

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Ruben Angel Mercado Pedraza

FREQUÊNCIA DE INFECÇÃO POR *Strongyloides stercoralis* NO CHILE :
DETECÇÃO DA PARASITOSE MEDIANTE MÉTODOS PARASITOLÓGICOS E
SOROEPIDEMIOLÓGICOS.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do Título de Doutor em
Parasitologia

Orientador: Prof. Dra. Marlene Tiduko Ueta

Campinas
2004

Data da Defesa : 07/07/2004

Banca Examinadora

Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta(Orientador) _____

Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães _____

Profa. Dra. Julia Maria Costa Cruz _____

Profa. Dra. Silmara Marques Allegretti _____

Profa. Dra. Ana Maria Aparecida Guaraldo _____

Prof. Dr. José Roberto Mineo _____

Profa. Dra. Eliana Maria Zanotti Magalhães _____

Agradecimentos

Para as quatro instituições, chilenas e brasileiras, que participaram ativamente na realização deste estudo: Instituto de Parasitología da Universidad Austral de Chile, Laboratório de Helmintologia (L3) do Departamento de Parasitologia, Instituto de Biología da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Laboratorio de Referencia de Parasitología do Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) e Laboratório Básico-Clínico de Parasitología do Instituto de Ciências Biomédicas da Facultad de Medicina da Universidad de Chile.

Para as autoridades acadêmicas da Facultad de Medicina da Universidad de Chile que me proporcionaram esta oportunidade: Prof. Dr. Jorge Las Heras B. (Decano) e Profa. Dra. Valeria Prado J. (Directora Programa de Microbiología y Micología) e ao Dr. BQ. Eugenio Ramírez Jefe de Laboratorios de Salud do Instituto de Salud Pública de Chile.

Aos parasitólogos chilenos que colaboraram ativamente: TM. MCs. María Isabel Jercic, Prof. Dr. Patricio Torres, Prof. Dr. Rene Franjola, Prof. Dr. Werner Apt, TM. Lic. Victor Munoz, TM. Lic. Lea Sandoval, Prof. Dr. Jorge Gonzalez e muito especialmente ao Prof. Dr. Hugo Schenone guia permanente na pesquisa das doenças parasitárias humanas.

Aos parasitólogos brasileiros pela colaboração e incentivo: Profa Dra. Eliana Maria Zanotti Magalhães, Profa. Dra. Ana Maria Aparecida Guaraldo, Profa. Dra. Silmara Marques Alegretti, Profa. Dra. Urara Kawazoe, Dra. Fabiana Martins de Paula, Profa. Dra. Julia Maria Costa-Cruz.

Aos integrantes dos laboratórios de parasitologia brasileiros e chilenos antes ditos: João Batista Alves de Oliveira, Ivo Gonçalves Pereira, Rubens Riscala Madi, Nilson Branco, Cinthia Riquelme e especialmente a Douglas Castillo pela prestimosa colaboração.

As funcionárias da secretaria do Departamento de Parasitologia da UNICAMP e Laboratório de Referencia de Parasitología do ISP de Chile pela ajuda prestada.

Este trabalho de pesquisa é dedicado, respeitosamente a:

Profa. Dra. Marlene T. Ueta minha orientadora e ao Prof. Dr. Luiz A. Magalhães, formadores de pesquisadores na área da parasitologia.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
SUMMARY	vii
INTRODUÇÃO	1
1. Aspectos biológicos	1
2. Relação parasito – hospedeiro	2
3. Diagnóstico de laboratório	4
4. Aspectos epidemiológicos	6
OBJETIVOS	8
RESULTADOS	9
Capítulo I	
Inmunodiagnostico de las infecciones por <i>Strongyloides stercoralis</i> en Chile utilizando la prueba de ELISA.	10
Capítulo II	
Infecciones por protozoos y helmintos intestinales en pre-escolares y escolares de la Comuna de Colina, Santiago, Chile, 2003.	18
Capítulo III	
Exposition to acquiring larva migrans syndromes in squares and public parks in 13 cities of Chile (2001-2002).	24
Capítulo IV	
Seroepidemiology of human <i>Strongyloides stercoralis</i> infections in Chile.	32
CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

RESUMO

Entre os anos 2000 e 2003 foram coletadas no Chile 2.390 amostras de sangue humano para obtenção de soros e 600 amostras de fezes de cães de 13 diferentes cidades para estudo soroepidemiológico de infecções causadas por *Strongyloides stercoralis* e avaliar a importância dos cães na transmissão da infecção ao homem. As amostras de soros humanos corresponderam a: a) 10 indivíduos infectados por *S. stercoralis* com confirmação parasitológica; b) 66 pacientes com outras helmintíases (24 toxocaríase, 15 triquinose, 11 hidatidose, 12 fasciolíase e 4 cisticercose); c) 13 com outras enfermidades autoimunes; d) 49 indivíduos aparentemente saudáveis, com contagem de eosinófilos nos limites normais; e) 206 alunos de escola básica; f) 674 pacientes internos em dois hospitais psiquiátricos; g) 172 servidores da área de saúde de dois hospitais psiquiátricos e h) 1.200 doadores de sangue. Foi padronizado, pela primeira vez no Chile, o método de ELISA, utilizando antígeno preparado a partir de larvas filarióides de *S. venezuelensis*. Pelo ELISA pôde-se determinar a presença de anticorpos anti *S. stercoralis* em: a) 90%, e) 0,5%, f) 12,2%, h) 0,25%. Nos grupos b, c, d, g não foram detectados anticorpos específicos. Entre os doadores de sangue de 5 cidades (Arica e Antofagasta na Região Norte; Valparaíso e Santiago na Região Central; e La Unión na Região Sul), foram detectados anticorpos somente naqueles de Arica e La Unión, o que sugere que a strongiloidíase no país pode estar restrita a determinadas áreas. Em pacientes internos nos dois hospitais psiquiátricos do Chile foram observadas frequências de infecção 48,8 vezes maiores que em doadores de sangue, sugerindo a fácil transmissão nestes recintos. Os funcionários da área de saúde destes hospitais apresentaram ELISA negativo para *S. stercoralis*. Não foram constatadas presença de *S. stercoralis* na totalidade das amostras de fezes de cães. Estes resultados, obtidos de coletas em 13 cidades, número que abrangeu quase todo o território chileno, indicam que os cães não estariam interferindo na transmissão da parasitose. O resultado da soroepidemiologia, obtido no presente trabalho, sugere que no Chile as infecções por *S. stercoralis* são endêmicas, de baixa frequência, localizadas em determinadas áreas geográficas, afetando, com maior frequência, grupos de risco, como os internos em hospitais psiquiátricos.

SUMMARY

From 2000 to 2003, human serum samples of 2390 individuals and 600 dog fecal samples recovered in 13 squares and public parks in Chile were studied to determine the seroepidemiology of the *Strongyloides stercoralis* infection and the role of dogs on the transmission of this parasitose. Human serum samples were as follows: a) 10 *S. stercoralis* infected patients with parasitologically confirmed infection; b) 66 patients with other helminthiasis (24 toxocariasis, 15 trichinellosis, 11 hydatidosis, 12 fascioliasis, 4 cysticercosis); c) 13 patients with other immunological disorders; 49 apparently healthy individuals with normal eosinophil count; e) 206 school children; f) 674 patients hospitalized in two psychiatric institutions, g) 172 health personnel working in two psychiatric institutions and h) 1200 blood donors. For the first time in Chile it was standardized an ELISA test by using an antigen of *S. venezuelensis* filariform larvae. By means of ELISA antibodies against *S. stercoralis* were detected in: a) 90%, e) 0.5%, f) 12.2% and h) 0.25%. In groups b, c, d and g no specific antibodies were present. In blood donors from five cities (Northern region: Arica and Antofagasta, Central region: Valparaíso and Santiago, and Southern region: La Unión) only in Arica and La Unión antibodies against *S. stercoralis* were detected. This result suggests that strongyloidiasis in Chile could be localized in determinate areas of the country. The frequency of antibodies detected in interned patients in two psychiatric institutions was 48.8 greater than the frequency observed in blood donors, suggesting the transmission of *S. stercoralis* was facilitated in these institutions. ELISA for strongyloidiasis was negative in all the health personnel studied. *S. stercoralis* larvae were not detected in 600 fecal samples of dogs collected in public parks and squares of 13 cities of Chile. Dogs probably do not participate in the transmission of strongyloidiasis in Chile. The seroepidemiology of the *S. stercoralis* infections in Chile showed this parasitose is endemic, with low transmission rates and localized in determinate geographical areas, affecting with a high frequency some risk groups such as the psychiatric interned patients.

INTRODUÇÃO

1. Aspectos biológicos .

Strongyloides stercoralis (Bavay, 1876) é um nematódeo intestinal de ciclo complexo. As fêmeas parasitas medem 2,7mm de comprimento por 30-40µm de diâmetro, machos parasitas não são conhecidos. O habitat do parasita é a mucosa do intestino delgado do homem, especialmente a porção anterior do intestino. Little (1966a) redefiniu o gênero *Strongyloides*, com seis espécies: *S. stercoralis* (parasita do homem), *S. fülleborni* (de primatas não humanos da África), *S. cebus* (de primatas não humanos da América), *S. myopotami*, *S. venezuelensis* e *S. ratti* (de roedores). Ao mesmo tempo descreveu sete novas espécies (Little, 1966b). Segundo Speare (1989) o gênero *Strongyloides* teria 52 espécies válidas. Atualmente são reconhecidas mais de 40 espécies de *Strongyloides* parasitando diversos hospedeiros, especialmente mamíferos, mas também aves, répteis e anfíbios. As espécies e sub-espécies que podem causar infecção no homem são: *S. stercoralis* que é de distribuição cosmopolita; *S. fülleborni* subsp. *fülleborni*, que habitualmente parasitam primatas não humanos da África, mas podem causar infecção nos homens e *S. fülleborni* subsp. *kellyi* causador de infecções de curso fatal em habitantes de Nova Guiné (Ashford & Barnish, 1989). A análise de filogenia molecular sugere que *S. fülleborni* subsp. *kellyi* não seria uma sub-espécie, mas uma espécie distinta (Dorris *et al.*, 2002).

Os ovos produzidos, pelas fêmeas parasitas em número aproximado de 50 por dia, possuem parede delgada e transparente, formato ovóide, medem 50–58µm de comprimento por 30–34µm de largura. Dos ovos, depositados nas criptas da mucosa intestinal, rapidamente eclodem larvas rabditóides, que alcançam a luz e podem ser eliminadas com as fezes. Na matéria fecal ou no solo podem evoluir a larva filarióide entre 24 a 36 horas e infectar um hospedeiro, penetrando ativamente pela pele. As larvas rabditóides podem dar origem, no meio externo, a uma geração de *S. stercoralis* de vida livre. Entre dois a quatro dias há formação de machos e fêmeas de vida livre e as fêmeas depositam ovos, dos quais eclodem larvas rabditóides que se transformam em larvas filarióides infectantes. Um indivíduo parasitado por *S. stercoralis* pode se auto-infectar, seja pela penetração das larvas filarióides na mucosa intestinal (auto-infecção interna) ou por auto-infecção externa a partir da pele perineal (Beaver & Jung, 1985; Grove, 1996).

2. Relação parasito – hospedeiro.

A maioria das infecções por *S. stercoralis* é assintomática ou causa pequeno dano ao hospedeiro, mas pode provocar infecção aguda sintomática. Também se considera que as infecções por este nematódeo tendem a ser crônicas (Grove, 1996; Keiser & Nutman, 2004). Têm-se observado que algumas pessoas desenvolvem strongiloidíase mesmo 30 anos após terem saído de zona endêmica (Pelletier *et al.*, 1984). Em indivíduos imunocomprometidos a strongiloidíase pode ser disseminada, por vezes fatal. Nas infecções assintomáticas não se observam manifestações cutâneas. De modo similar as lesões pulmonares são mínimas, devido a passagem rápida das larvas, e praticamente não se observam manifestações intestinais, desde que o número de parasitas seja pequeno (Grove, 1996; Keiser & Nutman, 2004).

As infecções disseminadas podem ser causadas pela auto-infecção, principalmente em indivíduos com sistema imunológico comprometido. Esta condição pode ocorrer em indivíduos debilitados por má nutrição, hipogamaglobulinemia ou por outras infecções crônicas, como a tuberculose. Também têm-se observado em pacientes submetidos a terapia imunossupressora ou corticoterapia (Igra-Siegmán *et al.*, 1981; Davidson *et al.*, 1984; Grove, 1996; Schaffel *et al.*, 2001; Keiser & Nutman, 2004). Pessoas portadoras do vírus HIV podem apresentar infecção concomitante por *S. stercoralis*, embora nem sempre ocorra disseminação fatal (Vieyra-Herrera *et al.*, 1988) e é assinalada frequência maior do parasita em portadores de HTLV I (Nakada *et al.*, 1984; Robinson *et al.*, 1994; Gotuzzo *et al.*, 1999; Chieffi *et al.*, 2000; Porto *et al.*, 2002).

Diversas manifestações clínicas podem ser observadas em pacientes com strongiloidíase crônica e disseminada. Foi mencionado que a maioria das infecções crônicas é assintomática, alguns pacientes relatam manifestações inespecíficas como: dor no epigástrico, diarreia, constipação. Entre as manifestações extra-intestinais destaca-se um quadro cutâneo, denominado *larva currens*, que consiste no rápido avanço de uma lesão linear pruriginosa (10cm por hora), frequentemente iniciada nas proximidades do ânus, mas pode reaparecer em outras regiões anatômicas (Beaver & Jung, 1985). A hiperinfecção ou strongiloidíase disseminada apresenta-se com manifestações respiratórias e digestivas combinadas e infecções bacterianas

concomitantes, podendo causar meningite, pneumonia ou sepsia (Purtillo *et al.*, 1974; Pires & Dreyer, 1993).

O único caso de infecção disseminada por *S. stercoralis* descrito no Chile, em 1983, afetou um homem oligofrênico de 53 anos internado em sanatório psiquiátrico de uma localidade da V Região geopolítica (Oddo & Duarte, 1983).

Os indivíduos infectados por *S. stercoralis* reagem pela resposta imune contra o parasita. Mediante teste ELISA e “Western-blot” pode-se determinar a formação de anticorpos específicos do tipo IgG, IgA e IgE (Neva *et al.*, 1981; McRury *et al.*, 1986; Genta *et al.*, 1987; Costa-Cruz *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2003). Entre as subclasses de IgG especialmente se forma a IgG4 (Genta & Lillibridge, 1989; Atkins *et al.*, 1999). A resposta imune celular é evidenciada por uma leucocitose e eosinofilia sangüínea elevada, comumente maior que 10%. Em ensaios de proliferação de linfócitos periféricos tem-se observado um efeito inibidor do soro de indivíduos com estrongiloidíase e aumento de interleucina 2 (Genta *et al.*, 1983; Sato & Shiroma, 1989; Grove, 1996). A resposta imune celular contra alérgenos e helmintos está associada ao fenótipo T “helper” 2 que secretam interleucinas 4, 5, 10 e 13 e induzem células B a produzir anticorpos IgE e IgG4. No mecanismo T- independente, macrófagos intestinais secretam TNF- α , IFN γ e interleucina 1, 12 e 18 modulando a resposta imune protetora dependente de T “helper” 2. Estes processos não são suficientes para eliminar os helmintos (Costa-Cruz, 2000).

Outros animais hospedeiros de *S. stercoralis*.

Primatas.

S. fülleborni é espécie que infecta primatas não humanos da África (Ashford & Barnish, 1989). No entanto, em grandes símios como chimpanzés e gorilas de zoológicos, têm sido descritos infecções fatais por *S. stercoralis*. Também são relatadas infecções experimentais de primatas imunossuprimidos com isolados humanos de *S. stercoralis* (Grove, 1996)

Cães.

Presença de larvas de *Strongyloides* sp. tem sido descrita em vários estudos de amostras fecais de cães. Na Nigéria foi relatado que 14,96% de 254 amostras fecais de cães estava positiva para *S. stercoralis* (Ugochukwu & Ejimadu, 1985). Em uma

comunidade do nordeste da Índia, 2% de 101 cães apresentou larvas de *Strongyloides* sp. (Traub *et al.*, 2002) e no Japão foram descritas larvas de *Strongyloides* sp. em 1,93% de 1505 cães domiciliados (Itoh *et al.*, 2003). No Brasil, exames feitos em 271 cães de São Paulo (Oliveira- Sequeira *et al.*, 2002) e amostras fecais de cães coletados em 74 praças públicas da cidade de Campo Grande (MS) estavam negativas para *Strongyloides* (Araujo *et al.*, 1999). No Chile, não se detectou presença de *Strongyloides* sp. em cães da cidade de Valdivia, região sul do país (Oberg *et al.*, 1979; Torres *et al.*, 1995). Entretanto, na cidade de Santiago foi registrada a presença de larvas de *S. stercoralis* em uma amostra fecal de um cão em 1500 estudados (Alcaíno & Tagle, 1970) e esta é a única referência da presença de *S. stercoralis* em cães no Chile.

Os cães podem ser, experimentalmente, infectados com isolados humanos de *S. stercoralis*, mas considera-se que sejam naturalmente infectados por linhagens de *S. stercoralis*. Há evidências que linhagens de *Strongyloides* de cães podem infectar o homem, no entanto, a importância epidemiológica dos cães como transmissores de *S. stercoralis* para o homem ainda não está esclarecida (Georgi & Sprinke, 1974; Grove & Northern, 1982; Ramachandran *et al.*, 1997).

3. Diagnóstico de laboratório.

Métodos parasitológicos diretos.

Diversos métodos de laboratório têm sido descritos para detectar larvas rabditóides ou filarióides de *S. stercoralis*. Para recuperar larvas de amostras fecais são empregados os métodos de Baermann (1917) ou de Rugai (Rugai *et al.*, 1954). Para cultura de amostras de fezes têm-se utilizado os métodos de cultivo em papel filtro (Harada & Mori, 1955) e em placas de Petri com agar (Koga *et al.*, 1991). Também se detectam larvas em amostras de fezes processadas por métodos de centrifugação, como os de formalina-éter ou suas variantes, como o PAF (Arakaki *et al.*, 1990). Larvas de *S. stercoralis* podem ser observadas em preparados microscópicos do conteúdo duodenal obtido por entubação ou mediante o “enterotest”(Grove, 1996).

Diversos autores afirmam que os métodos parasitológicos de diagnóstico da estrogiloidíase têm baixa sensibilidade (Neva *et al.*, 1981; Conway *et al.*, 1995; Sato *et al.*, 1995b; Grove 1996; Dreyer *et al.*, 1996; Paula *et al.*, 2000). O motivo desde fato é a

eliminação de maneira irregular e pequeno número de larvas na maioria dos casos de strongyloidíase crônica.

A especificidade dos métodos parasitológicos diretos está relacionada ao correto diagnóstico pelas observações das características morfológicas das larvas rabditóides e filarióides de *S. stercoralis*. Especial cuidado deve ser dispensado na presença de larvas de ancilostomatídeos e de nematódeos de vida livre do gênero *Rhabditis*, com os quais podem ser confundidos durante o processo de diagnóstico microscópico (Beaver & Jung, 1995).

Métodos imuno-sorológicos.

Diversos métodos de laboratório têm sido descritos para detectar uma resposta imune humoral em indivíduos infectados por *S. stercoralis*. Têm-se empregados hemaglutinação indireta, imunofluorescência indireta, ELISA e imunoeletrotransferência ou “Western-blot” (Brannon & Faust, 1949; Kannani & Rees, 1970; Dafalla, 1972; Tribouley-Duret *et al.*, 1976, 1978; Grove & Blair, 1981; Gam *et al.*, 1987; Sato *et al.*, 1990; Conway *et al.*, 1993; Lindo *et al.*, 1994; Costa-Cruz *et al.*, 1997, 2003; Paula *et al.*, 2000; Schaffel *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2003; Rodriguez *et al.*, 2004). Em 2002 foram descritos antígenos recombinantes construídos a partir de DNA genômico de *S. stercoralis* (Ravi *et al.*, 2002). O método mais usado atualmente é o ELISA (Siddiqui & Berk, 2001).

Um problema maior no diagnóstico imunossorológico é a obtenção de quantidade adequada de larvas filarióides de *S. stercoralis* para preparação de extrato somático proteico como antígeno. Tem-se descrito a recuperação de larvas filarióides de amostras fecais de pacientes infectados (Neva *et al.*, 1981) e que foram inoculadas em cães imunossuprimidos (Genta & Lillibridge, 1989). Espécies de *Strongyloides* de roedores e mantidos, experimentalmente, em laboratório como *S. ratti* e *S. venezuelensis* têm sido usados, com êxito, como fontes de larvas filarióides para preparar extratos antigênicos que permitam detectar anticorpos séricos específicos em pacientes com strongiloidíase (Neva *et al.*, 1981; Grove & Blair, 1981; Sato *et al.*, 1995a; Costa-Cruz *et al.*, 1997; Machado *et al.*, 2003).

4.- Aspectos epidemiológicos.

Em nível global.

As infecções por *S. stercoralis* são cosmopolitas. Casos de estrogiloidíase são descritos em países de todos os continentes do mundo. É mais freqüente em países de clima tropical ou temperado com condições sanitárias deficientes, especialmente na Ásia, África e América Latina. Em países industrializados a freqüência da infecção é menor, ainda que se observe o fenômeno das infecções não autóctones ou importadas devidas a populações migrantes de países em desenvolvimento (Grove, 1996; Siddiqui & Berk, 2001).

O conhecimento da epidemiologia das infecções por *S. stercoralis* é incompleto e difícil de precisar, devido, fundamentalmente, aos métodos de diagnóstico de laboratório. A teoria ecológica relativa as infecções crônicas e alguns aspectos biológicos de *S. stercoralis* (a larva infectante é de vida curta) sugerem que as taxas de transmissão sejam baixas (Conway *et al.*, 1995).

Para calcular a freqüência de estrogiloidíase em uma determinada região biogeográfica tem-se utilizado métodos laboratoriais parasitológicos, quer diretos quer imunossorológicos. Porcentagens de infecção por *S. stercoralis* em recentes estudos de amostras fecais de populações selecionadas de alguns países da América do Sul são: Brasil: 13,0% em 300 crianças de Uberlândia, MG de 4 meses a 7 anos de idade (Machado & Costa-Cruz, 1998); Colombia: 2,3% em 169 indivíduos de várias faixas etárias da cidade de Armenia (Gallego *et al.*, 2003) e Venezuela: 1,4% em 132 escolares do povoado de Tamarindo (Devera *et al.*, 2003).

As porcentagens de anticorpos anti *S. stercoralis* obtidas mediante ELISA, apresentam valores diferentes nas várias áreas estudadas. Em três regiões diferentes de Okinawa (Japão), Gushikawa, Nakazato e Sashiki, as porcentagens foram de 11,8 (101/858), 17,0 (144/849) e 27,7 (332/1199) respectivamente (Sato *et al.*, 1995a). A soroepidemiologia da estrogiloidíase em uma vila de hansenianos da Tailândia mostrou que 45% de 177 habitantes apresentou ELISA positivo (Douce *et al.*, 1987). Em Tel Aviv (Israel) um de 106 pacientes internados em uma instituição para enfermos mentais apresentou ELISA positivo para *S. stercoralis* (Huminer *et al.*, 1992). No Canadá, em uma população de 232 refugiados provenientes do sudeste asiático, 64,7% estava positivo para ELISA (Gyorkos *et al.*, 1990). Em Abadia dos Dourados (MG-Brasil) foi relatado o valor de 7,7% em 207 habitantes de idades que variaram entre 2 e 78 anos.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as porcentagens de infecção por grupos etários, com valores entre 0,5-2,4% nem entre sexos, com valores de 7,7% para homens e 7,8% para mulheres (Costa-Cruz *et al.*, 1998).

Não há no Chile, anteriores ao presente trabalho, registros de determinação de anticorpos específicos em indivíduos infectados por *S. stercoralis*, como complemento ao diagnóstico e aos estudos epidemiológicos da parasitose.

Antecedentes históricos da estrogiloidíase no Chile

Em 1920 foram descritos os primeiros casos de infecção por *S. stercoralis* que afetaram os mineiros de carvão das regiões de Concepción e Arauco (IX Região do Chile), registrando frequência de 6,9% (69/991). Fato interessante foi a ausência de casos de infecção por *S. stercoralis* em 323 familiares dos mineiros, habitantes de campos circunvizinhos que nunca haviam estado nas minas de carvão (Fernández, 1920). Foram descritos em 1957 e 1964 casos de estrogiloidíase em dois pacientes estrangeiros e um chileno (Donckaster *et al.*, 1958; Donckaster & Faiguenbaum, 1964) e em 1982 um caso fatal de estrogiloidíase disseminada que afetou um paciente oligofrênico hospitalizado (Oddo & Duarte, 1983). Em 1985 e 1990 foram publicados resultados de pesquisas coproparasitológicas realizadas em um hospital psiquiátrico da V Região geopolítica, com frequência de 11,6% (57/490) e 7,0% (16/229) respectivamente (Cornejo *et al.*, 1985; Garibaldi *et al.*, 1990). Foram relatados em 1990 casos na cidade de Arica (I Região) e em 1992 um pequeno surto epidêmico em um jardim de infância da mesma cidade (Palma & Onate, 1990; Palma, 1992). Estes estudos foram realizados, exclusivamente, por métodos parasitológicos de pesquisa de larvas nas fezes e por métodos histológicos em casos de autópsia.

No Chile não se utilizam métodos laboratoriais considerados de eleição para detecção de infecções por *S. stercoralis*. Rotineiramente, o estudo de enteroparasitoses em amostras fecais é realizado coletando três amostras seriadas, que são imediatamente misturadas com soluções conservantes contendo formalina. Assim, não é possível realizar cultura de larvas, que requer necessariamente amostras frescas. Por outro lado, sabe-se que a sensibilidade dos métodos de detecção de larvas por centrifugação de amostras fecais preservadas com formalina é muito baixa. Portanto no Chile, ao não se utilizar técnicas adequadas de diagnóstico laboratorial para a estrogiloidíase, não se

estaria pesquisando todos os casos de infecção e não se poderia contar com informações precisas sobre a prevalência da infecção. Um conhecimento mais amplo sobre a epidemiologia da estrogiloidíase requer novos estudos de diversos grupos populacionais do país, incluindo doadores de sangue, escolares e internos em hospitais psiquiátricos. Há necessidade, portanto, de implantação de métodos de laboratório adequados para diagnóstico e estabelecer parâmetros epidemiológicos que permitam precisar o papel do homem e de eventuais outros hospedeiros, como por exemplo cães, na transmissão das infecções por *S. stercoralis*.

OBJETIVOS

- Padronizar, no Chile, o método imunossorológico de ELISA para detecção de infecções por *S. stercoralis*.
- Pesquisar *S. stercoralis* em amostras fecais de cães, coletadas em praças e parques públicos de diferentes localidades das regiões norte, centro e sul do Chile.
- Determinar a frequência de infecções por *S. stercoralis* mediante ELISA em uma população chilena de escolares, pacientes internados em hospitais psiquiátricos e de doadores de sangue.

RESULTADOS

Os resultados estão detalhados nos capítulos 1 a 4, mas o resumo dos mesmos está relatado, a seguir:

Foram processados 2.390 soros humanos, dos quais 138 foram usados na padronização do método de ELISA para detecção de anticorpos séricos específicos contra *S. stercoralis* e 2.252 para estudar a soropidemiologia da estrogiloidíase.

As 2.390 amostras de soros humanos estudados corresponderam a: a) 10 infectados por *S. stercoralis*; b) 66 com outras helmintíases; c) 13 com outras enfermidades autoimunes; d) 49 de indivíduos aparentemente saudáveis, com eosinofilia dentro dos limites normais; e) 206 alunos de escola básica; f) 674 pacientes internos em dois hospitais psiquiátricos; g) 172 profissionais da área de saúde dos dois hospitais psiquiátricos e h) 1200 doadores de sangue.

A porcentagem de anticorpos anti *S. stercoralis* segundo ELISA nos diferentes grupos de soros foi: a) 90%; e) 0,5%; f) 12,2%; h) 0,25%. Nos demais grupos não foram detectados anticorpos específicos.

Entre os doadores de sangue de cinco cidades do Chile: Arica e Antofagasta (região norte), Valparaíso e Santiago (região central) e La Unión (região sul) somente foram detectados anticorpos naqueles de Arica (1%) e La Unión (0,5%).

Nos pacientes internos em dois hospitais psiquiátricos foram detectadas frequência 48,8 vezes maior em relação aos doadores de sangue ($p < 0,05$). Os funcionários da área da saúde dos mesmos hospitais estavam negativos.

Não foi constatada a presença de *S. stercoralis* nas 600 amostras fecais de cães, coletadas em praças e parques públicos de 13 cidades.

CAPÍTULO I

Revista médica de Chile
ISSN 0034-9887 versión impresa

Rev Méd Chile 2002; 130: 1358-1364

Inmunodiagnóstico de las infecciones por *Strongyloides stercoralis* en Chile utilizando la prueba de ELISA

Rubén Mercado P¹, María Isabel Jercic L², Patricio Torres H³, Sergio Alcayaga U⁴, Fabiana Martins de Paula⁵, Julia María Costa-Cruz⁶, Marlene T Ueta^{5,7}.

Immunodiagnosis of Strongyloides stercoralis infections in Chile using an Elisa test

Background: *Strongyloides stercoralis* is a world wide distributed small intestinal nematode parasite. In immunocompetent individuals *S stercoralis* can produce asymptomatic infections or a moderate clinical picture of diarrhea, some cases become chronic. In immunocompromised patients, a disseminated disease may appear, sometimes fatal. In Chile, there is little epidemiological information about *S stercoralis* infections and appropriate diagnostic techniques are usually not used. **Aim:** To evaluate the yield of an ELISA test for the diagnosis of strongyloidiasis in Chilean patients. **Material and methods:** Ten serum samples from patients with *S stercoralis* infections confirmed by a positive stool examination, 66 samples from individuals with other infections by tissue helminthes (24 toxocariasis, 15 trichinellosis, 11 hydatidosis, 12 fascioliasis and 4 cysticercosis), 13 samples from subjects with autoimmune diseases and 49 samples from apparently healthy individuals with a normal eosinophil count, were studied. ELISA antigen was prepared using a filariform larval extract obtained from a murine species of *Strongyloides*, maintained in laboratory animals. **Results:** Using 0.33 optical density units as a cut off value, 9 of 10 sera of *S stercoralis* infected individuals, had a positive ELISA test. No cross reactions were observed with sera of patients with other helminthic infections, autoimmune diseases or in healthy individuals. Thus, specificity, positive and negative predictive values were 100%. **Conclusions:** The results obtained are similar with those found by other investigators. ELISA test for strongyloidiasis is a useful tool for the diagnosis of clinical cases and for seroepidemiological studies of this nematode infection in Chile (Rev Méd Chile 2002; 130: 1358-64).
(**Key Words:** Enzyme linked immunosorbent assay; Nematode infections; *Strongyloides stercoralis*)

del Instituto de Salud Pública de Chile y por el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil.

¹Unidad de Parasitología Norte, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

²Laboratorio de Referencia de Parasitología, Instituto de Salud Pública de Chile.

³Instituto de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

⁴Unidad de Epidemiología, Servicio de Salud Metropolitano Sur.

⁵Departamento de Parasitología, Instituto de Biología, Universidad Estadual de Campinas, UNICAMP, Sao Paulo, Brasil.

⁶Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

¹Tecnólogo Médico, Magíster en Ciencias Biológicas.

²Tecnóloga Médica, Licenciada en Tecnología Médica.

³Tecnólogo Médico, Doctor en Ciencias.

⁴Médico Veterinario, Magíster en Salud Pública.

⁵Graduada en Ciencias Biológicas, Magíster en Inmunología y Parasitología.

⁶Biomédica, Doctor en Inmunología.

⁷Graduada en Historia Natural, Doctor en Parasitología.

Strongyloides stercoralis es un nematodo parásito aguzado que mide entre 2 y 2,8 mm de largo y cuyo hábitat es el intestino delgado del hombre. Habitualmente, la strongyloidiasis - que es una parasitosis de amplia distribución geográfica- en individuos inmunocompetentes se presenta como una infección asintomática o con diarrea moderada, pudiendo hacerse crónica. En pacientes inmunocomprometidos (especialmente los tratados con corticoides o infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana) se ha descrito un cuadro diseminado, a veces fatal^{1,2}.

A diferencia de otras enteroparasitosis humanas, no se ha podido determinar la epidemiología de la strongyloidiasis, en individuos inmunocompetentes ni en inmunocomprometidos, debido principalmente a la carencia de exámenes parasitológicos de laboratorio sensibles y simples. Una estimación del número de infectados en países tropicales y subtropicales es 35 millones, siendo la quinta frecuencia entre las helmintiasis humanas³. En Chile, se han descrito casos aislados y brotes en instituciones, especialmente en hospitales de enfermos mentales, incluyendo un caso mortal^{2,4-8}.

El hombre se infecta por la penetración de la larva filariforme de *S stercoralis* a través de la piel. En el intestino delgado la hembra (no hay machos parásitos) elimina huevos larvados, desde donde eclosionan larvas rabditoides. Estas larvas pueden pasar a ser filariformes (infectantes) en muy corto tiempo, pudiendo producirse nuevas infecciones a partir de su penetración por la mucosa intestinal (autoinfección endógena) o por la piel perineal (autoinfección exógena), explicándose así la cronicidad de la parasitosis⁹.

El diagnóstico de laboratorio de la infección se puede hacer cuando se observan larvas rabditoides de *S stercoralis* en muestras de deposiciones. Los métodos de elección son los que permiten recuperar larvas vivas como los de Rugai, Baermann o de cultivos en papel filtro (Harada-Mori) o en placas de agar y cuyo rendimiento en la detección de la parasitosis varía entre 30 y 60% cuando se estudia una muestra de deposiciones, pudiendo aumentar la sensibilidad al procesar muestras seriadas¹⁰⁻¹⁴. En Chile, estos métodos de laboratorio no han sido utilizados, ya que la pesquisa de los enteroparásitos habitualmente se realiza a partir de muestras fecales preservadas en formol. Dicha condición no permite practicar técnicas de cultivo o de recuperación de larvas vivas. Los métodos de laboratorio

basados en la concentración por centrifugación de los elementos parasitarios, tales como el de Telemann modificado, son de bajo rendimiento en la detección de larvas de nematodos en muestras fecales (40-55%)¹². Por otra parte, las infecciones por *S stercoralis* inducen una respuesta inmune que se puede evidenciar por una eosinofilia sanguínea elevada y la presencia de anticuerpos séricos específicos^{10,15}. La detección de anticuerpos anti *S stercoralis* mediante ELISA ha demostrado ser muy útil para el diagnóstico de la infección en el hombre y para estudios seroepidemiológicos^{1,3,15}.

Especies de *Strongyloides*, como *S ratti* y *S venezuelensis* que infectan a roedores y se pueden mantener en ratas de laboratorio, se han empleado para preparar extractos proteicos de larvas filariformes, los que han sido utilizados como antígeno en ELISA para detectar anticuerpos específicos en sueros humanos^{3,10,15,16}.

En el presente estudio damos a conocer, por primera vez en Chile, la estandarización de una prueba ELISA para el diagnóstico de la strongyloidiasis humana. Esta herramienta de laboratorio permitirá contribuir al estudio de casos clínicos de la parasitosis así como a la determinación de la situación epidemiológica de la infección en nuestro país.

MATERIAL Y MÉTODO

Sueros: Los positivos se obtuvieron a partir de un estudio efectuado en 20 pacientes de un hospital psiquiátrico de Santiago que presentaban eosinofilia sanguínea elevada. En cuatro de ellos, a los que se adicionaron posteriormente dos más, se detectaron larvas de *S stercoralis* en sus deposiciones. En cuatro sueros de estos pacientes se efectuó ELISA e inmunofluorescencia indirecta en el Laboratorio de Parasitología de la Universidad Federal de Uberlandia, Minas Gerais, Brasil, siendo ésta la primera vez que se detectan anticuerpos anti-*S stercoralis* en chilenos⁸. Durante el curso del presente trabajo se recolectaron otros cuatro sueros positivos, correspondientes a tres niños y un adulto, que integraban dos grupos familiares constituidos por seis chilenos y cuatro personas peruanas, respectivamente. En dichos pacientes, se había detectado larvas rabditoides de *S stercoralis* en sus deposiciones, con estos cuatro pacientes se obtuvo un total de 10 sueros de individuos infectados por *S stercoralis*.

Como controles negativos se estudiaron 66 sueros de pacientes que presentaban otras helmintiasis: determinadas por la presencia de anticuerpos séricos específicos, 24 toxocariasis y 15 triquinosis, 11 con hidatidosis, con observación del parásito durante intervención quirúrgica, 12 con fascioliasis, con detección de huevos del parásito y 4 cisticercosis, con observación del parásito, en tres mediante estudios imagenológicos y uno durante intervención quirúrgica. También se estudiaron 13 sueros de pacientes con enfermedades autoinmunes, tres de los cuales tenían títulos > 1:160 para factor reumatoideo. Además, fueron procesados 49 sueros de individuos aparentemente sanos que concurrieron a un centro médico de Santiago a efectuarse estudio de perfil bioquímico y hemograma, y que presentaban un recuento de eosinófilos dentro de límites normales. Todas las muestras de sueros se mantienen congeladas a -20°C en las serotecas de la Unidad de Parasitología Norte (ICBM), Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y del Laboratorio de Referencia de Parasitología del Instituto de Salud Pública de Chile.

Antígeno: Se preparó un extracto proteico alcalino de larvas filariformes de *S venezuelensis*. El extracto se hizo usando 100.000 larvas que se adicionaron a 1 ml de

NaOH 0,15 M y se mantuvieron a 4°C en agitación constante por 6 h, enseguida, se neutralizaron hasta pH 7,0 con HCl 0,3 M y posteriormente se centrifugaron a 10.000 rpm a 4°C. En el sobrenadante del extracto se determinó la concentración de las proteínas mediante el método de Bradford¹⁷ y luego, se conservó a -20°C hasta su uso. Cepas de *S. venezuelensis* se mantienen en *Rattus norvegicus* (Wistar), efectuando infecciones estandarizadas subcutáneas en ratas machos de 20-30 días de vida, cada 15 días en el Departamento de Parasitología, Instituto de Biología, Universidad Estadual de Campinas, Sao Paulo, Brasil por uno de nosotros (MTU).

ELISA: Para su montaje se determinó la concentración óptima del antígeno, dilución del suero y del conjugado de anti inmunoglobulinas humanas IgG mediante el método de titulación descrito por Voller et al¹⁸. El ensayo fue efectuado en placas o tiras de pocillos desechables de poliestireno (Immulon 2, Dynatech). El antígeno fue diluido hasta la concentración óptima usando *buffer* carbonato pH 9,6 y se sensibilizaron los pocillos por 16 h a 4°C. Después de lavarlos tres veces (lavador automático Dynatech, solución de lavado con NaCl 0,85% y Tween-20 0,05%) se bloquearon con solución de leche descremada al 3% en *buffer* fosfato salino pH 7,2. Se incubaron a temperatura ambiente durante 1 h. Se lavaron y se mantuvieron congeladas hasta su uso. Las determinaciones se realizaron usando 50 µl, tanto de suero diluido como de conjugado y se incubaron a 37°C durante 1 h, en cada caso. Se utilizó un conjugado de fosfatasa alcalina y anti-IgG humana y su respectivo sustrato (SIGMA Chem Co). Las placas o tiras se incubaron en cámara oscura a temperatura ambiente por 30 min, deteniéndose la reacción enzimática mediante NaOH 3 N. La densidad óptica (DO) de las soluciones de los pocillos se leyó en un espectrofotómetro de microplacas EL 340 (*Biotek Instruments*) a 405 nm. Todas las determinaciones se realizaron en duplicado.

RESULTADOS

La menor absorción inespecífica de conjugado de inmunoglobulinas anti-IgG, la dilución óptima de los sueros y la concentración adecuada de proteínas del antígeno se obtuvieron con las siguientes concentraciones: 1/3.500, 1/200 y 5 µg/pocillo, respectivamente. Al efectuar ELISA, así estandarizada, a los sueros controles negativos se obtuvieron valores de DO que variaron entre 0,07 y 0,25 para los considerados con otras helmintiasis o con patologías autoinmunes y entre 0,13 y 0,30 para los individuos aparentemente sanos. En cambio, los sueros de pacientes con strongyloidiasis parasitológicamente confirmada mostraron valores de DO que variaron entre 0,29 y 0,88 ([Tabla 1](#)). Los valores extremos y promedios de DO de los cuatro grupos de sueros estudiados se presentan en la [Figura 1](#). Se puede apreciar que el promedio de DO de los sueros de los infectados por *S. stercoralis* fue aproximadamente tres veces superior a los valores promedios de los sueros de controles negativos. La diferencia de positividad de la ELISA observada entre el grupo de infectados por *S. stercoralis* y los grupos controles fue significativa ($p < 0,01$) a la prueba de Chi cuadrado calculada mediante EPI Info 6,0.

Tabla 1. Valores de rangos y promedios de ELISA para *S stercoralis* en sueros de pacientes con strongyloidiasis, otras helmintiasis, enfermedad autoinmune y aparentemente sanos

Condición	n	Valores de DO	
		rango	promedio
Strongyloidiasis	10	0,29-0,88	0,56*
Toxocariasis	24	0,10-0,25	0,15
Triquinosis	15	0,09-0,20	0,16
Hidatidosis	11	0,11-0,25	0,15
Fascioliasis	12	0,12-0,24	0,18
Cisticercosis	4	0,13-0,16	0,15
Enfermedad autoinmune	13	0,07-0,20	0,11
Aparentemente sanos	49	0,13-0,30	0,19

* (p <0,01).

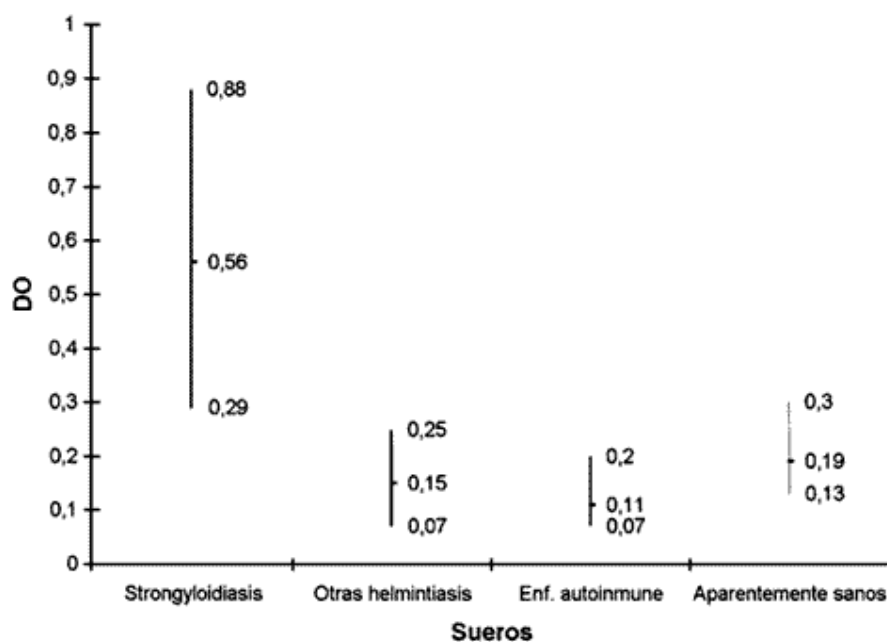


Figura 1. Valores extremos y promedios de DO de ELISA para strongyloidiasis en Chile.

El promedio de DO de todos los sueros considerados controles negativos fue 0,17 y la desviación estándar (DE) de la serie 0,04. El valor de corte o *cut-off* de 0,33 obtenido sumando cuatro DE al promedio de los controles negativos hizo que la prueba mostrara una sensibilidad de 90% y una especificidad y valores predictivos positivos y negativos de 100%, calculados sobre la base de la muestra de sueros estudiada, ya que no se ha determinado aún la prevalencia de la parasitosis en Chile ([Tabla 2](#)).

Tabla 2. Sensibilidad (S), especificidad (E) y valores predictivos positivos (VP+) y negativos (VP-) expresados en porcentajes, de ELISA para strongyloidiasis en Chile.

Valor de corte (cut off)	S	E	VP+	VP-
0,25*	100	97,7	76,9	100
0,29**	90,0	99,2	90,0	99,2
0,33***	90,0	100	100	100

*+2 DE, **+3 DE, ***+4 DE.

DISCUSIÓN

La determinación de anticuerpos anti-*S stercoralis* mediante ELISA IgG en individuos con strongyloidiasis parasitológicamente confirmada fue claramente establecida en nuestro ensayo estandarizado. Los pacientes que eliminaron larvas de *S stercoralis* en sus deposiciones presentaron reacciones positivas con un promedio de DO aproximadamente tres veces superior a las de los individuos que se consideraron que no tenían la condición de estar infectados por el parásito. Estudios efectuados en diversos países empleando antígenos de larvas filariformes de la especie *S stercoralis* y de otras especies, especialmente las que infectan a múridos como *S ratti* han mostrado una sensibilidad de ELISA para strongyloidiasis humana que varía entre 64,3 y 100% [1,10,11,16,19](#). Más recientemente, se describió ELISA con antígeno de larvas filariformes de *S venezuelensis* cuyo protocolo de preparación es similar al que utilizamos en el presente estudio. Esta prueba diagnostica eficazmente individuos infectados por *S stercoralis*, ya que sueros de infectados reconocen con alta sensibilidad y especificidad antígenos de diferentes cepas o lineajes de *S venezuelensis*, mostrando identidad antigénica en extractos de ambas especies [20](#).

La especificidad reportada para ELISA para strongyloidiasis varía entre 82 y 100% [1,11,12](#). En el presente trabajo, usando un valor de corte de 0,33, obtenido al adicionar cuatro DE al promedio de DO de los sueros de individuos con otra condición distinta a la strongyloidiasis, la especificidad fue de 100%. Usualmente, el valor de corte se calcula adicionando al promedio dos DE. Con este índice, la especificidad de ELISA strongyloidiasis disminuyó a 97,7% y simultáneamente la sensibilidad ascendió a 100% ([Tabla 2](#)). La adición de DE al promedio de los sueros controles negativos aumenta significativamente la especificidad del ensayo. Sin embargo, simultáneamente puede afectar su sensibilidad, tal como se apreció en el presente estudio. Las DO obtenidas con los sueros que presentaron anticuerpos contra otros helmintos o enfermedades autoinmunes no mostraron reacciones cruzadas de magnitud que pudieran dar valores superiores al valor de corte de 0,33. Por esto, la prueba de ELISA para strongyloidiasis en Chile sería de gran valor diagnóstico. En otros estudios se ha observado que ELISA para strongyloidiasis puede presentar reacciones cruzadas principalmente en individuos con filariasis [16,21](#), dicha parasitosis no ha sido descrita en el hombre en Chile.

Los valores predictivos positivos y negativos determinados sobre la base de la muestra de sueros estudiada fueron 100%. En Chile, no se ha establecido hasta la fecha cuál es la situación epidemiológica de las infecciones por *S stercoralis* debido principalmente a su aparente baja frecuencia y a la carencia de técnicas de laboratorio eficaces para la

detección de la parasitosis. Sin embargo, se han descrito casos de strongyloidiasis en un hospital psiquiátrico de la V región (incluyendo un caso mortal)^{2,6,7} y más recientemente en la Región Metropolitana⁸, además de infecciones aisladas y un brote en un centro de recuperación nutricional de Arica, I Región de Chile^{4,5}.

De acuerdo a nuestros resultados, ELISA sería una herramienta muy útil para la detección de la strongyloidiasis humana en Chile. Este ensayo podría usarse en conjunto con exámenes de diagnóstico parasitológico directo, especialmente en aquellos casos que presenten eosinofilia sanguínea elevada. La strongyloidiasis debe considerarse entre las causas de esta alteración hematológica en pacientes chilenos o inmigrantes.

El control de las infecciones por *S. stercoralis* implica necesariamente el conocimiento previo de la epidemiología de la parasitosis, para lo que la técnica de ELISA sería una herramienta simple que permitiría determinar parámetros descriptivos (seroepidemiología) y cuál es la población bajo riesgo de ser infectada -especialmente individuos inmunodeprimidos y pacientes internados en hospitales psiquiátricos-, a la cual deben dirigirse con mayor énfasis las medidas de profilaxis, de acuerdo al criterio de la Organización Mundial de la Salud²².

REFERENCIAS

- Schaffel R, Nucci M, Carvalho E, Braga M, Almeida L, Portugal R, Pulcheri W. 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* 2001; 65: 346-50.
[[Medline](#)]
- Oddo D, Duarte J. Síndrome de malabsorción por *Strongyloides stercoralis*. Caso de autopsia. *Rev Méd Chile* 1983; 111: 443-6.
- Costa-Cruz JM, Machado ER, Campos DMB. Seroepidemiological study of human strongyloidiasis with blood samples collected on filter paper, in Abadia dos Dourados (Minas Gerais, Brazil). *Rev Inst Med trop S Paulo* 1998; 40: 1-6.
- Palma J, Oñate C. Nuevos antecedentes sobre strongyloidiasis humana en Arica. *Parasitol al Día* 1992; 16: 62-4.
- Palma J. Brote de strongyloidiasis humana en un centro de recuperación nutricional de Arica, I Región de Chile. *Rev Chil Tecnol Med* 1992; 15: 721-3.
- Cornejo J, Arias B, Subiabre V, Quijada M, Schenone H. Estudio epidemiológico de protozoosis y helmintiasis en 490 pacientes crónicos del hospital psiquiátrico de Putaendo, IV Región de Chile. *Bol Chil Parasitol* 1985; 40: 91-3.
[[Medline](#)] [[Lilacs](#)]
- Garibaldi R, Muñoz N, Neira P, Subercaseaux B, Villalón L. Entero y ectoparásitos en la V región de Chile. Estudio en el hospital psiquiátrico de Putaendo. *Bol Chil Parasitol* 1990; 45: 83-5.
[[Medline](#)] [[Lilacs](#)]
- Mercado R, Jercic MI, Ueta MT. Infecciones por *Strongyloides stercoralis* en Chile. *Bol Chil Parasitol* 2001; 57: 72-5.
[[Lilacs](#)] [[SciELO Chile](#)]
- Beaver PC, Jung RC. *Animal agents and vectors of human disease*. 5th edition. USA: Lea & Febiger, 1985; 155-9.
- Barbosa Campos DM, Ferreira MS. Estronavlidiase. En: Cimerman S. Cimerman B ed.

Parasitologia Humana e seus fundamentos gerais. Sao Paulo, Brasil: Ed. Atheneu; 1999; 287-96.

11. Uparanukraw P, Phongsri S, Morakote N. Fluctuations of larval excretion in strongyloides stercoralis infection. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60: 967-73.

[[Medline](#)]

12. Conway DJ, Lindo JF, Robinson RD, Bundy DAP. Towards effective control of Strongyloides stercoralis. *Parasitology Today* 1995; 11: 420-4.

13. Genta RM, Walzer PD. Strongyloidiasis. En: Walzer PD, Genta RM ed. *Parasitic Infections in the Compromised Host*. Nueva York: Marcel Dekker, Inc. 1989; 463-525.

14. Dreyer G, Fernández-Silva 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: 2569-71.

15. Lindo JF, Atkins NS, Lee MG, Robinson RD, Bundy DAP. Short report: Long-term serum antibody isotype responses to Strongyloides stercoralis filariform antigens in eight patients treated with ivermectin. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55: 474-6.

[[Medline](#)]

16. Gam AA, Neva FA, Krotoski WA. Comparative sensitivity and specificity of ELISA and IHA for serodiagnosis of strongyloidiasis with larval antigens. *Am J Trop Med* 1987; 37: 157-61.

17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-54.

[[Medline](#)]

18. Voller A, Barlett A, Bidwell DE. Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *J Clin Pathol* 1978; 31: 507-20.

[[Medline](#)]

19. Neva FA, Gam AA, Burke J. Comparison of larval antigens in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for strongyloidiasis in humans. *J Infect Dis* 1981; 144: 427-32.

[[Medline](#)]

20. Machado ER, Lourenco EV, Oliveira JBA, Goncalves MRF, Ueta MT, Costa-Cruz JM, Roque-Barreira MC et al. Avaliacao da reatividade cruzada entre linhagens de Strongyloides venezuelensis e Strongyloides stercoralis. *J Bras Patologia* 2001; 37 (Suplemento): 102.

21. Conway DJ, Atkins NS, Lillywhite JE, Bailey JW, Robinson RD, Lindo JF, Bundy DAP. Immunodiagnosis of Strongyloides stercoralis infection: a method for increasing the specificity of the indirect ELISA. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; 87: 173-6.

[[Medline](#)]

22. Organización Mundial de la Salud. *Prevención y control de infecciones parasitarias intestinales*. Serie de informes técnicos 749. OMS, 1987. pp. 74.

Correspondencia a: Rubén Mercado. Unidad de Parasitología Norte, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Casilla 9183, Santiago, Chile. Email: rmercado@machi.med.uchile.cl

CAPÍTULO II

Parasitología latinoamericana
ISSN 0717-7712 versión on-line

Parasitol Latinoam 58: 173 - 176, 2003 FLAP

COMUNICACIÓN

Infecciones por protozoos y helmintos intestinales en

pre-escolares y escolares de la Comuna de Colina,

Santiago, Chile. 2003

RUBEN MERCADO^{*}, DOUGLAS CASTILLO^{*}, VÍCTOR MUÑOZ^{*},
LEA SANDOVAL^{*}, MARÍA ISABEL JERICÓ^{**}, LUIS CARLOS GIL^{***},
MARLENE T. UETA^{****} y HUGO SCHENONE^{*}.

INTESTINAL PROTOZOA AND HELMINTH INFECTIONS IN PRE-SCHOOL AND
ELEMENTARY SCHOOL-CHILDREN FROM COLINA COUNTY, SANTIAGO, CHILE,
2003

*In may 2003 an epidemiologic-parasitological survey was carried out in 206 pre-school and school-children from San Vicente de Lo Arcaya School in Colina, a semi-rural county of the Santiago Province in the Metropolitan Region of Chile. The most frequent parasitic elements were: **Blastocystis hominis** - in men and women respectively - 38.8% and 44.4%, **Giardia intestinalis** with 9.5% and 16.2% and **Enterobius vermicularis** with 12.9% and 10.0%. It is noteworthy that the infected children were asymptomatic **Cryptosporidium parvum** was not observed and an ELISA test for **Strongyloides stercoralis** infections was positive in one children. This study confirms that intestinal parasitic infections in children remain with a high prevalence in Chile.*

Key words: Survey, Human enteroparasites, Protozoan, Helminth, Chile.

INTRODUCCIÓN

Colina es una comuna semirural localizada en el extremo noreste de la Región Metropolitana de Chile. El área geográfica abarca 955 km² e incluye principalmente terrenos agrícolas. La población escolar pre-básica y básica que asiste a establecimientos educacionales municipalizados de Colina al año 2003 es de 971 y 5.533 escolares respectivamente, con un total de 6.504. La mayor parte de la población (70%) reside en una zona urbana central, densamente poblada. En Colina existen 13 escuelas de enseñanza pre-básica y básica. Entre éstas se encuentra la Escuela San Vicente de Lo Arcaya que está ubicada en el extremo sur de la comuna y su matrícula la constituyen 292 niños. Según la Organización Mundial de la Salud, las poblaciones infantiles en edad escolar son más vulnerables a los agentes infecciosos, entre ellos los parasitarios. v su adecuado desarrollo está condicionado por la contaminación

del medio ambiente y la seguridad de los alimentos que consumen¹. Debido a que las enteroparasitosis son frecuentes, especialmente en la población infantil y a que están estrechamente ligadas a las condiciones de vida de las comunidades, especialmente de bajo nivel socio-económico, inadecuado saneamiento básico ambiental y condiciones geoclimáticas (suelos y humedad), se realizó el presente estudio que abarcó a la mayoría de la población escolar del referido establecimiento. Por otra parte, en Chile hay carencia de información epidemiológica actualizada acerca de las enteroparasitosis, ya que son escasas las publicaciones al respecto²⁻⁴.

La finalidad de este estudio es aportar nuevos antecedentes acerca del parasitismo intestinal de los niños de una comuna semirural de Chile, que permita actualizar las estadísticas epidemiológicas en este grupo etéreo de la población.

MATERIAL Y MÉTODO

En mayo del 2003 se practicaron exámenes parasitológicos a 206 niños (116 hombres, 90 mujeres) que asistían a la Escuela San Vicente de Lo Arcaya de la Comuna de Colina. Las edades oscilaban entre 4 y 14 años.

Todos los niños que participaron en el estudio eran aparentemente sanos y habían concurrido habitualmente a la escuela durante la semana anterior a la realización del estudio.

Los padres de los niños asistieron a una charla informativa, después de la cual dieron su consentimiento por escrito para que sus hijos participaran en el estudio.

De cada niño se obtuvo una muestra de deposiciones la que se depositó en frascos plásticos que contenían 15 ml de formol-sal. Además, se tomó de la región perianal una muestra con una cinta adhesiva transparente para el diagnóstico de infecciones por *Enterobius vermicularis*⁵. También se tomó a cada niño una muestra de sangre por punción digital, la que se depositó en papel filtro para la búsqueda de anticuerpos anti *Strongyloides stercoralis*.

En el laboratorio cada muestra de deposiciones se procesó por el método de Telemann modificado para pesquisar quistes de protozoos y huevos de helmintos⁶. Para la detección de *Cryptosporidium parvum* se prepararon extendidos de cada sedimento de las muestras de heces en portaobjetos, los que fueron teñidos con aureamina y observados en un microscopio de luz UV⁷. La búsqueda de anticuerpos anti *S. stercoralis* se efectuó mediante ELISA Ig G de acuerdo a lo descrito previamente⁸.

Se calculó la significación estadística de las diferencias de frecuencias de infección mediante el estadígrafo Chi cuadrado de EPIINFO 6.0.

RESULTADOS

Al momento de efectuar la encuesta se pudo observar que 115 de los 206 niños presentaron parásitos y/o comensales intestinales en los exámenes practicados, un 55,8% del total.

En la [Tabla 1](#) se presentan los resultados observados en los niños agrupándolos

en dos grupos etáreos: pre-escolares (4 < 6 años) y escolares (> 6 -14 años). Con relación a los parásitos intestinales la mayor prevalencia correspondió a las infecciones por el protozoo *Blastocystis hominis*, con un 41,3%. De los protozoos comensales *Entamoeba coli* fue la especie más frecuentemente hallada con un 17,0%. Las frecuencias de infección observadas en los escolares para *B. hominis*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica/dispar* y *E. vermicularis* fueron mayores que las encontradas en los pre-escolares, destacando las producidas por *B. hominis* cuyas diferencias fueron significativas ($p < 0,01$).

En la [Tabla 2](#) se muestran las frecuencias de infección por protozoos y helmintos, de acuerdo al sexo de los niños. Las diferencias observadas en los porcentajes de infección según las especies encontradas no fueron estadísticamente significativas.

C. parvum no fue encontrado en los niños estudiados. Mediante ELISA Ig G se detectó un caso positivo para *S. stercoralis*.

Tabla 1. Frecuencia de infección por protozoos y helmintos intestinales en pre-escolares y escolares de Colina, según grupos de edades

Especies	Grupos de edades (años)				Total	
	4 < 6 (41)		>6 – 15 (165)		(206)	
	n	%	n	%	n	%
<i>Blastocystis hominis</i>	7	17,1	78	47,3*	85	41,3
<i>Entamoeba coli</i>	7	17,1	28	17,0	35	17,0
<i>Giardia intestinalis</i>	4	9,8	22	13,3	26	12,6
<i>Endolimax nana</i>	4	9,8	15	9,1	19	9,2
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1	2,4	7	4,2	8	3,9
<i>Iodamoeba buetschlii</i>	0	0,0	2	1,2	2	1,0
<i>Chilomastix mesnili</i>	0	0,0	1	0,6	1	0,5
<i>Enterobius vermicularis</i>	3	7,3	21	12,7	24	11,7

* $p < 0,01$

Tabla 2. Frecuencia de infección por protozoos y helmintos intestinales en pre-escolares y escolares de la comuna de Colina, según sexo

Especies	Mujeres (90)		Hombres (116)	
	n	%	n	%
<i>Blastocystis hominis</i>	40	44,4	45	38,8
<i>Entamoeba coli</i>	18	20,0	17	14,7
<i>Giardia intestinalis</i>	15	16,7	11	9,5
<i>Endolimax nana</i>	7	7,8	12	10,3
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	3	3,3	5	4,3
<i>Iodamoeba buetschlii</i>	1	1,1	1	0,9
<i>Chilomastix mesnili</i>	0	0,0		0,9
<i>Enterobius vermicularis</i>	9	10,0	15	12,9

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que las enteroparasitosis continúan siendo de elevada frecuencia en la población pre-escolar y escolar de Chile. Destaca como el parásito más frecuentemente hallado el *B. hominis* con una prevalencia

global de 41,3% y de 47,3% en los escolares. Este índice se mantiene en el tiempo y es similar al encontrado en 1989 para escolares de Santiago (51,8%)², al observado en 1993 en escolares rurales de la isla grande de Chiloé (62,3%)³ y al encontrado en 1997 en escolares de sectores ribereños en Valdivia (50,1%)⁴. Con relación a dicho protozoo se ha podido recientemente describir una forma quística similar a la de otros protozoos intestinales, lo que explicaría que su transmisión se produzca por ingestión de aguas contaminadas con deposiciones humanas o de frutas y verduras que crecen a ras del suelo y que fueron regadas con dichas aguas. Por otra parte, la patogenicidad de *B. hominis* se mantiene sin definir⁹. Este estudio fue realizado en niños aparentemente sanos que al momento de la investigación no presentaban manifestaciones digestivas.

La presencia de otros parásitos y comensales intestinales en los exámenes procesados como *E. coli* y *E. nana* muestran claramente que la población infantil de la región central de Chile esta constantemente expuesta a adquirir infecciones intestinales mediante mecanismos que impliquen contaminación con heces humanas de los alimentos o aguas de bebida.

En niños pre-escolares y escolares de Colina, *E. vermicularis* se observó con una frecuencia global de infección de 11,7%. En escolares de Santiago aparentemente sanos se encontró este nematodo en el 39,9% en 1989² y en escolares de la isla grande de Chiloé en el 20,1%³. Por otra parte, en escolares del sector norte de la ciudad de Santiago que concurrieron a consultorios ambulatorios y les fue solicitado un examen de Graham para pesquisa de *E. vermicularis* se encontró una frecuencia de 35,2%¹⁰. Aunque en el presente estudio se observó comparativamente una menor frecuencia de infección por *E. vermicularis* que la reportada en los escolares en publicaciones previas, es posible explicar esta diferencia por que se usó sólo una toma de muestras para detectar el parásito, por razones de logística del proceso de muestreo. En los otros estudios mencionados para detectar huevos de *E. vermicularis* se han usado tres o cinco cintas adhesivas tomadas en tres o cinco días consecutivos, lo que aumenta ampliamente la probabilidad de diagnosticar la parasitosis¹¹.

C. parvum no fue encontrado en niños pre-escolares y escolares lo que corrobora anteriores estudios realizados para detectar este protozoo en diversas ciudades del país. En Chile, en individuos inmunocompetentes las infecciones por *C. parvum* afectan mayoritariamente a los lactantes y son escasas o nulas en personas de edades mayores¹².

Recientemente se introdujo en Chile la reacción de ELISA para el diagnóstico serológico de infecciones por *S. stercoralis*. Usando esta metodología se pudo detectar que uno de los escolares presentaba una reacción positiva. El estudio etiológico de esta infección se debe complementar con la búsqueda de larvas del parásito en exámenes de deposiciones, así como la presencia de eosinofilia sanguínea. ELISA para *S. stercoralis* es una prueba altamente específica y sensible que contribuirá significativamente al conocimiento de la epidemiología de esta enteroparasitosis⁸.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, las infecciones intestinales por parásitos intestinales de los pre-escolares y escolares continúan

siendo de elevada frecuencia en Chile.

RESUMEN

En mayo de 2003 se efectuó una encuesta epidemio-parasitológica en pre-escolares y escolares de la Escuela San Vicente de Lo Arcaya de Colina, comuna semirural de la Provincia de Santiago ubicada en la Región Metropolitana de Chile. Hay que destacar que los niños estudiados eran asintomáticos.

Los elementos parasitarios más frecuentemente encontrados fueron:

Blastocystis hominis - en hombre y mujeres respectivamente - 38,8% y 44,4%, *Giardia intestinalis* con 9,5% y 16,2% y *Enterobius vermicularis* con 12,9% y 10,0%.

Cryptosporidium parvum no fue encontrado y ELISA para *Strongyloides stercoralis* resultó positiva en un niño.

REFERENCIAS

- 1.- WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Assembly. Resolution WHA 54. 19. 2001.
- 2.- MERCADO R, ARAVENA A, ARIAS B et al. Frecuencia de infección por enteroparásitos en escolares de Santiago de Chile 1988-1989. Bol Chil Parasitol 1989; 44: 89-91.
- 3.- MEJIAS G. Intestinal parasite infections in rural students of Chiloé archipelago, X Region, Chile. Bol Chil Parasitol 1993, 48: 28-9.
[[Medline](#)]
- 4.- TORRES P, OTTH P, MONTEFUSCO A et al. Infecciones por protozoos y helmintos intestinales en escolares de sectores ribereños, con distinto nivel de contaminación fecal, del río Valdivia, Chile. Bol Chil Parasitol 1997; 52: 3-11.
- 5.- GRAHAM DF. A device for the diagnosis of *Enterobius vermicularis* infection. Am J Trop Hyg 1941; 21: 150-1.
- 6.- DOREN G, GALDAMES M, SILVA R. Algunas consideraciones sobre el rendimiento de las técnicas de diagnóstico de enteroparásitos. Bol Chil Parasitol 1958; 13: 42-4.
- 7.- BAXBY D, BLUNDELL N, HART C. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. J Hyg 1984; 93: 317-23.
- 8.- MERCADO R, JERCIC MI, TORRES P et al. Immunodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infections in Chile using an ELISA test. Rev Méd Chile 2002; 130: 1358-64.
- 9.- TAN KS, SINH M, YAP EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spot in terra incognita. Int J Parasitol 2002; 15: 789-804.
- 10.- MERCADO R, GARCIA M. Various epidemiological aspects of *Enterobius vermicularis* infections in inpatients served at outpatient clinics and hospitals from the north section of Santiago, Chile. Bol Chil Parasitol 1996; 51: 91-4.
[[Medline](#)]
- 11.- SCHENONE H, ARIAS B, GALDAMES M et al. Rendimiento de los exámenes seriados en el diagnóstico de laboratorio de la infección por *Enterobius vermicularis*. Bol Chil Parasitol 1970; 25: 102-17.
- 12.- MERCADO R. Epidemiological and diagnostic aspects of human criptosporidiasis in Chile. Bol Chil Parasitol 1992; 47: 30-2.

Agradecimientos: Al Sr. Juan Baldeig Z. Director de Educación de la Corporación Municipal de Desarrollo Social de Colina, a la Directora Sra. María Eugenia Andaur A., profesores y administrativas de la Escuela San Vicente de Lo Arcaya por su valiosa colaboración para realizar este estudio.

* Unidad de Parasitología Básico-Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

** Laboratorio de Referencia de Parasitología, Instituto de Salud Pública de Chile.

*** Servicio de Gastroenterología, Hospital Clínico José Joaquín Aguirre, Universidad de Chile.

**** Departamento de Parasitología, Instituto de Biología, UNICAMP, Campinas, Sao Paulo, Brasil.

Email: rmercado@machi.med.uchile.cl

© 2004 ***Sociedad Chilena de Parasitología. Organo Oficial de la Federación Latinoamericana de Parasitólogos***

**Casilla 9183
Santiago 1, Chile
Fax: 56-2-5416840**



halcaino@uchile.cl

CAPÍTULO III

Aceito para publicação na Revista de Saúde Pública, S. Paulo, 2004

**Exposition for acquiring larva migrans syndromes in squares and public parks in
13 cities of Chile (2001-2002)**

**Exposição para adquirir síndromes de larva migrans em praças e parques públicos
de 13 cidades do Chile (2001-2002)**

**Rubén Mercado^a, Marlene T. Ueta^b, Douglas Castillo^a, Victor Muñoz^a and Hugo
Schenone^a.**

*^aBasic and Clinical Unit of Parasitology, Institute for Biomedical Sciences (ICBM),
Faculty of Medicine, University of Chile. ^bDepartment of Parasitology, Institute of
Biology, State University of Campinas (UNICAMP), Sao Paulo, Brazil.*

Correspondência para/Correspondence to:

Rubén Mercado

ICBM. Facultad de Medicina

Universidad de Chile

Casilla 9183 Santiago

Chile

Fax: 56-2-7356579. Email: rmercado@med.uchile.cl

Descritores: *Toxocara canis*. Toxocariasis. *Strongyloides stercoralis*. Strongyloidiasis.
Síndrome de larva migrans.

Keywords: *Toxocara canis*. Toxocariasis. *Strongyloides stercoralis*. Strongyloidiasis.
Larva migrans syndrome.

Resumo

Entre novembro 2001 e dezembro 2002, 600 amostras de fezes de cão foram coletadas nas principais praças e parques públicos de 13 cidades do Chile, localizadas nas regiões norte ao extremo sul da nação. No laboratório, as amostras foram processadas mediante os métodos de sedimentação por centrifugação e de Harada-Mori. Ovos de *Toxocara canis* foram encontrados em 12 cidades em frequências que variaram entre 1,9 a 12,5% por cidade, com média de 5,2%. Sete por cento das amostras apresentaram ovos e 9,5% larvas rabditóides ou filarióides de Ancylostomatidae. *Strongyloides stercoralis* não foi encontrado nas amostras estudadas. Praças e parques públicos do Chile apresentam riscos potenciais para aquisição de larva migrans visceral, ocular ou cutânea.

Abstract

In November 2001- December 2002, 600 dog fecal samples were collected in main squares and public parkS in 13 citieS in Chile, from the extreme North to the extreme South of the country and processed in the laboratory by the Centrifugal Sedimentation and the Harada – Mori methods. T. canis eggs were found in 12 cities. The rates of detection ranged from 1.9 to 12.5% with an average of 5.2%. Seven percent of the Samples had eggs and 9.5% had rhabditoid and/or filariform larvae of Ancylostomatidae. Strongyloides stercoralis were not found. Squares and public parks in Chile have potential risk of acquiring visceral, ocular and/or cutaneous larva migrans Syndromes.

Larva migrans syndrome is mainly caused by the ingestion of larval eggs or the skin penetration of larvae proceeding from intestinal nematodes of dogs and cats. *Toxocara canis* is the heading causative agent of visceral larva migrans (VLM) and ocular larva migrans (OLM). Cutaneous larva migrans (CLM) is principally produced by Ancylostomatidae larvae and larvae of *Strongyloides stercoralis*, also originated in dogs, can cause cutaneous lesions in humans. Clinical pictures of VLM and OLM vary from asymptomatic infections to severe liver, lung or eye involvement (Beaver & Jung¹,1985).

In Chile (15,200,000 inhabitants) domestic canine population is 1 per 7 people. The biogeographical conditions of Chile range from the arid desert northern regions, passing trough the moderate climate and agricultural central regions up to the cold last three regions. These climatic differences may affect the transmission of the zoonotic diseases to man.

The finding of *T. canis* eggs spread by dogs is an indicator of the risk of acquiring VLM or OLM in a determinate biogeographical place (Mizgajka,⁴1995).

The aim of the present study is to establish -- throughout public recreational green areas in cities of Chile -- risk of acquiring VLM, OLM and CLM and the roll of dogs in the transmission of *S. stercoralis* to man.

From November 2001 to December 2002 dog fecal samples were collected from 13 cities in Chile (Arica, Antofagasta, Illapel, Viña del Mar, Valparaíso, San Felipe, Santiago, Rancagua, San Fernando, Concepción, Temuco, Valdivia and Punta Arenas), involving nearly all of the country territory. In each city dog fecal samples were collected directly from the grass of the main squares or other public green areas. All

feces collected were considered as derived from dogs because those are the only quadruped domestic animals frequently observed defecating in urban public places of cities in Chile. The minimum sample size to be collected ($n = 27$) in each city was determined according to a previous study and this objective was widely achieved in most of the cities. At the laboratory each sample was processed by the Centrifugal Sedimentation and the Harada-Mori (H-M) methods (Beaver & Jung,¹1985). Statistical significance of figures was determined using Chi-squares of EPIINFO 6.0 program.

A total of 126 (21.0%) of samples processed by the centrifugal sedimentation method and 72 (12.0%) by the H-M method presented eggs or larvae of intestinal helminths respectively.

The number and percentage of positive samples corresponding to species, genera or families of intestinal helminths detected by means of the observation of eggs in 600 samples processed by the centrifugal sedimentation method, were as follow: *T. canis* 31 (5.2%), *T. leonina* 9 (1.5%), *Dipylidium caninum* 2 (0.3%), *Trichuris* sp. 31 (5.2%), *Ascaris* sp. 1 (0.2%), Ancylostomatidae 42 (7.0%) and Taenidae 10 (1.7%).

In Figure 1 it shows the localization of the cities surveyed and the frequency of samples with *T. canis* eggs per city: Arica (2/50) 4.0%, Antofagasta (1/50) 2.0%, Illapel (5/50) 10.0%, Viña de Mar (0/27), Valparaíso (5/40) 12.5%, San Felipe (3/44) 6.8%, Santiago (1/54) 1.9%, Rancagua (2/27) 7.4%, San Fernando (4/50) 8.0%, Concepción (3/49) 6.1%, Temuco (2/50) 4.0%, Valdivia (2/50) 4.0% and Punta Arenas (1/54) 1.9%.

Ancylostomatidae larvae detected by the H-M method per cities were: Arica(1/50) 2.0%, Antofagasta (0/50), Illapel (4/55) 7.2%, Valparaiso (4/40) 10.0%, Viña del Mar (0/27), San Felipe (0/44), Santiago (0/54), Rancagua (2/27) 7.4%, San

Fernando (12/50) 24.0%, Concepción (4/49) 8.2%, Temuco (20/50) 40%, Valdivia (10/50) 20% and Punta Arenas (0/54).

The frequency of samples with Ancylostomatidae larvae detected in cities from the half north of the country (Arica, Antofagasta, Illapel, Viña del Mar, Valparaíso, San Felipe, Santiago) versus the half south (Rancagua, San Fernando, Concepción, Temuco, Valdivia, Punta Arenas) were as follow: 9/320 (2.8%) and 48/280 (17.1%) respectively. The cities from the southern region presented a higher frequency of Ancylostomatidae larvae ($p < 0.01$).

S. stercoralis larvae were not observed in the fecal samples examined.

In all the 13 studied cities, with the exception of Viña del Mar, eggs of *T. canis* were found in 1.9 to 12.5%, with an average of 5.2%. These findings show that *T. canis* is widely distributed in all the country. In playgrounds in Campo Grande, Mato Grosso do Sul (Brazil), eggs of *T. canis* were found in 10.8% of the samples examined (De Araujo et al², 1999).

The biogeographical characteristics -- basically temperate temperature and humid soils -- of the southern half could facilitate the transmission of Ancylostomatidae infection within the dogs. On the contrary, the rainless weather of the northern extreme of the country contributes to diminish the presence of this parasite. In Campo Grande (Brazil) eggs of Ancylostomatidae were detected in the 56.8% of the samples studied (De Araujo et al², 1999).

Human strains of *S. stercoralis* can infect dogs and epidemiological observations suggest that the dog strains can infect humans (Grove & Northern³, 1982). The absence of *S. stercoralis* larvae in the examined samples and in studies of autopsied dogs (Oberg

et al⁵, 1979) suggest that recreational areas do not play an important role in the transmission of strongyloidiasis to humans in Chile.

T. canis and Ancylostomatidae eggs contaminate extensively recreational areas (squares and public parks) of the studied Chilean cities, being a potential risk factor for acquiring the VLM, OLM and CLM in persons that circulate in these playgrounds.

Control measures for dog zoonotic nematodiasis must be implemented in Chile to avoid the risk of acquire VLM, OLM and/or CLM in playgrounds throughout the country.

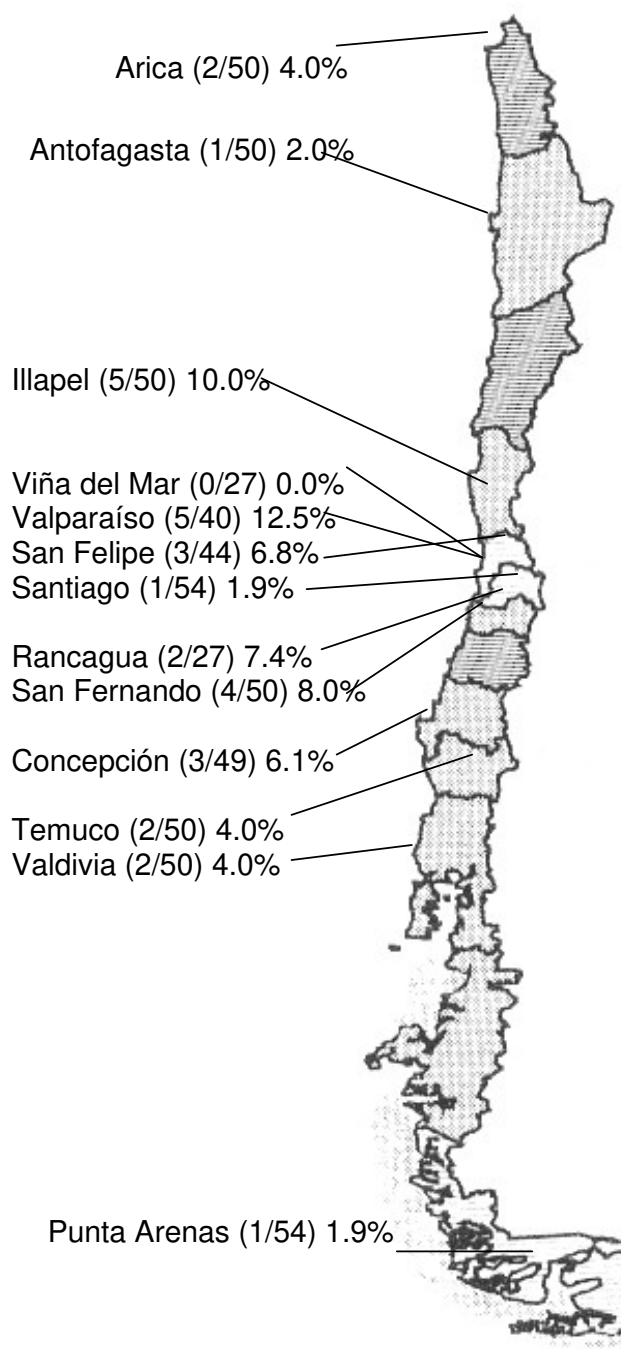
REFERENCES

1. Beaver PC, Jung RC. Animal agents and vectors of human diseases. 5th Edition. Lea Febiger. Phil. USA. 1985.
2. De Araujo FB, Crocci AJ, Rodriguez RGC, Avalhaes I, Miyoshi MI, Salgado FP. Contamination of public squares of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil, by eggs of *Toxocara* and *Ancylostoma* in dogs feces. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32: 581 – 583.
3. Grove DI, Northern C. Infection and immunity in dogs infected with human strain of *Strongyloides stercoralis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1982; 76: 833 – 838.
4. Mizgajska H. *Toxocara* spp. eggs in soil of public and private places in the Poznan area of Poland. *Acta Parasitologica* 1995; 40: 211 – 213.
5. Oberg C, Franjola R, Leyán V. Helminths of the domestic dog (*Canis familiaris*) in Valdivia City, Chile. *Bol Chil Parasitol* 1979; 34: 21 – 26.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr Jorge González (Parasitology Unit, Universidad de Antofagasta; Chile) and María Isabel Jercic (Parasitology Reference Laboratory, Instituto de Salud Pública de Chile) for their kind laboratory support and assistance.

Figure 1. Map of Chile showing the 13 cities surveyed for transmissible instars of intestinal nematodes of dogs to man. Figures are (positive samples/examined samples) and % of *T. canis* detected.



CAPÍTULO IV

Seroepidemiology of human *Strongyloides stercoralis* infections in Chile.**Rubén Mercado¹, Maria Isabel Jercic² and Marlene T. Ueta³.**¹Unidad de Parasitología Básico-Clínica, ICBM, Facultad de Medicina,
Universidad de Chile.²Laboratorio de Referencia de Parasitología, Instituto de Salud Pública de Chile.³Departamento de Parasitología, Instituto de Biología, Universidad Estadual de
Campinas, UNICAMP, Sao Paulo, Brasil.

The intestinal infection caused by the nematode *Strongyloides stercoralis* is especially endemic throughout tropical and warm temperate regions of the world (Genta, 1989). In industrialized countries intestinal parasitic infections that include strongyloidiasis still represent a clinical-epidemiological problem focalized in institutions for the mentally ill patients (Grove, 1996; Gatti *et al.*, 2000). Scarce epidemiological information about strongyloidiasis in Latin-American countries is available. Recent epidemiological studies of strongyloidiasis in selected studied populations of Brazil, Colombia and Venezuela were 13.0%, 2.3% and 1.4% respectively (Machado and Costa-Cruz, 1998; Gallego *et al.*, 2003; Devera *et al.*, 2003). In Chile, in 1983, a mortal case of disseminated strongyloidiasis in a hospitalized psychiatric 53 years-old man was reported (Oddo and Duarte, 1983). Enteroparasitic infections surveys carried out by studying fecal samples with the formol-ether technique in psychiatric hospitalized patients of the V geopolitics region of Chile in 1985 and

1990 showed percentages of *S. stercoralis* infections of 16.6 (57/490) and 7 (16/229) respectively (Cornejo *et al.*, 1985; Garibaldi *et al.*, 1990). In 2000, in a psychiatric hospital of Santiago, Chile it was observed that 20 patients presented elevated blood eosinophiles count. Coproparasitological examination of seven stools samples of each patient permits the detection of larvae of *S. stercoralis* in four of them (Mercado *et al.*, 2001).

The laboratory diagnosis of strongyloidiasis with commonly used stool examination methods such as formol-ether techniques – routinely used in Chile -- is considered of low sensitivity, so the identification of *S. stercoralis* infected individuals has been difficult by using coproparasitological methods (Conway *et al.*, 1995). Immunodiagnosis of *S. stercoralis* infection has been attempted by using several serological test. ELISA test permits the detection of serum IgG against protein antigenic extracts of the filariform larvae (Atkins *et al.*, 1999) and can be used as an epidemiological tool to determine the prevalence of strongyloidiasis in a given region or population (Sato *et al.*, 1995). Recently, we standardized in Chile an ELISA test to detect *S. stercoralis* serum antibodies against an alkaline protein extract of the filariform larvae of *S. venezuelensis* (Mercado *et al.*, 2002). The objective of this research is to determine the seroprevalence of *S. stercoralis* infections in two psychiatric institutions of Chile, including the total population of the interned patients and the health personnel of the referred institution. Also we determine the percentage of positive ELISA test in blood donors of three different geographical regions of Chile: north, central and south to compare the frequency of *S. stercoralis* infections between hospitalized patients with those of apparently normally individuals. Statistical

significance of frequency values observed was determined by using the program STATCALC of EPIINFO 6.0.

In 2001, in hospital 1 (from the V geopolitical region) blood samples were taken to 342 patients. According to sex 230 (67.2%) were men and 112 (32.8%) women. Health personnel (physicians, nurses and paramedical individuals) studied was 95. In 2003, in hospital 2 (from Santiago, Metropolitan region) 332 bloods samples were taken, 224 from men (67.5%) and 108 from women (32.5%) psychiatric patients. Health personnel studied of this institution were 77. Between 2002-2003, serum samples of blood donors were obtained from the northern cities of Arica (n = 200) and from Antofagasta (n = 200), from the central region cities of Valparaiso (n = 100) and Santiago (n = 500) and from the semi-rural southern city of La Unión (n = 200).

ELISA test was performed as we previously described, using a cut-off value of 0.33 OD (Mercado *et al.*, 2002).

In the TABLE 1 is possible to observe that a total of 40 patients interned in the hospital 1 presented an ELISA positive test (11,7%). By sex, 7.1% of the women studied and 13.9% of the men were positive. This difference was statistically significant ($p < 0.05$). The most frequent age group affected was those of 21 to 39 year-old in both sexes. The health personnel did not presented any positive ELISA test. Similar results were observed with the studied patients and heaths personnel from the hospital 2 (TABLE 2). Total frequency of strongyloidiasis was 12.7%. By sex, 6.5% of women and 15.6% of men had an ELISA test positive. This difference was statistically significant ($p < 0.05$). Similar male gender frequency of strongyloidiasis was observed by Waltzer *et al.*, (1982). No positive ELISA test was observed in the health personnel. In blood donors a positive ELISA were observed in two serum samples in Arica city

(1.0%) and in one in La Unión city (0.5%). Frequency observed in a total of 1.200 serum samples was 0,25%.

Up to date, significant advances in the diagnosis, epidemiology and chemotherapy of *S. stercoralis* infections have been made, contributing for the control of the parasitose. In immunocompetent individuals most infections by *S. stercoralis* are chronic and asymptomatic, however, in some situations hyperinfection or disseminated infection has been found usually associated with host immunosuppression (Grove, 1996). Conway *et al.*, (1995) considered that there is a typically persistent infection by *S. stercoralis* over decades in a small fraction of the population of endemic regions. Preliminary results of the seroepidemiology of *S. stercoralis* infections in blood donors of different cities of Chile showed that the prevalence of antibodies was 0.25% (3/1.200), suggesting that strongyloidiasis frequency in Chile is very low and occurred in determinate geographic areas. Comparison of prevalence of 11.7-12.7% observed in hospitalized psychiatric patients ($p < 0.05$) and 0,25% in blood donors suggests that the transmission of *S. stercoralis* in Chile is facilitated in the closed environment of a psychiatric institution. Geophagy and coprophagy frequently observed among mentally affected or retarded patients probably play important roles in the acquisition and spread of the infection. Costa- Cruz *et al.*, (1998) alerted that strongyloidiasis is not only associated with barefoot walking of individuals but with handled soils with unprotected hands and drinking unfiltered waters. Studies performed by Cornejo *et al.*, (1985) and Garibaldi *et al.*, (1990) by using formalin-ether techniques to detect larvae of *S. stercoralis* in the same hospital showed frequencies of 11.6% (57/490) and 7.0% (16/229) respectively. These prevalence rates are similar to those determined by us by using ELISA.

S. stercoralis infections are difficult to control in closed institutions, maintaining high frequencies along at least 20 years. In this study of hospitalized mentally ill patients, we observed that ELISA test was a very useful tool to determining the seroepidemiology of infections by *S. stercoralis*, contributing to define the transmission patterns, which are valuable basic information to apply control measures, such as chemotherapy and improvement of sanitary conditions.

TABLE 1. Seroprevalence of *S. stercoralis* infections detected by means of ELISA in psychiatric patients from hospital 1 of the V geopolitical region of Chile.

Age groups (years)	Men No./positive (%)	Women No./positive (%)	Total No./positive (%)
21-29	20/5(25.0)	7/1(14.2)	27/6(22.2)
30-39	36/8(22.2)	26/4(15.4)	62/12(19.4)
40-49	54/7(13.0)	31/3(9.7)	85/10(11.8)
50-59	58/6(10.3)	21/0 (0.0)	79/6(7.6)
60-69	34/5(14.7)	11/0(0.0)	45/5(11.1)
70-79	25/1(4.0)	12/0(0.0)	37/1(2.7)
80-89	2/0(0.0)	3/0(0.0)	5/0(0.0)
>-90	2/0(0.0)	1/0(0.0)	3/0(0.0)
Total	230/32(13.9)	112/8(7.1)	342/40(11.7)

TABLE 2. Seroprevalence of *S. stercoralis* infections detected by means of ELISA in psychiatric patients from hospital 2 of Santiago, Metropolitan region of Chile.

Age groups (years)	Men No./positive (%)	Women No./positive (%)	Total No./positive (%)
21-29	11/1(9.1)	4/0(0.0)	15/1(6.7)
30-39	53/8(15.1)	21/0(0.0)	74/8(10.8)
40-49	68/9(13.2)	27/2(7.4)	95/11(11.6)
50-59	45/7(15.6)	19/1(5.3)	64/8(12.5)
60-69	24/4(16.7)	21/3(14.3)	43/7(16.3)
70-79	18/2(11.1)	12/1(8.3)	30/3(10.0)
80-89	4/3(75.0)	3/0(0.0)	7/0(0.0)
>-90	1/1(100.0)	1/0(0.0)	2/0(0.0)
Total	224/35(15.6)	108/7(6.5)	332/42(12.7)

Resumo

Entre os anos 2001-2003 foram coletadas amostras de sangue e soros de pacientes de dois hospitais psiquiátricos da região central de Chile e de 1200 doadores de sangue de cidades das regiões norte (Arica e Antofagasta), central (Valparaíso e Santiago) e sul (La Unión) para determinar a frequência de anticorpos anti *S. stercoralis* mediante Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Foram observadas frequências de 12,2 % em pacientes de hospitais psiquiátricos e 0,25% em doadores de sangue respectivamente. A diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0.05$). Entre os doadores de sangue foi encontrada ELISA positivo somente nas cidades de Arica (1,0%) e La Unión (0,5%), sugerindo que a strongiloidíase poderia estar localizada em determinadas áreas geograficas do país.

Estes resultados mostram que, no Chile, as infecções por *S. stercoralis* seriam endêmicas, de baixa frequência e afetando especialmente grupos de risco como os pacientes psiquiátricos.

Palavras chaves: *Strongyloides stercoralis*, strongyloidiasis, epidemiologia.

REFERENCES

- Atkins NS, Conway DJ, Lindo JF, Bailey JW & Bundy DAP. (1999). L3 antigen-specific antibody isotype responses in human strongyloidiasis: correlations with larval output. *Parasite Immunol*, **21**: 517-526.
- Conway DJ, Lindo JF, Robinson RD & Bundy DAP. (1995). Towards effective control of *Strongyloides stercoralis*. *Parasitol Today*, **11**: 420-424.
- Cornejo J, Arias B, Subiabre V, Quijada M, Schenone H. (1985). Estudio epidemiológico de protozoosis y helmintiasis intestinales en 490 pacientes crónicos del Hospital Psiquiatrico de Putaendo, V Región, Chile. *Bol Chil Parasitol*, **40**: 91-93.
- Costa-Cruz JM, Machado ER, Campos DMB. (1998). Seroepidemiological study of human strongyloidiasis with blood samples collected in filter paper, in Abadia dos Dourados (Minas Gerais, Brazil). *Rev Inst Med trop S Paulo*, **40**: 329-332.
- Devera R, Cermena JR, Blanco V, Morales MCB, Guerra X, de Sousa M, Maitan E. (2003). Prevalencia de blastocystosis y otros parasitos intestinales en una

- comunidad rural del estado de Anzoategui, Venezuela. *Parasitol Latinoam*, **58**: 95-100.
- Gallego ML, Gómez JE, Torres E, Lora F. (2003). Prevalencia de *Entamoeba histolytica* en asentamientos temporales post-terremoto de la ciudad de Armenia. *Infectio (Colombia)*, **7**: 190-194.
- Garibaldi R, Munoz N, Neira P, Subercaseaux B, Villalón L. (1990). Entero y ectoparasitos en la V Región, Chile. Estudio en el Hospital Psiquiátrico de Putaendo. *Bol Chil Parasitol*, **45**: 83-85.
- Gatti S, Lopes R, Cevini C, Ijaoba B, Bruno A, Bernuzzi AM, De Lio P, Monco, A & Scaglia M. (2000). Intestinal parasitic infections in an institution for the mentally retarded. *Ann Trop Med Parasitol*, **94**: 453-460.
- Genta RM. (1989). Global prevalence of strongyloidiasis: critical review with epidemiologic insights into the prevention of disseminated disease, *Rev Infect Dis* **11**: 755-767.
- Grove DI. (1996). Human strongyloidiasis. *Adv Parasitol*, **38**: 251-309.
- Machado ER, Costa-Cruz JM. (1998) *Strongyloides stercoralis* and other entroparasites in children at Uberlandia city, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **93**: 161-164.(1998)
- Mercado R, Jercic MI, Ueta MT. (2001). Infecciones por *Strongyloides stercoralis* en Chile. *Bol Chil Parasitol*, **57**: 72-75.
- Mercado R, Jercic MI, Torres P, Alcayaga S, Martins de Paula F, Costa-Cruz JM & Ueta MT. (2002). Inmunodiagnóstico de las infecciones por *Strongyloides stercoralis* en Chile usando la técnica de ELISA. *Rev Méd Chile*, **130**: 1358-1364.
- Oddo D & Duarte I. (1983). Síndrome de mala absorción por *Strongyloides stercoralis*. Caso de autopsia. *Rev Méd Chile*, **111**: 443-446.
- Sato Y, Kobayashi J, Shiroma Y. (1995). Serodiagnosis of strongyloidiasis. The application and significance. *Rev Inst Med trop Sao Paulo*, **37**: 35-41.
- Waltzer PD, Midler JE, Banwell JG, Kilgore G, Klein M, Parker R. (1982). Epidemiologic features of *Strongyloides stercoralis* infection in an endemic area of the United States. *Am J Trop Med Hyg*, **31**: 313-319.

CONCLUSÕES

1. Pela primeira vez foi padronizado, no Chile, o método imunossorológico para o diagnóstico laboratorial de infecções por *Strongyloides stercoralis*.
2. O estudo da soropidemiologia em escolares e doadores de sangue sugere que a estrogiloidíase, no Chile, é uma infecção endêmica, de baixa frequência.
3. Muito provavelmente não há participação de cães na transmissão da estrogiloidíase humana no Chile.
4. A constatação de ELISA positivo para estrogiloidíase em doadores de sangue de duas das cinco cidades de diferentes regiões geográficas do Chile sugere que a ocorrência da infecção poderia estar restrita a determinadas áreas.
5. A elevada frequência de anticorpos anti *S. stercoralis*, detectada mediante ELISA, em pacientes internos de dois hospitais psiquiátricos (48,8 vezes maior que a observada em doadores de sangue) sugere que certos recintos e hábitos da população favorecem a transmissão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaíno H, Tagle I. Estudio de enteroparasitosis en el perro en Santiago. Bol Chil Parasitol 25: 5-8, 1970.
- Arakaki T, Iwanaga M, Kinjo F, Saito A, Asato R, Ikeshiro T. Efficacy of agar-plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. J Parasitol 76: 425-428, 1990.
- Araujo FB, Crocci AJ, Rodriguez RGC, Avalhaes JS, Miyoshi MI, Salgado FP, da Silva MA, Pereira ML. Contaminação de pracas públicas de Campo grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, por ovos de *Toxocara* e *Ancylostoma* em fezes de cães. Rev Soc Bras Med Trop 32: 581-583, 1999.
- Ashford RW, Barnish G. *Strongyloides fulleborni* and similar parasites in animal and man. In: Strongyloidiasis: a mayor roundworm infection of man (DI Grove ed.) pp. 271-286. London: Taylor & Francis, 1989.
- Atkins NS, Conway DJ, Lindo JF, Bailey JW, Bundy DAP. (1999). L3 antigen-specific antibody isotype responses in human strongyloidiasis: correlations with larval output. Parasite Immunol, **21**: 517-526.
- Baermann G. Eine einfache methode zur auffindun von Ankylostomun (nematoden) larven in erdproben mededeel. Mit H Geneesk Lab Weltvreden Feestbundel Batavia, p 41-47, 1917.
- Bavay A. Sur l'anguillule stercorale. C R Acad Sci (Paris) 83: 694-696, 1876.
- Beaver PC, Jung RC. Animals agents and vectors of human disease. 5th edition. Lea & Febiger, Philadelphia, USA, pp. 155-159, 1985.
- Brannon MJC, Faust EC. Preparation and testing of a specific antigen for diagnosis of human strongyloidiasis. Am J Trop Med 29: 229-239, 1949.
- Chieffi PP, Chiatton Cs, Feltrim EN, Alves RCS, Paschoalotti MA. Coinfection by *Strongyloides stercoralis* in blood donors infected with human T cell

- leukemia/lymphoma virus type I in Sao Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 95: 711-712, 2000.
- Conway DJ, Atkins NS, Lillywhite JE, Bailey JW, Robinson RD, Lindo JF, Bundy DAP, Bianco AE. Immunodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection: a method for increasing the specificity of the indirect ELISA. Tran R Soc Trop Med Hyg 87: 173-176, 1993.
- Conway DJ, Lindo JF, Robinson RD, Bundy DAP. Towards effective control of *Strongyloides stercoralis*. Parasitol Today 11: 420-424, 1995.
- Cornejo J, Arias B, Subiabre V, Quijada M, Schenone H. Estudio epidemiológico de protozoosis y helmintiasis intestinales en 490 pacientes crónicos del Hospital Psiquiátrico de Putaendo, V Región, Chile. Bol Chil Parasitol 40: 91-93, 1985.
- Costa IN, Sopelete MC, Goncalves-Pires MRF, Costa-Cruz JM. IgA and IgG antibodies in paired serum and saliva samples in human strongyloidiasis. Acta Parasitol 48: 306-311, 2003.
- Costa-Cruz JM. *Strongyloides stercoralis*. Capítulo 32. Em: Neves DP. Parasitologia Humana. 10ª. Edição. Editora Atheneu, Brasil, 2000.
- Costa-Cruz JM, Bullamah CB, Goncalves-Pires MRF, Campos DMB, Vieira MA. Cryo-microtome sections of coproculture larvae of *Strongyloides stercoralis* and *S. ratti* antigen sources for the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. Rev Inst Med trop S Paulo 39: 313-317, 1997.
- Costa-Cruz JM, Machado ER, Campos DMB. Seroepidemiological study of human strongyloidiasis with blood samples collected in filter paper, in Abadia dos Dourados (Minas Gerais, Brazil). Rev Inst Med trop S Paulo 40: 329-332, 1998.
- Costa-Cruz JM, Madalena J, Silva DA, Sopelete MC, Campos DMB, Taketomi EA. Heterologous antigen extract in ELISA for the detection of human IgE anti-*Strongyloides stercoralis*. Rev Inst Med trop S Paulo 45:265-268, 2003.
- Dafalla AA. The indirect fluorescence antibody test for the diagnosis of strongyloidiasis. J Trop Med Hyg 75: 109-111, 1972.
- Davidson RA, Fletcher RH, Chapman LE. Risk factors for strongyloidiasis: a case control study. Arch Intern Med 144: 321-324, 1984.

- Devera R, Cermena JR, Blanco V, Morales MCB, Guerra X, de Sousa M, Maitan E. Prevalencia de blastocystosis y otros parásitos intestinales en una comunidad rural del estado de Anzoátegui, Venezuela. *Parasitol Latinoam* 58: 95-100, 2003.
- Donckaster R, Niedmann G, Correa F, Bertossi F, Sanchez Y, Rojo M. Un caso de strongyloidiasis intestinal. *Rev Méd Chile* 86: 257, 1958.
- Donckaster R, Faiguenbaum J. Dos casos de strongyloidiasis intestinal. Primer caso clínico autoctono. *Bol Chil Parasitol* 19: 25-30, 1964.
- Dorris M, Viney ME, Blaxter ML. Molecular phylogenetic analysis of the genus *Strongyloides* and related nematodes. *Int J Parasitol* 32:1507-1517, 2002 .
- Douce RW, Brown AE, Khamoonruang C, Waltzer Pd, Genta RM. Seroepidemiology of *Strongyloides* in a Thai village. *Int J Parasitol* 17: 1343-1348, 1987.
- Dreyer G, Fernández-Silva E, Alves S, Rocha A, Albuquerque R, Adiss D. Patterns of detection of *Strongyloides stercoralis* in stool specimens: implication for diagnosis and clinical trials. *J Clin Microbiol* 34: 2569-2571, 1996.
- Fernández W. Investigaciones etiologicas y epidemiologicas sobre anquilostomosis. Tesis Universidad de Chile. Imprenta Universitaria, Santiago, Chile. 1920.
- Gallego ML, Gómez JE, Torres E, Lora F. Prevalencia de *Entamoeba histolytica* en asentamientos temporales post-terremoto de la ciudad de Armenia. *Infectio (Colombia)* 7: 190-194, 2003.
- Gam AA, Neva FA, Krotoski WA. Comparative sensitivity and specificity of ELISA and IHA for serodiagnosis of strongyloidiasis with larval antigens. *Am J Trop Med Hyg* 37: 157-161, 1987.
- Garibaldi R, Munoz N, Neira P, Subercaseaux B, Villalón L. Enteró y ectoparásitos en la V Región , Chile. Estudio en el Hospital Psiquiátrico de Putaendo. *Bol Chil Parasitol* 45: 83-85, 1990.
- Genta RM, Frei DF, Linke MJ. Demonstration and partial characterization of parasite-specific IgA responses in human strongyloidiasis. *J Clin Microbiol* 25: 1505-1510, 1987.
- Genta RM, Lillibridge JP. Prominence of IgG4 antibodies in the human responses to *Strongyloides stercoralis* infection. *J Infect Dis* 160: 692- 699, 1989.

- Genta RM, Ottensen EA, Gam AA, Neva FA, Wittner M, Tanowitz HB, Waltzer PD. Cellular responses in human strongyloidiasis. *Am J trop Med Hyg* 32: 990-994, 1983.
- Georgi JR, Sprinkle CL. A case of human strongyloidiasis apparently contracted from asymptomatic colony of dogs. *Am J Trop Med Hyg* 23: 899-901, 1974.
- Gotuzzo E, Terashima A, Alvarez H, Tello R, Infante R, Watts DM, Feedman DO. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection associated with human T cell lymphotropic virus type I infection in Perú. *Am J Trop Med Hyg* 60: 146-149, 1999.
- Grove DI. Human strongyloidiasis. *Adv Parasitol* 38: 251-309, 1996.
- Grove DI, Blair AJ. Diagnosis of human strongyloidiasis by immunofluorescence, using *Strongyloides ratti* and *S. stercoralis* larvae. *Am J Trop Med Hyg* 30: 344-349, 1981.
- Grove DI, Northern C. Infection and immunity in dogs infected with a human strain of *Strongyloides stercoralis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 76: 833-838, 1982.
- Gyorkos TW, Genta RM, Viens P, McLean JD. Seroepidemiology of strongyloidiasis infection the Southern East Asian refugee population in Canada. *Am J Epidemiol* 132: 257-264, 1990.
- Harada T, Mori O. A new method for culturing hookworm. *Yonago Acta Med* 1: 177-179, 1955.
- Hummer D, Symon K, Groskopf, Pietrushka D, Kremer I, Schantz PM, Pitlik SD. Seroepidemiologic study of toxocariasis and strongyloidiasis in institutionalized mentally retarded patients. *Am J Trop Med Hyg* 46: 278-281, 1992.
- Igra-Siegmán Y, Kapila R, Sem P, Kaminsky ZC, Louria DB. Syndrome of hyperinfection with *Strongyloides stercoralis*. *Rev Infect Dis* 3: 397-407, 1981.
- Itoh N, Muraoka N, Aoki M, Itagaki T. Prevalence of *Strongyloides* spp. infections in household dogs. *Kasenshogaku Zasshi* 77: 430-435, 2003.
- Kannani SR, Rees PH. The diagnosis of strongyloidiasis with special reference to the value of the filarial complement fixation test as a screening test. *Trans R Soc trop Med Hyg* 64: 246-251, 1970.
- Keiser PB, Nutman TB. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. *Clin Microbiol Rev* 17: 208-217, 2004.

- Koga K, Kasuya S, Khamboonruang C, Sukhvat K, Ieda M, Takatsuda N, Kita K, Ohtomo H. A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. Am J Trop Med Hyg 45: 518-521, 1991.
- Lindo JF, Conway DJ, Atkins NS. Prospective evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot methods for the diagnosis of endemic *Strongyloides stercoralis* infection. Am J Trop Med Hyg 30: 344-349, 1994.
- Little MD. Comparative morphology of six species of *Strongyloides* (Nematoda) and redefinition of the genus. J Parasitol 52: 69-84, 1966a.
- Little MD. Seven new species of *Strongyloides* (Nematoda) from Louisiana. J Parasitol 52: 85-97, 1966b.
- Machado ER, Costa-Cruz JM. *Strongyloides stercoralis* and other enteroparasites in children at Uberlandia city, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 93: 161-164, 1998.
- Machado ER, Ueta MT, Goncalves-Pires MRF, Alves de Oliveira JB, Faccioli LH, Costa-Cruz JM. *Strongyloides venezuelensis* alkaline extract for the diagnosis of human strongyloidiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. Mem Inst Oswaldo Cruz 98:849-851, 2003.
- McRury J, de Messias IT, Waltzer PD, Huitger T, Genta RM. Specific IgE responses in human strongyloidiasis. Clin Exp Immunol 65: 631-638, 1986.
- Nakada K, Kohakura M, Komoda H, Hinuma Y. High incidence of HTLV antibody in carriers of *Strongyloides stercoralis*. Lancet i: 633, 1984.
- Neva FA, Gam AA, Burke J. Comparison of larval antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for strongyloidiasis in humans. J Infect Dis 144: 427-432, 1981.
- Oberg C, Franjola R, Leyán V. Helminths del perro doméstico en la ciudad de Valdivia, Chile. Bol Chil Parasitol 34: 21-26, 1979.
- Oddo D, Duarte I. Síndrome de mala absorción por *Strongyloides stercoralis*. Caso de autopsia. Rev Méd Chile 111: 443-446, 1983.
- Oliveira-Sequeira TC, Amarante AF, Ferrar TB, Nunes LC. Prevalence of parasites of dogs from São Paulo State, Brazil. Vet Parasitol 103: 19-27, 2002.
- Palma J, Onate C. Strongyloidiasis humana en Arica. Comunicación preliminar. Parasitol al Día 14: 45-46, 1990.

- Palma J. Brote de strongyloidiasis humana en un centro de recuperación nutricional de Arica, Chile. *Rev Chil Tecnol Méd* 15: 721-723, 1992.
- Paula FM, de Castro E, Goncalves-Pires MRF, Marcal MG, Campos DMB, Costa-Cruz JM. Parasitological and immunological diagnoses of strongyloidiasis in immunocompromised and non-immunocompromised children at Uberlandia State of Minas-Gerais, Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo*: 42: 51-55, 2000.
- Pelletier LL. Chronic strongyloidiasis in Word War II Far East ex – prisoner of war. *Am J Trop Med Hyg* 33: 55-61, 1984.
- Pires MI, Dreyer G. Revendo a importância do *Strongyloides stercoralis*. *Rev Hosp Clín Fac Med São Paulo* 48: 175-182, 1993.
- Porto MAF, Muniz A, Oliveira J, Carvalho EM. Implicações clínicas e imunológicas da associação entre o HTLV-1 e a strongiloidíase. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 641-649, 2002.
- Purtillo DT, Meyers WM, Connors DH. Fatal strongyloidiasis in immunosupressed patients. *Am J Med* 56: 488-493, 1974.
- Ramachandran S, Gam AA, Neva FA. Molecular differences between several species of *Strongyloides* and comparison of selected isolates of *S. stercoralis* using a polymerase chain reaction linked restriction fragment length polymorphism approach. *Am J Trop Med Hyg* 56: 61-65, 1997.
- Ravi V, Ramachandran S, Thompson RW, Andersen JF, Neva FA. Characterization of a recombinant immunodiagnostic antigen (NIE) from *Strongyloides stercoralis* L3-stage larvae. *Mol Biochem Parasitol* 125:73-81, 2002.
- Robinson RD, Lindo JF, Neva FA, Gam AA, Vogel P, Terry SI, Cooper ES. Immunoepidemiologic studies of *Strongyloides stercoralis* and human T lymphotropic studies type I infection in Jamaica. *J Infec Dis* 169: 692 – 696, 1994.
- Rodrigues RM, Sopelete MC, Silva DAO, Cunha JP, Taketomi EA, Costa-Cruz JM. *Strongyloides ratti* antigenic componets recognized by IgE antibodies in immunoblotting as an additional tool for improving the immunodiagnosis in human strongyloidiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 89-93, 2004.
- Rugai E, Mattos T, Brisola AP. Nova tecnica para isolar larvas de nematodeos das fezes. Modificação do método de Baermann. *Rev Inst Adolfo Lutz* 14: 5-8, 1954.

- Sato Y, Inonue F, Matsuyama R, Shiroma Y. Immunoblot analysis of antibodies in human strongyloidiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84: 403-406, 1990.
- Sato Y, Kobayashi J, Shiroma Y. Serodiagnosis of strongyloidiasis. The application and significance. *Rev Inst Med trop S Paulo* 37: 35-41, 1995a.
- Sato Y, Kobayashi J, Toma H, Shiroma Y. Efficacy of stool examination for detection of *Strongyloides* infection. *Am J Trop Med Hyg* 53: 248-250, 1995b.
- Sato Y, Shiroma Y. Peripheral lymphocyte subsets and their responsiveness in human strongyloidiasis. *Clin Immunol Immunopathol* 53: 430-438, 1989.
- Schaffel R, Nucci M, Carvalho E, Braga M, Almeida L, Portugal R, Pulcheri W. 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, 2001.
- Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clin Infect Dis* 33: 1040-1047, 2001.
- Silva LP, Barcelos ISC, Passo-Lima AB, Espindola FS, Campos DBM, Costa-Cruz JM. Western blotting using *Strongyloides ratti* antigen for the detection of IgG antibodies as confirmatory test in human strongyloidiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 687-691, 2003.
- Speare R. Identification of species of *Strongyloides*. In : Strongyloidiasis: A mayor roundworm infection of man (DI Grove, ed) pp. 11-83 London: Taylor & Francis, 1989.
- Torres P, Franjola R, Pérez J, Auad S, Hermosilla C, Flores L, Riquelme J, Salazar S, Miranda JC, Montefusco A. Geohelminths intestinales en el hombre y animales domésticos de sectores ribereños de la cuenca del río Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 50: 57-66, 1995.
- Traub RJ, Robetson ID, Irwin P, Mencke N, Thompson RCA. The role of dogs in transmission of gastrointestinal parasites in a remote tea growing community in northeastern India. *Am J Trop Med Hyg* 67: 539-545, 2002.
- Triboulet-Duret J, Triboulet J, Appriou M, Megraud RN. Application du test ELISA au diagnostic de la strongyloidose. *Ann Parasitol Hum Comp* 53: 641-648, 1978.
- Triboulet-Duret J, Triboulet J, Pautrizel R. Interet des tests d'allergie cutanée pour le diagnostic de la strongyloidose. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 69: 360-367, 1976.

- Ugochukwu EI, Ejimadu KN. Studies on the prevalence of gastro-intestinal helminths of dogs in Calabar, Nigeria. Int J Zoonoses 12: 214-218, 1985.
- Vieyra-Herrera G, Becerril-Carmona G, Padua-Gabriel A, Jessurum J, Alonso de Ruiz P. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in a patient with the acquired immunodeficient syndrome. Acta Cytologica 32: 277-278, 1988.