

Estudio de un amplio brote de triquinosis humana, mediante las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

RODRIGUEZ-OSORIO, M.*; GOMEZ-MORALES, M.^a A.*; GOMEZ-GARCIA, V.*; LOPEZ-CORTEZ, L.**; CUELLO-CONTRERAS, J.A.**; PACHON-DIAZ, J.**

(*) Instituto "López-Neyra" de Parasitología. Granada.

(**) Servicio de Medicina Interna. Hospital "Virgen del Rocío". Sevilla.

Summary

The results of the serological analyses of 258 symptomatic and 23 asymptomatic patients who were affected during what was probably the most substantial outbreak of trichinosis in our country have been studied.

The basic diagnostic technique employed was the indirect immunofluorescence test and the results were positive (significant titers $\geq 1:80$) in 89.5% of the symptomatic patients (even though only 3.8% of the titers were not reactive) and in 100% of the asymptomatic patients which thereby resulted in an overall sensitivity of 90.4%.

The ELISA-IgG tests came out positive in 97.2% of the symptomatic cases and in 100% of the asymptomatic cases so the sensitivity levels was 97.3%. Both techniques were in agreement 92.4% of the time.

The results of this study have confirmed the findings of other authors as far as verifying that indirect immunofluorescence and ELISA-IgG are excellent diagnostic tests for human trichinellosis.

Key Words: Human trichinellosis, diagnostic.

Resumen

En el presente estudio se analizan los resultados serológicos de un brote de triquinosis, quizás el más amplio ocurrido en nuestro país en cuanto a número de afectados se refiere: 258 pacientes sintomáticos y 23 asintomáticos.

Como técnica básica de diagnóstico se ha utilizado la inmunofluorescencia indirecta (IFI), resultando positiva (título significativo $\geq 1:80$) en el 89.5% de los pacientes sintomáticos (aunque solamente al 3.8% fueron no reactivos) y en el 100% de los asintomáticos. La sensibilidad global fue por tanto del 90.4%.

La técnica ELISA-IgG resultó positiva en el 97.2% de los casos sintomáticos y en el 100% de los asintomáticos, obteniéndose una sensibilidad del 97.3%. La concordancia entre ambas técnicas fue del 92.4%.

Los resultados obtenidos de este estudio confirman los de otros autores en el sentido de que tanto la IFI como la ELISA-IgG son excelentes pruebas para el diagnóstico de la triquinosis humana.

Palabras Clave: Triquinosis humana, diagnóstico.

Introducción

La demostración de larvas de *T. spiralis*, junto con signos inflamatorios por biopsia muscular, es el método de confirmación parasitológica en la triquinosis; sin embargo, tiene

dos inconvenientes: 1) el ser una técnica cruenta y 2) tener una escasa sensibilidad (Most⁸ y Au y col.¹). Ello ha hecho que sea desplazada por pruebas serológicas, aceptándose que en pacientes con claro vínculo epidemiológico, clínica compatible, eosinofi-

lia y serología positiva, el diagnóstico es tan probable que la biopsia muscular no es necesaria para su confirmación (Grove y col.³).

En la actualidad son múltiples las técnicas serológicas disponibles para el diagnóstico de la triquinosis (Grove y col.³, Kagan⁴, Kagan y Quist⁵, Van Knapen y col.¹⁶). Una de las primeras ensayadas fue la prueba de la floculación de la bentonita, con una buena sensibilidad. Posteriormente se han introducido otras técnicas como la inmunofluorescencia indirecta (IFI), por Sadun y col.¹², y el inmunoensayo (ELISA), por Ruitenberg y col.¹¹, de una gran sensibilidad y especificidad.

A finales de 1982 y comienzos de 1983 ocurrió en nuestro país un brote de triquinosis, de escasa intensidad clínica, que afectó a las provincias de Badajoz, Sevilla, Huelva, Cádiz y Madrid. La fuente de infestación procedía de productos cárnicos de una charcinería de Monesterio (Badajoz). Tuvimos la oportunidad de estudiar a 281 pacientes de Sevilla, que seguimos durante 2-3 meses, realizándose determinaciones de anticuerpos en 271 por IFI y en 185 por ELISA. En este trabajo damos a conocer los resultados obtenidos con ambas técnicas, así como su evolución a lo largo del seguimiento realizado.

Material y Métodos

Pacientes estudiados

Tras el seguimiento de 472 personas que presentaban vínculo epidemiológico y clínica compatible, durante la atención inicial del citado brote en el área de Urgencias de nuestro Hospital, se llegó al diagnóstico firme de triquinosis en 258 pacientes sintomáticos y 23 asintomáticos, en función de los siguientes criterios:

1) Presentación de todos o algunos de los siguientes síntomas: fiebre, afectación facial, mialgias, eosinofilia y elevación de los enzimas musculares.

2) Inmunofluorescencia indirecta (IFI), exigiendo títulos $\geq 1:80$.

Después del primer contacto, la mayoría de los pacientes fueron vistos una media de tres ocasiones, a intervalos de unas tres semanas. En cada ocasión se registraron las manifestaciones clínicas y se realizaron diversos estudios complementarios: frecuencia de los distintos síntomas, eosinofilia, elevación de los enzimas musculares y en 13 casos sintomáticos biopsia muscular con aguja.

A fin de unificar los parámetros analizados en función del tiempo y dado que la atención inicial y las sucesivas visitas, no se practicaron en periodos fijos de la enfermedad, a los pacientes los clasificamos en distintos grupos de acuerdo con el tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la toma de la muestra: A₁ (1º-7º día), A₂ (8º-14º día), A₃ (15º-29º día), A₄ (30º-60º día) y A₅ (determinaciones realizadas después del 60º día).

ELISA-IgG e IFI

Mediante IFI se estudiaron 248 pacientes del grupo de los sintomáticos y los 23 asintomáticos y mediante ELISA-IgG, 167 y 18 casos respectivamente. Las determinaciones se realizaron en el Instituto "López-Neyra" de Parasitología del C.S.I.C., la IFI siguiendo la técnica de Sadun y col.¹² y la ELISA-IgG la de Ruitenberg y col.¹¹. En IFI consideramos como títulos diagnósticos los $\geq 1:80$; para ELISA determinamos el valor límite de positividad, sumando a la media de las densidades ópticas (DO), obtenidas de 30 sueros de donantes diluidos al 1:2, el producto de la desviación estándar por 2.57. Este valor límite resultó ser de DO = 0,60.

Resultados

1.—Determinación de anticuerpos frente a *T. spiralis* mediante IFI

A) Pacientes sintomáticos: mediante esta técnica se han estudiado 248 pacientes con los siguientes resultados: 26 casos (10'5%) presentaron títulos inferiores al 1:80 persistentemente (10 (4%) no reactivos y 16 (6'4%) entre 1:20 y 1:40); 22 casos (89'5%) tuvieron

títulos 1:80, de ellos en 23 sólo se dispuso de una muestra con títulos entre 1:80 y 1:5,120, el resto poseían dos o más muestras, en las que se apreciaba seroconversión evidente de 2 o más diluciones o títulos elevados persistentemente.

B) Pacientes asintomáticos: en los 23 casos existieron título $\geq 1:80$ ya que esto fue un requisito para su inclusión en este grupo.

Del total de los pacientes examinados, 271, en 245 fueron detectados anticuerpos a título diagnóstico, lo que supone un 90'4% de positividad.

Al objeto de determinar la efectividad de la prueba en las distintas etapas de la infestación, hemos agrupado los resultados de la totalidad de las determinaciones reali-

zadas, según los periodos cronológicos adoptados (Tabla 1).

2.—Determinación de anticuerpos frente a *T. spiralis* mediante ELISA-IgG

A) Pacientes sintomáticos: se han estudiado con esta técnica un total de 167 pacientes, de ellos 5 (3%) no mostraron títulos significativos, el resto 162 (97%) alcanzaron títulos comprendidos entre 1:4 y 1:128.

B) Pacientes asintomáticos: se estudiaron 18 casos superando todos ellos el 1:4.

Teniendo en cuenta el total de pacientes, 185, 180 fueron positivos cifra que representa un 97'3% de positividad.

Los resultados de los distintos periodos cronológicos están anotados en la Tabla 2.

Tabla 1

Título de I.F.I. frente a *T. spiralis* en cada período cronológico (pacientes sintomáticos)

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	
n	30	85	145	203	57	n = 520
n.r.	60.0% (18)	21.1% (18)	20.6% (30)	10.3% (21)	21.1% (12)	n = 99
1/20-1/40	26.7% (8)	23.5% (20)	14.4% (21)	5.9% (12)	3.5% (2)	n = 63
$\geq 1/80$	13.2% (4)	55.2% (47)	65.0% (94)	83.7% (170)	75.4% (43)	n = 358

n.r. = no reactivos.

Tabla 2

Títulos de E.L.I.S.A.-IgG frente a *T. spiralis* en cada período cronológico (pacientes sintomáticos)

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	
n	23	78	104	203	57	n = 465
n.r.	73.9% (17)	33.3% (26)	24.0% (25)	3.0% (6)	50% (29)	n = 103
1/2	4.3% (1)	15.3% (12)	13.4% (14)	1.5% (3)	— (0)	n = 30
1/4	21.7% (5)	51.2% (40)	62.5% (65)	95.4% (194)	50% (28)	n = 332

n.r. = no reactivos

3.—Comparación de los resultados obtenidos con IFI y ELISA-IgG

Con ambas técnicas hemos estudiado un total de 185 pacientes. Los resultados obtenidos están señalados en la Tabla 3.

Tabla 3

Resultados comparativos en 185 pacientes

IFI + y ELISA +	...	166 (89.7%)
IFI - y ELISA -	...	5 (2.7%)
IFI - y ELISA +	...	14 (7.5%)
Total concordancias: 171 pacientes (92.4%)		

Discusión

En el presente trabajo, hemos realizado un estudio comparativo de las dos técnicas más utilizadas en la actualidad en el diagnóstico de la triquinosis humana. La razón fundamental que nos ha llevado a ello ha sido, que todos los trabajos realizados hasta ahora descansan en un número reducido de pacientes y nosotros disponíamos de un número amplio para su estudio.

Como técnica básica de diagnóstico se viene utilizando la inmunofluorescencia indirecta (IFI) frente a larvas de *T. spiralis*. Fue descrita por Sadun y col.¹², encontrando un 97% de positividad en 142 sujetos con clínica florida de triquinosis y positividad fuertes con otras pruebas serológicas. Posteriormente ha sido empleada por numerosos autores (Scholtens y col.¹³; Kozar y col.⁶; Ruitenber y col.¹⁰; Kozar y Kozar⁷, etc.) con resultados comparables. La técnica ELISA la describieron Ruitenber y col.¹¹ estableciéndola como el método más sensible, alcanzando con ella positividad del 100%. Stumpf y col.¹⁴, consideran a estas dos pruebas, junto con la microprecipitación de larvas, como las más sensibles y específicas.

En nuestra casuística hemos obtenido un total de positividad del 90.4% con la

IFI y del 97.3% con ELISA. Estos porcentajes son ligeramente inferiores a los obtenidos por otros autores, debido muy probablemente a que los límites de positividad que hemos adoptado son algo superiores (Choreda y col.² y Van Knapen y col.¹⁵).

En las Tablas 1 y 2 están representados los resultados obtenidos para cada período cronológico. Podemos observar como el porcentaje de positividad va aumentando progresivamente hasta alcanzar su punto máximo durante el período A₄ (entre el 30 y 60 días de la enfermedad). En las fases iniciales el número de casos positivos fue bajo. La precocidad de detección de anticuerpos está en relación con la intensidad de la infestación. En infestaciones intensas, serológicamente es posible detectar los anticuerpos en la primera semana de la enfermedad, sin embargo, en infestaciones moderadas o leves la detección es más tardía. El brote epidémico que hemos estudiado lo consideramos de intensidad moderada por las siguientes razones: 1) no hubo ninguna muerte, 2) no se detectaron complicaciones viscerales significativas, 3) las biopsias practicadas a 13 pacientes sintomáticos, con eosinofilia y elevación de los enzimas musculares, revelaron una media de 17 larvas por gramo y 4) hemos comprobado, en sujetos que habían ingerido carne triquinosa y con pruebas serológicas a títulos no significativos, la existencia de sustancias antigénicas en el suero, lo que demuestra la presencia del parásito y una débil estimulación del sistema inmune. El hecho de ser éste un brote epidémico de moderada intensidad, explica muy bien los resultados en los distintos períodos cronológicos.

La concordancia entre ambas pruebas ha sido buena, de un total de 185 pacientes estudiados con las dos técnicas en 171 hubo resultados concordantes (Tabla 3). Esta cifra representa un 92.4%.

Como resumen, podemos decir que nuestros resultados confirman los de otros autores en el sentido de tanto la IFI como la ELISA son dos excelentes pruebas para el diagnóstico de la triquinosis humana.

Referencias

1. Au, A.C.S.; Ko, R.C.; Simon, J.W.; Ridell, N.J.; Wong, W.T.; Templer, M.J.—Study of acute trichinosis in Gurkas: specificity and sensitivity of enzyme-linked immunosorbent assays for IgM and IgE antibodies to *Trichinella spiralis*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 77, 1983, 412-415.
2. Choreda, K.; Jarczewska, K.; Zeromski, J.—Specific antibody levels in indirect IFT in patients with trichinellosis history. *Abstracts Fourth International Conference on trichinellosis*. Poznan (Poland), 1976, 57.
3. Grove, D.I.; Warren, K.S.; Mahmoud, A.A.F.—Algorithms in the diagnosis and management of exotic diseases. *Trichinosis*. *J. Inf. Dis.*, 132, 1975, 485-488.
4. Kagan, I.G.—Trichinosis: a review of biologic, serologic and immunologic aspects. *J. Inf. Dis.*, 107, 1960, 65-93.
5. Kagan, I.; Quist, K.D.—An evaluation of five serologic tests for the diagnosis of trichinosis in light infected swine. In: *Srivastava Commemoration volume*. Ed. K. S. Sing and B.K. Tandam. Indian Veterinary Research Institute., 1980, 271-277.
6. Kozar, Z.; Karmanska, K.; Kozar, M.—Indirect fluorescent test with isolated *Trichinella spiralis* larvae. *Wiad. Parazytol.*, 12, 1966, 637-642.
7. Kozar, Z.; Kozar, M.—Dynamic and persistence of antibodies in trichinellosis. *Wiad. Parazytol.*, 14, 1968, 171-185.
8. Most, H.—Trichinosis. Preventable yet still with us. *N. Engl. J. Med.*, 298, 1978, 1.178-1.180.
9. Patterson, R.; Roberts, M.; Slonka, G.; Mc Anich, J.—Studies of immunoglobulins, bentonite flocculation and IgE, IgG and IgM antibodies in serum from patients with trichinosis. *Am. J. Med.*, 58, 1975, 787-793.

10. Ruitenber, E.J.; Kampelmacher, E.H.; Berkvens, J.—Die indirecte fluoresieren de Antikörpertechnik bei der serodagnostik von mit trichinen (*Trichinella spiralis*) infizierten Schweinen. *Die Fleischwirtschaft*, 47, 1967, 1.112-1.220.
11. Ruitenber, E.J.; Sterenberg, P.A.; Brosi, B.J.; Buys, J.—Serodiagnosis of *Trichinella spiralis* infections in pigs by enzyme-linked immunosorbent assay. *Bull. Wild. Health Org.*, 51, 1974, 108-109.
12. Sadun, E.H.; Andersson, R.I.; Williams, J.S.—Fluorescent antibody test for the serological diagnosis of trichinosis. *Exp. Parasitol.*, 12, 1962, 423-433.
13. Scholtens, R.G.; Kagan, I.G.; Quist, K.D.; Norman, L.G.—An evaluation of tests for the diagnosis of trichinosis in swine. An associated quantitative epidemiologic observation. *Am. J. Epidemiol.*, 83, 1966, 489-500.
14. Stumpf, J.; Undeutsch, K.; Landgraf, H.—Results of the clinical and serological diagnosis of an epidemic of *Trichinella spiralis*. En: *Trichinellosis*. Ed. C.W. Kim. E.J. Ruitenber and J.S. Teppema. Red. Books Ltd Fox Lane North, Chertsey, Surrey, England, 1980, 297-282.
15. Van Knapen, F.; Franchimont, J.H.; Ruitenber, E.J.; Andre, P.; Baldelli, B.; Gibson, T.E.—Comparison of four methods for early detection of experimental *Trichinella spiralis* infection in pigs. *Vet. Parasitol.*, 9, 1981, 117-123.
16. Van Knapen, J.H.; Franchimont, A.R.; Verdonk, J.; Stumpf, J.; Undeutsch, K.—Detection of specific immunoglobulins (IgG, IgM, IgA, IgE) and total IgE levels in human trichinosis by means of the enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31, 1982, 973-976.

(Recibido el 22 de octubre de 1986; aceptado el 4 de febrero de 1987).