

***Strongyloides stercoralis*: Una discusión sobre su diagnóstico coproparasitológico y su prevalencia en pacientes positivos por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)**

Silvia Fallas, Francisco Hernández*,** Nury Mora,*** y Abigail Porras***

Resumen: La prevalencia de *Strongyloides stercoralis* usualmente es subestimada, dado que el examen directo de frotis fecales es un método poco sensible para el diagnóstico de este parásito. Por esta razón se recomienda el empleo de métodos más sensibles, como el de Baermann o el cultivo en plato de agar (CPA), y aún con estos métodos es ideal el análisis secuencial de unas siete muestras tomadas en días sucesivos, pues la excreción de las larvas de este parásito no es continúa. En este informe se analiza la prevalencia de parásitos intestinales en 100 pacientes VIH positivos. De cada uno de ellos se analizó una muestra de heces por examen directo, Baermann y CPA. Además, retrospectivamente se recopiló la información sobre la presencia de *S. stercoralis* en los exámenes de heces remitidos al laboratorio clínico del Hospital San Juan de Dios, durante un semestre.

El 21% de los pacientes presentaron algún helminto o protozooario intestinal y 12 (19%) de esos pacientes presentaban menos de 200 linfocitos CD4/ml. Solo se diagnosticaron helmintos en 4 pacientes, dos con menos de 200 células CD4/ml; uno de ellos correspondió a *Strongyloides*, el cual se diagnosticó tanto por el método de Baermann como por CPA. De setiembre (1996) a marzo (1997) se remitieron 1900 muestras de heces al laboratorio clínico del Hospital San Juan de Dios, y en 10 (0,5 %) de esas muestras se encontró *Strongyloides*, por examen directo.

La baja prevalencia de *Strongyloides* en pacientes VIH positivos ha sido informada en otros estudios; sin embargo, es importante sospechar de este parásito en cualquier paciente con alguna condición clínica asociada con inmunodeficiencia.

Introducción

Strongyloides stercoralis es uno de los nemátodos intestinales parásitos del hombre, cuya prevalencia es mayor en climas tropicales y subtropicales.^{1,3} Este parásito presenta un ciclo complejo de vida, como se ilustra en la revisión de Taylor y Orozco.⁴ El individuo parasitado alberga en su intestino hembras partenogenéticas, larvíparas, que constituyen las

formas parasitarias. Las larvas salen con las heces del paciente y su visualización microscópica constituye el diagnóstico de la parasitosis.⁵ Sin embargo, esa excreción de larvas no es continua, lo que aunado a la baja sensibilidad del frotis directo de heces para visualizar esas larvas, redundan en un subregistro de la parasitosis, aún en zonas endémicas, pues los exámenes de heces en días consecutivos pueden ser negativos, incluso si se trata de pacientes parasitados.^{5,7} Un ejemplo de tal subregistro se ilustra en la descripción de un caso de hiperinfección.⁴ Así, el hallazgo de *S. stercoralis* se hizo mediante la observación de las larvas en biopsias gástricas tomadas en dos ocasiones, con un mes de intervalo entre ellas; en tanto que tres muestras de heces de ese paciente fueron negativas por este parásito.

Para el diagnóstico de las estrongiloidiasis se recomienda el empleo de métodos más sensibles que el examen directo de frotis de heces. Los dos métodos diagnósticos que, al menos

Abreviaturas: CPA, cultivo en plato de agar; VIH, virus de inmunodeficiencia humana; HSJD, Hospital San Juan de Dios.

* Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

** Unidad de Microscopía Electrónica, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

*** Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.

Correspondencia: Francisco Hernández, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

en la última década, se han utilizado más frecuentemente, y que también se han comparado entre sí y contra el examen de heces directo, son el método de Baermann^{5,9} y el cultivo en plato de agar;^{8, 10-13} también se ha utilizado el cultivo de larvas por el método de Harada-Mori.⁸

En algunos informes sobre parasitismo intestinal realizados en Costa Rica se describe una prevalencia de *Strongyloides stercoralis* menor del 0.5%;¹⁴⁻¹⁶ pero en esos estudios el método diagnóstico empleado fue el examen directo de las heces, lo que plantea la posibilidad de un subregistro, debido a los argumentos esbozados anteriormente. Por ello es importante promulgar los aspectos generales del método de Baermann y el cultivo en plato de agar, pues si bien se trata de técnicas publicadas y por ende conocidas; que además, no requieren equipos ni reactivos especiales para su realización, no se han incorporado a la rutina en la mayoría de nuestros laboratorios parasitológicos. Así, el afán de esta recapitulación de ambas técnicas es motivar su empleo en nuestro medio.

El método de Baermann fue inicialmente descrito para la búsqueda de larvas de nemátodos fitopatógenos en suelo y luego se adaptó a la investigación de *S. stercoralis* en heces.¹⁷ El método aprovecha tanto el termotropismo, como el hidrotropismo positivos de estas larvas, para concentrarlas biológicamente. Es un método sencillo aunque engorroso, pero es considerado como uno de los más sensibles para el diagnóstico de este parásito. Consiste en colocar una porción voluminosa de heces (10 a 50 g) en contacto con agua a 45°C. En la versión original, esto se hace depositando las heces sobre una criba suspendida en la boca de un embudo, cuya salida tiene una manguera cerrada por una prensa tipo Mohr. El embudo se llena con agua a 45°C, de manera que las larvas migran de las heces al agua; así, luego de un periodo de incubación de una a dos horas o incluso de toda la noche, se centrifuga el agua del embudo y se analiza al microscopio de luz buscando las larvas.¹⁷ Otra versión del método consiste en colocar la porción de heces en un apósito de gasa que se introduce en un frasco con agua a 37-38°C, se incuba durante uno a dos horas y se continúa el proceso como en el método original.¹⁸

El método de cultivo en plato de agar (CPA) es mucho más reciente, ya que su primera descripción data de 1990.¹⁰ En este método no se cultivan las larvas de *Strongyloides*, como equivocadamente podría deducirse por el nombre de tal metodología; en realidad se trata de un cultivo de las bacterias de las heces, arrastradas por las larvas de este parásito.¹⁰⁻¹³ Fue descrito como un hallazgo de serendipia, cuando se observó que en los platos de un coprocultivo aparecieron trazos serpentiginosos de bacterias, como resultado de la movilización de larvas de *S. stercoralis* en las heces inoculadas.¹⁹ Con base en este hallazgo se diseñó un método diagnóstico para este parásito, que consiste en depositar una porción de heces de unos 2 g en el centro de un plato de agar nutritivo e incubarlo a 37°C por 24 horas. Si la muestra contiene larvas de

S. stercoralis, estas se moverán por la superficie del medio de cultivo, diseminando las bacterias que arrastraran en su cuerpo, de manera que al día siguiente esos trazos aparecerán marcados por colonias de bacterias y las larvas se identificarán fácilmente, lavando la superficie del medio de cultivo con solución salina o formalina, la que luego se centrifuga y analiza al microscopio. Obviamente, el lavado y análisis sólo se hace en las placas que muestran esos caminos serpentiginosos de bacterias.

En nuestro medio el método de Baermann es más conocido, por ello ante la sospecha de una posible estrogiloidiasis es ideal solicitar específicamente este examen, y tener en cuenta que aún este resulta negativo en días consecutivos; por lo tanto, es preferible solicitarlo seriado, al menos por unos siete días.

Como se ha informado,⁴ las hiperinfecciones por *Strongyloides* se asocian con pacientes con problemas de fondo, como enfermedades desgastantes, entre las que sobresalen: diabetes, linfomas, leucemias, desnutrición, alcoholismo, condiciones que se asocian con algún grado de inmunodepresión. También se ha descrito que el tratamiento con esteroides se asocia con la hiperinfección.²⁰⁻²³

La asociación de estrogiloidiasis masivas con inmunodeficiencia y la descripción de que en algunos pacientes la hiperinfección puede ser la primera señal de la inmunodeficiencia,²⁴ motivó la búsqueda de este parásito en pacientes VIH positivos, empleando los métodos de Baerman y el cultivo en placas de agar.

Materiales y Métodos

Se analizaron muestras de heces de cien pacientes diagnosticados como positivos por VIH, atendidos en el HSJD. De cada muestra se analizó un frotis a fresco en solución salina (0.85%) y en lugol, y se investigó la presencia de *S. stercoralis* por los métodos Baermann y CPA. Para el primero se emplearon embudos de vidrio, siguiendo la metodología descrita previamente.¹⁷ Para el CPA se utilizaron placas de agar nutritivo o agar sangre, en cuyo centro se colocó una porción de ca. 2g de heces e incubaron a 37°C por 24 horas.

Adicionalmente, se recabaron los datos de prevalencia de *S. stercoralis* de 1900 muestras de heces remitidas al laboratorio clínico del Hospital San Juan de Dios, provenientes de pacientes de Consulta Externa y de los otros servicios de ese hospital, entre setiembre de 1996 y mayo de 1997.

Resultados

La prevalencia de nemátodos y protozoos intestinales en la población VIH positiva analizada fue relativamente baja,

pues solo se encontraron en 21 de los pacientes, como se ilustra en el Cuadro 1. La distribución de esos 21 pacientes en las tres categorías propuestas por el Departamento de Salud de los Estados Unidos,²⁵ para catalogar el grado de inmunodeficiencia asociada a VIH, muestra que 12 (19%) correspondieron a pacientes con menos de 200 linfocitos CD4/mm³. En las dos categorías siguientes de linfocitos CD4/mm³ (200 a 499/ml y >500/ml) se encontraron solo 4 y 5 casos, que correspondieron al 36 y 23% del total de pacientes en cada una de esas categorías, respectivamente. Solo se diagnosticaron 4 casos parasitados por nemátodos, dos en pacientes con menos de 200 células CD4/ mm³, uno de ellos correspondió a *Strongyloides*, diagnosticado tanto por el método de Baerman como por el CPA. Los otros dos casos correspondieron a pacientes con más de 500 células CD4/ mm³. En el caso de protozoos, aunque la mayoría de los encontrados no son potencialmente patógenos, sí hubo una tendencia mayor a concentrarse en los pacientes más debilitados, pues 15 (68%) de los 22 protozoos observados estaban en la categoría de pacientes con menos de 200 CD4/ mm³. De esos parásitos solo tres estaban relacionados con algún grado de patología: *Giardia lamblia* (*G. duodenale*), *Entamoeba histolytica* *E. dispar* y *Microsporidius*; este último se encontró en un paciente del grupo intermedio (200 a 500 CD4/ mm³).

Durante un periodo de seis meses (setiembre de 1996 a marzo de 1997) se remitieron 1900 muestras de heces al laboratorio clínico del HSJD para el análisis parasitológico, en 10 (0,5 %) de esas muestras se encontró *Strongyloides* por examen directo.

Discusión

La prevalencia de parásitos intestinales encontrada en la población analizada VIH positiva es similar a la descrita para población general del país,¹⁴ pues en ambos casos se encontró un 21% de individuos con al menos un nemátodo o un protozoo intestinal. Sin embargo, la prevalencia de *S. stercoralis* en los pacientes VIH positivos fue del 1%; en tanto en otros estudios, como la encuesta nacional¹⁴ y el informe de Morales y Bolaños-Hernández¹⁵ fue del 0.1%; en tanto Bolaños *et al.*¹⁶ informan prevalencias del 0.37 y el 0.1% para las áreas de salud de Acosta y Coronado, respectivamente. No obstante, en esos informes el agente en cuestión fue diagnosticado mediante el examen directo de las heces. A la vez, las muestras analizadas durante un semestre en el HSJD, también por examen directo, indican una prevalencia de *S. stercoralis* del 0.5%. Estos datos de prevalencia menores del 1% posiblemente reflejen el subregistro de esta parasitosis. También es importante tomar en cuenta que los estudios basados en población atendida en hospitales o clínicas, lo que incluye los casos del presente informe, proveen datos que no pueden extrapolarse a la población general,

Cuadro 1
Helmintos y Protozoarios Intestinales encontrados en Pacientes VIH Positivos, Hospital San Juan de Dios

Helmintos o protozoarios	Recuento de CD4/ml*			Total
	< 200	200 a 499	> 500	
<i>S. stercoralis</i>	1	0	0	1
<i>T. trichiura</i>	0	0	1	1
Uncinariasa	1	0	1	2
<i>G. lamblia</i>	1	0	1	2
<i>E. colib</i>	4	0	1	4
<i>E. nanab</i>	7	2	2	11
<i>E. histolyticac</i>	2	1	0	3
<i>E. hartmanib</i>	1	0	0	1
<i>I. bütchilliib</i>	1	0	0	1
<i>Microsporidium</i>	0	1	0	1
Total de casos con al menos un agente	12	4	5	21

a. *Ancylostoma duodenale* o *Necator americanus*.
b. Protozoarios no patógenos.
c. *Entamoeba histolytica* o *Entamoeba dispar*, patógeno y no patógeno, respectivamente.

debido a sesgos de la propia área de atracción de esos centros, como se ha discutido en repetidas ocasiones.²⁶

En nuestro medio no se han realizado estudios sistemáticos empleando el método de Baermann o el CPA para definir la prevalencia de *S. stercoralis* en población general; aunque al igual que en otras latitudes se ha demostrado que este agente es importante en pacientes alcohólicos,²⁷ lo que se pone en evidencia cuando el agente en cuestión se investiga con los métodos adecuados. Por lo tanto, cuando se sospeche la infección por *S. stercoralis*, lo cual siempre será una posibilidad en pacientes de grupos de alto riesgo (con diabetes, linfomas, leucemias, desnutrición, alcoholismo, tratamiento con corticosteroides y cualquier condición inmunosupresora) es importante realizar exámenes empleando las técnicas más apropiadas, como el Baermann o el cultivo en platos de agar y más aún, los exámenes deben ser seriados para obviar los problemas debidos a excreción interrumpida y pobre de larvas,⁶ lo que obliga al análisis de un mínimo de siete muestras por paciente en días consecutivos.

Abstract

The prevalence of *Strongyloides stercoralis* usually is underestimated because direct smear of feces is an insensitive test for this parasite. For this reason other methods are recommended such as Baermann method and agar plate culture (APC). However, is ideal the sequential analysis at least of 7 stool samples.

In this report we analyze the prevalence of intestinal parasites in 100 VIH-positive patients. From each patient a stool sample was analyzed by direct smear, Baermann method and, APC. Also the prevalence of *Strongyloides* was retrospectively

recorded during six months from the fecal samples remitted to analysis at the Clinical Laboratory of the Hospital San Juan de Dios.

Twenty one percent of the VIH-positive patients showed at least one kind of intestinal nematode or protozoa. Twelve of them (19%) had less than 200 cells CD4/ml and only 4 cases infected by nematode were detected, 2 of them had less than 200 cells CD4/ml, one corresponded to *Strongyloides* diagnosed by Baermann method and CPA. From September (1996) to March (1997) 1900 fecal samples were remitted to the clinical laboratory, 10 of them (0,5 %) was diagnosed *Strongyloides* by direct smear.

The low prevalence of *Strongyloides* in VIH-positive patients has been reported. Nevertheless, suspect of this parasite is important in any patient with a clinical condition associated with immunodeficiency.

Referencias

- Pires ML, Dreyer G. Revendo a importância do *Strongyloides stercoralis*. Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo 1993; 48: 175-182.
- Marti H, Haji HJ, Savioli L, Chwaya M, Mgeni A, Ameir JS, Hatz C. A comparative trial of a single dose ivermectin versus three days of albendazole for treatment of *Strongyloides stercoralis* and other soil-transmitted helminths infections in children. Am J Trop Med Hyg 1996; 55: 477-481.
- Palma J. Brote de *estrongiloidiasis humana* en un centro de recuperación nutricional, Arica, Chile, 1991. Rev Chil Tecnol Med 1992; 15:721-723.
- Gourzong Taylor C, Kafarella Orozco I. Síndrome de hiperinfección por *Strongyloides stercoralis*. Acta Méd Cost 1999; 41(1): 19-22.
- Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Clinical Parasitology. 9th ed. Lea & Febiger. Philadelphia, 1984: 269-301.
- Dreyer G, Fernandes E, Alves S, Rocha A, Albuquerque R, Addiss D. Patterns of detection of *Strongyloides stercoralis* in stool specimens: Implications for diagnosis and clinical trials. J Clin Microbiol 1996; 34: 2569-2571.
- Uparanukaw P, Phongsri S, Morakote N. Fluctuations of larval excretion in *Strongyloides stercoralis* infection. Am J Trop Med 1999; 60: 967-973.
- Koga K, Kasuya S, Khamboonruang C, Sukavat K, Nakamura Y, Tani S, Ieda M, Tomita K, Tomita S, Hattan H, Mori M, Makino S. An evaluation of the agar plate method for the detection of *Strongyloides stercoralis* in Northern Thailand. J Trop Med Hyg 1990; 93: 183-188.
- Kaminsky RG. Evaluation of three methods for laboratory diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. J Parasitol 1993; 79: 277-280.
- Arakaki T, Masaaki I, Fukunori K, Atsushi S, Ryuji A, Tsuyoshi I. Efficiency of agar plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. J Parasitol 1990; 76: 425-428.
- Arakaki T, Kohakura M, Asato R, Ikeshiro T, Nakamura S, Iwanaga M. Epidemiological aspects of *Strongyloides stercoralis* infection in Okinawa, Japan. J Trop Med Hyg 1992; 95:210-213.
- Koga K, Kasuya S, Ohtomo H. How effective is the agar plate method for *Strongyloides stercoralis*? J Parasitol 1991; 78: 155-15.
- Koga K, Kasuya S, Khamboonruang C, Sukhavat K, Ieda M, Takatsuka N, Kita K, Ohtomo H. A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. Amer. J Trop Med Hyg 1992; 45: 518-521.
- Cerdas L. 1997. Evaluación de la prevalencia de parásitos intestinales: Tercera encuesta nacional de parasitismo. Trabajo final de Graduación, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.
- Morales MT, Bolaños-Hernández I. Frecuencia de cuatro nemátodos intestinales en el Hospital Nacional de Niños (1991-1995) Acta Pediatr Cost 1997; 11: 106-108.
- Bolaños N, Guevara A, Freer E. Prevalencia de parásitos intestinales en las áreas de salud de Acosta y Coronado. Rev Cost Cienc Méd 1997; 18:41-50.
- Moraes RG. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da strongyloidosis no Brasil. Rev Servi Esp Saúde Public 1948; 1: 507-624.
- Rugai E, Mattos T, Brisola A. Nova técnica para isolar larvas de nematoides das fezes. Modificação do método de Baermann. Rev Inst Adolfo Lutz 1954; 6: 899-904.
- Panosian K, Marone P, Edberg SC. Elucidation of *Strongyloides stercoralis* by bacteria-colony displacement J Clin Microbiol 1986; 24: 89-95.
- Liu LX, Weller PF. Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. Infec Dis Clin N Am. 1993; 7: 277-280.
- Yamori S, Yamamoto M, Kawabata A, Nakashima K, Iinuma Y, Satake T, Shimokata K. Strongyloidiasis following long-term corticosteroid therapy. Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi. 1989; 27: 1226-1230.
- Sen P, Gil C, Estrellas B, Middleton JR. Corticosteroid-induced asthma: a manifestation of limited hyperinfection syndrome due to *Strongyloides stercoralis*. South Med J 1995; 88: 923-927.
- Suvajdzic N, Kranjic-Zec I, Jovanovic V, Popovic D, Colovic M. Fatal strongyloidosis following corticosteroid therapy in a patient with chronic idiopathic thrombocytopenia. Haematologia (Budap) 1999; 29: 323-326.
- Montero A, Mazzolini G, Rojas SP, Brarda G, Conde H, Muñoz M. Hiperinfección por *Strongyloides stercoralis* como primera manifestación de SIDA. Medicina 1996; 56: 319-320.
- CDC. Revised classification system for VIH infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR 1992; 41:1-20.
- Pardo V, Hernández F. Prevalencia de parásitos intestinales en una población atendida en la clínica de Hatillo del Ministerio de Salud, 1995-1996. Rev Cost Cienc Méd 1997; 18: 45-50.
- Avendaño L, Hernández F, Jiménez F, Avila A, Castro D. *Strongyloides stercoralis* en pacientes alcohólicos. Parasitol Día 1999; 23: 91-94.