas de *Strongyloides ratti*. Utilizando una metodología fiable, Bisoffi et coll. han evaluado la sensibilidad (91%) y la especificidad (94%) de esta prueba serológica con una estándar de referencia que incluía también sujetos de zonas tropicales y coinfectados con otras infecciones parasitarias<sup>3</sup>.

### Recolección de datos y análisis estadísticas

Se recogieron variables epidemiológicas, sociodemográficas y clínicas mediante un cuestionario estructurado. El estándar de referencia para estimar la sensibilidad de la técnica serológica fue el grupo de 88 participantes que tenían larvas de *S. stercoralis* detectadas con al menos una técnica coproparasitológica positiva. La sensibilidad de la prueba serológica se calculó como la proporción de resultados positivos con respecto a la población de referencia. Se utilizó la prueba Chi-cuadrado para comparar la sensibilidad según el grado de inmunosupresión. Un valor de  $p < 0,05$  se aceptó como estadísticamente significativo.

### Consideraciones éticas

Todos los pacientes eran adultos, fueron informados personalmente de la finalidad del estudio y dieron su consentimiento por escrito para participar en el estudio. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Colegio Médico de Santa Cruz, el Comité de Bioética de la Universidad Mayor de San Simón de Cochabamba y el Comité de Ética de Investigación de los Hospitales Universitarios de Ginebra, Suiza (CER 11-171). Los participantes fueron tratados para la estrongiloidiasis gratuitamente con dos dosis de ivermectina (200 µg/kg).

### Resultados

De los 88 pacientes con al menos una técnica coproparasitológica positiva, la edad media fue de 41,3 años (DE: 13,5), y el 54,5% fueron mujeres. En cuanto a las patologías relacionadas con el riesgo de padecer una estrongiloidiasis grave, 41 estaban infectados por el VIH, 8 tenían una enfermedad reumatológica, 28 un cáncer y 11 una enfermedad hematológica (Tabla 1).

En total, 61 tienen una serología positiva, lo que corresponde a una sensibilidad de 77,3% (CI95%: 67,7-85,1). De los pacientes HIV+ con menos de 300 CD4, HIV+ con más de 300 CD4 y los que tienen una enfermedad oncológica, hematológica o reumatológica (con serología VIH negativa o desconocida), 64,5% (20/31), 90,0% (9/10) y 83,0% (39/47) tienen la serología positiva, respectivamente.

La sensibilidad en los pacientes HIV+ con  $CD4 < 300$  es de 64,5% (20/31) y en el grupo de pacientes HIV+ con  $CD4 > 300$  o que tienen una enfermedad oncológica, hematológica o reumatológica con serología VIH negativa o desconocida, la sensibilidad fue de 84,2% (48/57) ( $p=0,035$ ) (Figura 1).

### Discusión

La sensibilidad de la serología para detectar la

**Tabla 1.** Patologías que afectan a los pacientes incluidos en el estudio, Cochabamba y Santa Cruz, Bolivia.

VIH (41 pacientes)
Cuento de CD 4 (células/ml)
1) 0-299: 75,6% (n=31)
2) $\geq 300$ : 24,4% (n=10)
Enfermedad oncológica (28 pacientes)
Localización de la enfermedad oncológica primaria
1) Órganos reproductores femeninos: 53,6 % (n=15)
2) Mama: 14,3% (n=4)
3) Otras†: 32,1% (n=9)
Enfermedad hematológica (11 pacientes)
Tipo de enfermedad hematológica
1) Leucemia mieloide crónica: 54,5% (n=6)
2) otras‡: 45,5% (n=5)
Enfermedad reumatológica (8 pacientes)
Tipo de enfermedad reumatológica
1) lupus eritematoso sistémico: 25,0% (n=2)
2) artrosis degenerativa erosiva*: 75,0% (n=6)

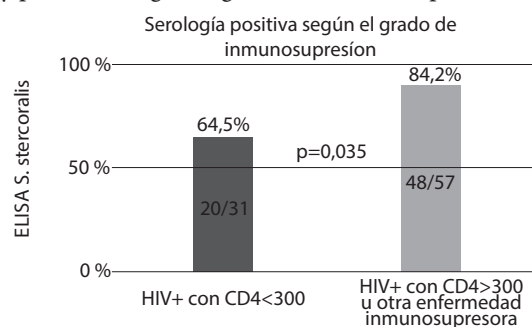
\* Con indicación transitoria a la prescripción de corticoides  
† Otras localizaciones oncológicas de la enfermedad primaria: aparato digestivo (n=3), cabeza y cuello (n=3); pulmones (n=2); piel (n=1)  
‡ Otras enfermedades hematológicas: mieloma múltiple (n=1); leucemia linfocítica crónica (n=1); trastorno mieloproliferativo (n=1); anemia hemolítica (n=1); linfoma no Hodgkin (n=1)  
Fuente: bases de datos de la investigación

estrongiloidiasis es del 77,3% dentro de una población de pacientes con diversos grados de inmunodepresión. Esta más baja que la sensibilidad identificada en personas inmunocompetentes por Bisoffi y coll, que demostraron una sensibilidad de 91% utilizando una metodología robusta con una estándar de referencia que incluía también sujetos de zonas tropicales y coinfectados con otras infecciones parasitarias<sup>3</sup>. La sensibilidad del ELISA es inversamente proporcional al grado de inmunosupresión. En la población de estudio, la sensibilidad es aún menor entre los pacientes seropositivos con recuentos bajos de CD4 (64,5%). Esta sensibilidad reducida en pacientes inmunodeprimidos confirma las observaciones realizadas en Brasil y Tailandia en un pequeño número de pacientes<sup>4,5</sup>

En pacientes que viven o que viajaron en regiones endémicas de la estrongiloidiasis y que presentan diversos grados de inmunodepresión, esta serología ELISA es muy

útil, también en pacientes inmunodeprimidos, permitiendo diagnosticar al menos dos tercios de los infectados, incluso en personas muy inmunodeprimidas con un conteo de CD4 muy bajo. Sin embargo, la utilización de la serología como única prueba es una herramienta insuficientemente sensible para excluir una infección por *S. stercoralis* en casos de inmunidad alterada. Los resultados de este estudio refuerzan la recomendación de combinar técnicas de diagnóstico para optimizar la detección de individuos infectados, ya que una proporción significativa de pacientes inmunodeprimidos tienen una serología falsamente negativa pero una detección positiva de larvas en las heces, mientras que un otro subgrupo tiene una concentración de larvas en heces demasiado baja para poder ser identificadas por técnicas coproparasitológicas pero tienen anticuerpos séricos detectables<sup>5,6</sup>.

Uno de los puntos fuertes de este estudio es que proporciona una estimación de la sensibilidad de una técnica serológica que rara vez se evaluó en una población de personas inmunodeprimidas, y nunca que sepamos en una muestra de este tamaño. No obstante, la información es muy importante, dado el alto riesgo de complicaciones graves en esta población. Estando dado el número de participantes, una limitación es la falta de potencia para explorar subgrupos de pacientes con inmunidad alterada. Una limitación es que la especificidad de esta prueba serológica en estos pacientes inmunodeprimidos no puede estimarse de forma confiable debido al diseño del estudio y, especialmente, a la falta de un estándar de referencia de alta sensibilidad.

**Figura 1.** Sensibilidad de la prueba serológica ELISA (Bordier affinity products) según el grado de inmunosupresión

Fuente: bases de datos de la investigación

## Conclusión

En pacientes inmunodeprimidos con alto riesgo de complicaciones, en caso de factores de riesgo epidemiológicos

de infección crónica por *S. stercoralis*, si no se realizan exámenes coproparasitológicos mediante una técnica sensible, como el examen de Baermann y/o el cultivo en placa de Agar, está indicado un tratamiento empírico con ivermectina. De igual manera, en un paciente inmunodeprimido con síntomas compatibles con estrongiloidiasis grave, la serología por sí sola no excluye el diagnóstico debido a la falta de sensibilidad. Lo recomendado es combinar la serología con exámenes coprológicos idealmente seriados con técnicas específicas para diagnosticar la estrongiloidiasis, como la de Baermann y/o el cultivo en placa de agar, con la serología cuando esta accesible.

**Conflictos de interés:** los autores no tienen ningún conflicto de interés.

**Fondos:** Este trabajo de investigación ha sido financiado por el “Fonds de Perequation” del Hospital Universitario de Ginebra, la “Fundación Dr Henri Dubois-Ferrière Dinu

Lipatti” (Suiza) y la “Asociación Salud Suiza Bolivia” (Suiza). Estas fundaciones no tuvieron ninguna influencia en el diseño del estudio.

**Agradecimientos:** Agradecemos a todos los técnicos de laboratorio: María Edith Fernández, María del Carmen Fernández, Fernando Anze, Luis Amaya, Mariela Flores-Saldia, Santa Lucia Ichazo, Yelin Roca, Marita Leños y Mirian Cruz. Un profundo agradecimiento a nuestros investigadores: Dra. Sandra Mejía, Dra. Sigrid Kramer, Dr. Hans Rodrigo Saavedra, Dra. Viviana Gómez, Dra. Brígida Gimena Alanoca y Dra. Gloria Banegas. También reconocemos con gratitud las contribuciones del Dr Pablo Zamora, Dr Marcelo Kramer, Dra Suzana Lisarazu, Dra Maria del Carmen Torrico Espinoza, Dr Nestor Gareca, Dr José Macias, Dra Gloria Rodriguez, Dr Ricardo Villegas, Prof François Chappuis, Dra Martha Alicia Arrien, Dr Henry Jesús Paniagua, Dr Pablo Sitic y Dra Mónica Fernández por el apoyo en la realización de este proyecto de investigación.

## Referencias bibliográficas

- Gétaz L, Castro R, Zamora P, Kramer M, Gareca N, Torrico-Espinoza MDC, et al. Epidemiology of *Strongyloides stercoralis* infection in Bolivian patients at high risk of complications. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Jan 17;13(1):e0007028.
- Requena-Méndez A, Chiodini P, Bisoffi Z, Buonfrate D, Gotuzzo E, Muñoz J. The laboratory diagnosis and follow up of strongyloidiasis: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(1):e2002
- Bisoffi Z, Buonfrate D, Sequi M, Mejia R, Cimino RO, Krolewiecki AJ, et al. Diagnostic accuracy of five serologic tests for *Strongyloides stercoralis* infection. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 8(1):e2640
- Schaffel R, Nucci M, Carvalho E, Braga M, Almeida L, et al. (2001) The value of an immunoenzymatic test (enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of strongyloidiasis in patients immunosuppressed by hematologic malignancies. *Am J Trop Med Hyg* 65: 346–350.
- Luvira, V, Trakulhun, K, Mungthin, M, Naaglor, T, Chantawat, N, Pakdee, W; et al. Comparative Diagnosis of Strongyloidiasis in Immunocompromised Patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2016, 95, 401–404.
- Carnino L, Schwob JM, Gétaz L, Nickel B, Neumayr A, Eperon G. A Practical Approach to Screening for *Strongyloides stercoralis*. *Trop Med Infect Dis*. 2021 Nov 29;6(4):203.