



Universidad Miguel Hernández de Elche

Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas

*Infecciones endémicas desatendidas en personas que
viven con el VIH en la Amazonia peruana:
Strongyloides stercoralis, protozoos intestinales,
Trypanosoma cruzi y HTLV*

Doctoranda:

Dña. Silvia Otero Rodríguez

Director:

Dr. José Manuel Ramos Rincón

Codirectora:

Dra. Esperanza Merino de Lucas



Alicante, 2026



Vida en el río Amazonas. Fuente: propia

A las gentes del Perú, y a sus Apus, que las protegen

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer el apoyo de mis maestros de España y del Perú: José Manuel Ramos, Esperanza Merino, Martín Casapía y Viviana Pinedo, por su ayuda. Sin ellos, este proyecto no habría sido posible.

Mi gratitud también al personal médico y de enfermería de las clínicas TARGA del Hospital Regional de Loreto y del Hospital de Apoyo de Iquitos, por su dedicación a la mejora de la salud de los pacientes con VIH en la ciudad de Iquitos, incluso trabajando con recursos limitados.

A Seyer, Victoria y el resto del personal de los laboratorios del LIPNAA- CIRNA y de la Asociación Civil Selva Amazónica por su valioso esfuerzo durante el trabajo de campo. A Carmen de Mendoza y Vicente Soriano, por su apoyo técnico y científico desde Madrid.

A Gina, quien se preocupó profundamente por los participantes e hizo un incansable esfuerzo para contactarlos.

A Manu, mi equipo en la maquetación.

A los pacientes que colaboraron con nosotros, por su respeto y disposición.

Y, por supuesto, a todos los que, en algún momento, me acompañasteis en mis viajes por la costa, sierra y selva de uno de los países más hermosos en los que he vivido.

Publicaciones en las que se basa la presente tesis doctoral

La presente tesis doctoral, titulada “Infecciones endémicas desatendidas en personas que viven con el VIH en la Amazonia peruana: *Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales, *Trypanosoma cruzi* y HTLV”, se presenta bajo la modalidad de tesis por compendio de las siguientes publicaciones:

Publicación 1

Otero-Rodriguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Villacorta-Pezo VY, Parráquez-de-la-Cruz J, Clark EH, Merino E, Ramos-Rincon JM. High prevalence of Strongyloides stercoralis in people living with HIV: A critical health challenge in the Peruvian Amazon Basin. PLoS Negl Trop Dis. 2025;15;19(7):e0013231. doi: 10.1371/journal.pntd.0013231.

- **Revista:** PLoS Neglected Tropical Diseases. ISSN: 1935-2735
- **Factor de impacto (JCR 2024):** 3.4
- **Categoría JCR:** Parasitology; posición 6/47; percentil JIF 88.3; cuartil Q1
- **Criterios DORA:** Este estudio aborda una laguna en la literatura científica, aportando evidencia sobre una parasitosis que supone un importante problema clínico y de salud pública en Perú, con un enfoque de aplicabilidad local. Su valor reside en la generación de datos originales con impacto directo en estrategias de cribado y manejo en entornos amazónicos.

Publicación 2

Otero-Rodriguez S, Pinedo-Cancino V, Casapia-Morales M, Villacorta-Pezo VY, Mego-Campos, S, Parráquez-de-la-Cruz J, Merino E, Clark E.H, Ramos-Rincón JM. Prevalence of Intestinal Protozoa Among Patients Living with HIV in the Peruvian Amazon. Trop. Med. Infect. Dis. 2025;10(11):324. doi: 10.3390/tropicalmed10110324.

- **Revista:** Tropical Medicine and Infectious Disease. ISSN: 2414-6366
- **Factor de impacto (JCR 2024):** 2.6
- **Categoría JCR:** Tropical Medicine; posición 6/28; percentil JIF 80.4; cuartil Q1

- **Criterios DORA:** Este trabajo contribuye de manera significativa al conocimiento epidemiológico de protozoos intestinales en personas con VIH, apenas estudiados en Perú en pacientes con VIH. Se trata de uno de los primeros estudios que compara la rentabilidad diagnóstica de un test inmunocromatográfico para protozoos con respecto al estándar de oro en el terreno, lo que podría contribuir a mejorar el diagnóstico de estos parásitos en zonas rurales/con escaso acceso a servicios sanitarios, ayudando a disminuir su transmisión.

Publicación 3

Otero-Rodríguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Ramírez LL, Merino E, Clark EH, Ramos-Rincón JM. Screening for Trypanosoma cruzi in patients living with the human immunodeficiency virus (PWH) in the Peruvian Amazon. Travel Med Infect Dis. 2025;28;68:102927. doi: 10.1016/j.tmaid.2025.102927.

- **Revista:** Travel Medicine and Infectious Disease. ISSN: 1477-8939
- **Factor de impacto (JCR 2024):** 4.7
- **Categoría JCR:** Public, environmental and occupational health; posición 34/421; percentil JIF 92.0; cuartil Q1, decil D1
- **Criterios DORA:** Existen muy pocos estudios de prevalencia de enfermedad de Chagas en Iquitos en pacientes con VIH, a pesar de que este grupo puede sufrir formas más severas de la infección y hay evidencia de transmisión esporádica continua en la región amazónica.

Publicación 4

Otero-Rodríguez S, Casapia-Morales M, de Mendoza C, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Soriano V, Merino E, Ramos-Rincón JM. High Rate of Human T-Cell Lymphotropic Virus-2 in Patients with HIV in the Peruvian Amazon. Trop Med Infect Dis. 2025;10(9):267. doi: 10.3390/tropicalmed10090267.

- **Revista:** Tropical Medicine and Infectious Disease. ISSN: 2414-6366
- **Factor de impacto (JCR 2024):** 2.6

- **Categoría JCR:** Tropical Medicine; posición 6/28; percentil JIF 80.4; cuartil Q1
- **Criterios DORA:** Este estudio identifica una alta prevalencia de HTLV, con predominio del subtipo 2 (algo no descrito previamente), en pacientes con VIH, en los que la infección podría tener una mayor relevancia clínica. Además, aporta luz sobre su epidemiología y vías de transmisión, poco conocidas en la región amazónica, donde no se realiza cribado ni se toman medidas de prevención de manera habitual.



El Dr. *José Manuel Ramos Rincón*, director, y la Dra. *Esperanza Merino de Lucas*, codirectora de la tesis doctoral titulada “Infecciones endémicas desatendidas en personas que viven con el VIH en la Amazonia peruana: *Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales, *Trypanosoma cruzi* y HTLV”

INFORMAN:

Que Dña. *Silvia Otero Rodríguez* ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “Infecciones endémicas desatendidas en personas que viven con el VIH en la Amazonia peruana: *Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales, *Trypanosoma cruzi* y HTLV” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos para los efectos oportunos, en Alicante, a 18 de noviembre de 2025

Dr. José Manuel Ramos Rincón

Dra. Esperanza Merino de Lucas



La Dra. Dña. *María del Mar Masiá Canuto*, Coordinadora del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas.

INFORMAN:

Que Dña. *Silvia Otero Rodríguez* ha realizado bajo la supervisión de nuestro Programa de Doctorado el trabajo titulado “Infecciones endémicas desatendidas en personas que viven con el VIH en la Amazonia peruana: *Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales, *Trypanosoma cruzi* y HTLV” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo para los efectos oportunos, en Alicante, a 18 de noviembre de 2025

Profa. Dra. Dña. *María del Mar Masiá Canuto*

Coordinadora del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas.

Financiación

Este Proyecto de Investigación ha sido cofinanciado por el Programa de Cooperación al Desarrollo de la Universidad Miguel Hernández de Elche (SOLCIF/2022/0005) y el Instituto de Salud Carlos III (CM23/00050)



Mujer de camino a su “chacra” (campo de cultivo). Fuente: propia

Resumen

En la Amazonia peruana hay escasa información sobre la prevalencia de ciertas infecciones endémicas (*Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales, *Trypanosoma cruzi* –causante de la enfermedad de Chagas– y virus linfotrópico de células T humanas (HTLV)) en personas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), a pesar de que la vulnerabilidad e inmunosupresión de esta población podrían favorecer una mayor frecuencia, persistencia y gravedad de estas patologías.

Los avances microbiológicos recientes han permitido desarrollar pruebas diagnósticas más sensibles, específicas y accesibles, incluidas pruebas rápidas para su uso en terreno o *point of care*, cuya aplicación en zonas rurales podría mejorar el cribado de infecciones subclínicas en poblaciones vulnerables, contribuyendo al tratamiento eficaz y el control de su transmisión.

El objetivo de esta tesis es analizar la carga de estas cuatro infecciones en personas que viven con el VIH (PVV) atendidos en la ciudad de Iquitos, capital de la Amazonia peruana, profundizando en el análisis de los factores de riesgo de adquisición –entre ellos el estadio clínico-inmunológico de la infección por VIH, y la correlación entre las diferentes pruebas parasitológicas.

Se propone un estudio prospectivo transversal sobre una cohorte de PVV reclutada en las clínicas de tratamiento de los dos principales hospitales públicos de la ciudad, en colaboración con la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana de Iquitos. Se recogerán variables sociodemográficas, epidemiológicas, clínicas e inmunológicas mediante un cuestionario oral semi-estructurado. Se realizará punción venosa para estudio serológico de *S. stercoralis*, *T. cruzi* y HTLV. En pacientes positivos para *T. cruzi*, se confirmará el resultado con una segunda serología y, de ser positiva, se ampliará una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) para dicho parásito. En caso de cribado positivo para HTLV, se confirmará el resultado mediante ensayo inmunoenzimático en línea (INNO-LIA), que, además, nos permitirá conocer el subtipo del virus. A todos los pacientes se les solicitará una muestra de heces para estudio copro-parasitológico mediante Kato-Katz, técnica de Baermann modificada en copa y cultivo con carbón (Dancescu) para detección de helmintos, técnica de Ziehl-Neelsen modificada para visualización de *Cryptosporidium spp.*, y test rápido inmunocromatográfico combinado para *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica/dispar* y *Cryptosporidium spp.*

Se trata de un estudio de investigación ligado a la cooperación internacional para el desarrollo, dentro del objetivo de desarrollo sostenible de la Agenda 2030 de las Naciones Unidas, en concreto en relación al área 3: Salud y Bienestar.

Palabras clave: VIH; prevalencia; cribado; *Strongyloides stercoralis*; protozoos intestinales; enfermedad de Chagas; HTLV

Abstract

In the Peruvian Amazon, there is little information on the prevalence of certain endemic infections (*Strongyloides stercoralis*, intestinal protozoa, *Trypanosoma cruzi* –which causes Chagas disease– and human T-cell lymphotropic virus (HTLV)) in people with human immunodeficiency virus (HIV), despite the fact that the vulnerability and immunosuppression of this population could favor a higher frequency, persistence, and severity of these pathologies.

Recent microbiological advances have led to the development of more sensitive, specific, and accessible diagnostic tests, including rapid tests for use in the field or point of care, whose application in rural areas could improve the screening of subclinical infections in vulnerable populations, contributing to effective treatment and control of their transmission.

The objective of this thesis is to analyze the burden of these four infections in people living with HIV (PWH) treated in the city of Iquitos, capital of the Peruvian Amazon, delving into the analysis of risk factors for acquisition – including the clinical-immunological stage of HIV infection–, and the correlation between different parasitological tests.

A prospective cross-sectional study is proposed on a cohort of PWH recruited from the treatment clinics of the two main public hospitals in the city, in collaboration with the National University of the Peruvian Amazon in Iquitos. Sociodemographic, epidemiological, clinical, and immunological variables will be collected using a semi-structured oral questionnaire. Venipuncture will be performed for serological testing for *S. stercoralis*, *T. cruzi*, and HTLV. In patients positive for *T. cruzi*, the result will be confirmed with a second serology test and, if positive, a real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) will be performed for that parasite. In the event of a positive screening for HTLV, the result will be confirmed by an online immunoenzymatic assay (INNO-LIA), which will also allow us to determine the subtype of the virus. All patients will be asked to provide a stool sample for copro-parasitological study using Kato-Katz, modified Baermann technique in a cup, and charcoal culture (Dancescu) for the detection of helminths, modified Ziehl-Neelsen technique for visualization of *Cryptosporidium spp.*, and a combined rapid immunochromatographic test for *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica/dispar*, and *Cryptosporidium spp.*

This is a research study linked to international cooperation for development, within the sustainable development goal of the United Nations 2030 Agenda, specifically in relation to area 3: Health and Well-being.

Keywords: HIV; prevalence; screening; *Strongyloides stercoralis*; protozoan infections; Chagas disease; HTLV

Lista de abreviaturas

Ag Antígeno

CIRNA Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonia (Perú)

CLIA Inmunoensayo por quimioluminiscencia

ELISA Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

HAI Hospital de Apoyo de Iquitos

HRL Hospital Regional de Loreto

HTLV Virus linfotrópico de células T humanas

ICT Test inmunocromatográfico

IFAT Prueba de anticuerpos por inmunofluorescencia

IL Interleucina

INNO-LIA Ensayo inmunoenzimático en línea

LAMP Amplificación isotérmica mediada por bucle

LIPS Sistema de inmunoprecipitación con luciferasa

OMS Organización Mundial de la Salud

ORa Odds Ratio ajustado

PrEP Profilaxis preexposición

PVV Personas que viven con el VIH

RIQ Rango Intercuartílico

RT-PCR Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

SIDA Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida

SIRI Síndrome inflamatorio de reconstitución inmune

TARGA Terapia Antirretroviral de Gran Actividad

VIH Virus de la Inmunodeficiencia Humana

VPN Valor Predictivo Negativo

VPP Valor Predictivo Positivo

ZNM Ziehl–Neelsen Modificado

Índice general

1	Introducción	1
1.1	Contexto general	2
1.1.1	Características geográficas: Iquitos y la Amazonia peruana	2
1.1.2	Infección por VIH en la Amazonia peruana	5
1.2	Infección por <i>Strongyloides stercoralis</i>	10
1.2.1	Aspectos generales de la infección	10
1.2.2	Epidemiología en el Perú	13
1.2.3	Factores de riesgo de adquisición y gravedad	14
1.2.4	Diagnóstico parasitológico	16
1.2.5	Otros helmintos intestinales	21
1.3	Protozoos intestinales	23
1.3.1	Aspectos generales de la infección	23
1.3.2	<i>Cryptosporidium spp.</i>	25
1.3.3	<i>Giardia duodenalis</i>	28
1.3.4	<i>Entamoeba histolytica</i>	29
1.3.5	<i>Blastocystis spp.</i>	31
1.4	Enfermedad de Chagas	33
1.4.1	Aspectos generales de la infección	33
1.4.2	Epidemiología en el Perú	36
1.4.3	Factores de riesgo de adquisición y gravedad	37
1.4.4	Diagnóstico parasitológico	37
1.5	Infección por el Virus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV)	39
1.5.1	Aspectos generales de la infección	39
1.5.2	Epidemiología en el Perú	41
1.5.3	Factores de riesgo de adquisición y gravedad	42
1.5.4	Diagnóstico viral	43
2	Hipótesis y Objetivos	45
2.1	Hipótesis	46
2.2	Objetivo General	46
2.3	Objetivos Específicos	46
3	Material y Métodos	49
3.1	Diseño y lugar de realización	50
3.2	Sujetos de estudio y criterios de inclusión	50

3.3	Procedimiento	51
3.4	VARIABLES Y RECOGIDA DE DATOS	53
3.5	Técnicas de laboratorio	53
3.5.1	Muestras de suero	53
3.5.2	Muestras de heces	55
3.6	Tamaño muestral	59
3.7	Análisis de los datos	60
3.8	Aspectos éticos	61
4	Resultados	62
4.1	Objetivo 1	63
4.1.1	Referencia del artículo	63
4.1.2	Abstract en español	64
4.1.3	Artículo original	64
4.2	Objetivo 2	81
4.2.1	Referencia del artículo	81
4.2.2	Abstract en español	81
4.2.3	Artículo original	81
4.3	Objetivo 3	99
4.3.1	Referencia del artículo	99
4.3.2	Abstract en español	99
4.3.3	Artículo original	99
4.4	Objetivo 4	104
4.4.1	Referencia del artículo	104
4.4.2	Abstract en español	104
4.4.3	Artículo original	104
5	Discusión	117
5.1	Discusión global	118
5.2	Fortalezas del estudio	121
5.3	Limitaciones del estudio	122
6	Implicaciones en salud pública y perspectivas futuras	125
7	Conclusiones	129
8	Bibliografía	132
A	Hoja de información al paciente y consentimiento informado	159
A.1	Hoja de información al paciente (HIP) y consentimiento informado	160

A.2 Hoja de recogida de datos (HRD) 170

Índice de figuras

1.1	Mapa de la ciudad de Iquitos y sus principales ríos	2
1.2	Mapa de la ciudad de Iquitos y sus cuatro distritos	3
1.3	Imágenes de los diferentes distritos de Iquitos	4
1.4	Incidencia de nuevos casos de VIH y de SIDA en el Perú, destacando el Departamento de Loreto	6
1.5	Atención a un paciente en la clínica TARGA del Hospital de Apoyo de Iquitos	9
1.6	Ciclo biológico del parásito <i>Strongyloides stercoralis</i>	10
1.7	Test tipo <i>cassette</i> para <i>S. stercoralis</i>	18
1.8	Calle sin asfaltar en Iquitos	19
1.9	Rentabilidad diagnóstica de los test combinados (Giardia-Cryptosporidium-Entamoeba)	25
1.10	Ciclo biológico del parásito <i>Cryptosporidium spp.</i>	26
1.11	Ciclo biológico del parásito <i>Giardia duodenalis</i>	28
1.12	Ciclo biológico del parásito <i>Entamoeba histolytica</i>	30
1.13	Ciclo biológico del parásito <i>Blastocystis spp</i>	32
1.14	Ciclo biológico del parásito <i>Trypanosoma cruzi</i>	34
1.15	Historia natural de la enfermedad de Chagas	35
1.16	Poblado de la etnia Shipibo Konibo, en Ucayali, Perú	42
3.1	Mapa satelital de Iquitos con los dos principales hospitales públicos	50
3.2	Procedimiento de reclutamiento, recogida y procesamiento de muestras esquematizado	52
3.3	Kit IVD-ELISA para <i>Strongyloides stercoralis</i>	54
3.4	Chagatest ELISA recombinant v.4	54
3.5	HTLV I+II ELISA recombinant v.4.0	55
3.6	Procedimiento de la tinción de Lugol	56
3.7	Técnica de Baermann	57
3.8	Larva de <i>S. stercoralis</i> al microscopio tras técnica de Baermann . . .	57
3.9	Técnica de Kato-Katz	58
3.10	Tinción de yodo con Lugol, cultivo de Dancescu e inmunocromatografía para protozoos	59
3.11	Oocistos de <i>Cryptosporidium spp.</i> teñidos en color rojo tras la técnica de Zielh Neelsen modificado	59

4.1	Diagrama de flujo de pacientes incluidos y muestras disponibles para el estudio	63
5.1	Búsqueda exhaustiva de muestras de heces en los distintos distritos y asentamientos humanos de Iquitos	124
6.1	Mercados populares en el distrito de Belén. Casa de madera y hojas	127

Índice de tablas

1.1	Prevalencia global y distribución regional de los principales helmintos intestinales	11
1.2	Características de los principales métodos diagnósticos para <i>S. stercoralis</i>	20
1.3	Prevalencia global y distribución regional de los principales protozoos intestinales	24

1

INTRODUCCIÓN

1.1. Contexto general

1.1.1. Características geográficas: Iquitos y la Amazonia peruana

Iquitos es la ciudad más grande de la Amazonia peruana y capital de la provincia de Maynas, en el Departamento de Loreto, al noroeste del país. En 2025 se estima que supera el medio millón de habitantes [1].

La ciudad está rodeada de afluentes del río Amazonas (ríos Itaya y Nanay) por los lados este/oeste y por el propio Amazonas al norte de la ciudad, siendo la parte sur la única vía de expansión de la ciudad. Dada su orografía compleja, rodeada de una impenetrable selva y con cambios frecuentes del paisaje por los desbordamientos de los ríos, solo tiene comunicación con el resto del país mediante barco o avión, lo que eleva los costes de vida de la ciudad. La cuenca del río Nanay suministra el agua potable a la ciudad, aunque actualmente hay preocupación por la posibilidad de vertidos tóxicos por parte de las poblaciones situadas en el cauce alto del río, con análisis recientes que afirman que el agua no cumple estándares microbiológicos suficientes como para ser consumida por la población [2].



Figura 1.1: Mapa de la ciudad de Iquitos y sus principales ríos. Fuente: uMap (versión 3.0.6), utilizando datos de OpenStreetMap y OpenStreetMap Foundation, con licencia ODbL

Iquitos se divide en cuatro barrios o distritos: Iquitos, Punchana, Belén y San Juan Bautista.



Figura 1.2: Mapa de la ciudad de Iquitos y sus cuatro distritos. De norte a sur: Punchana, Iquitos, San Juan Bautista y Belén. Las cruces rojas simbolizan los dos hospitales que participaron en el estudio. Fuente: uMap (versión 3.0.6), utilizando datos de OpenStreetMap y OpenStreetMap Foundation, con licencia ODbL

Punchana tiene gran actividad portuaria, relacionándose de forma directa con la confluencia de los tres ríos. Posee el mercado de alimentos de Bellavista-Nanay y en él se sitúa el mayor hospital de la ciudad, centro de referencia para todo el Departamento de Loreto, llamado Hospital Regional de Loreto o “Felipe Santiago Arriola Iglesias”.

Belén, al este, es otro de los distritos con más contacto con el agua, dado que gran parte de la población vive en casas flotantes sobre el río Itaya. Además, posee el mayor y más famoso mercado de pescado y otros alimentos de la ciudad, que no siempre cumple los estándares higiénicos debido a la ausencia de cadena de frío y el calor habitual de la región. Es un barrio muy pobre y de forma frecuente se dan situaciones de violencia en sus calles.

San Juan es el distrito más grande y poblado de Iquitos. Está en constante expansión hacia el sur y en él se encuentra la mayor parte de asentamientos humanos, junto a Punchana. Estos son barrios de alta densidad de población

con pobres condiciones de salubridad, con escasos servicios y alto porcentaje de calles sin asfaltar.

Iquitos, por último, es el distrito centro, de mayor nivel socioeconómico, aunque igualmente modesto, con un porcentaje de calles asfaltadas más alto que el resto. En él se encuentra el Hospital de Apoyo de Iquitos o “César Garayar García”.

Los dos hospitales descritos realizan el seguimiento de la mayor parte de pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) del departamento, en centros específicos llamados “Centros de Terapia Antirretroviral de Gran Actividad (TARGA)”, que cuentan con un equipo multidisciplinar que realiza una atención personalizada y búsqueda activa en caso de abandono del seguimiento. Además, la ciudad cuenta con otros dos hospitales: el Hospital Militar Santa Rosa y el Hospital Essalud.



Figura 1.3: Imágenes de los diferentes distritos de Iquitos: distrito de Belén con casas flotantes sobre el río (superior izquierda), Hospital Regional de Loreto, en el distrito de Punchana (superior derecha), asentamiento humano en el barrio de San Juan Bautista (inferior izquierda) y vista del malecón central de la ciudad, en el barrio de Iquitos (inferior derecha). Fuente: propia

1.1.2. Infección por VIH en la Amazonia peruana

Prevalencia de la infección por VIH

Según datos de ONUSIDA de 2024, la pandemia por VIH afecta a más de 40 millones de personas en el mundo, con 1 millón de nuevos diagnósticos al año, especialmente en países de media y baja renta. De todas las personas que viven con el VIH (PVV), unos 31,6 millones (77%) reciben tratamiento antirretroviral [3]. A pesar de que las nuevas infecciones siguen una tendencia descendente a nivel global y también en África subsahariana, en los últimos años se ha experimentado un estancamiento o incluso un repunte en algunas regiones, como Latinoamérica. De igual manera, aunque la mortalidad por el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ha disminuido de manera global, se está registrando un repunte entre las muertes de mujeres en países como el Perú, Costa Rica y Panamá [4].

Según datos del Ministerio de Salud del Perú de 2025, en el país hay más de 110.000 PVV, aproximadamente un 0.4% del país, con una tendencia ascendente (10.000 nuevos casos en 2023) [5]. La transmisión, como en la mayoría de los países, se da principalmente entre varones (80%) por vía sexual (95%), afectando desproporcionadamente a ciertas poblaciones clave, como el grupo de hombres que tienen sexo con hombres, donde la prevalencia podría ser de hasta el 10%, y el de mujeres transgénero, hasta el 32% [6]. En las regiones amazónicas, los casos de VIH son desproporcionadamente elevados comparado con la media nacional, que se sitúa en 29 casos por 100.000 habitantes. En los primeros tres puestos se encuentran los departamentos de Amazonas (100 casos/100.000 habitantes), Ucayali (76 casos/100.000 habitantes) y Loreto (70 casos/100.000 habitantes), seguidos de Lima y otras áreas selváticas en la zona sur del país [5].

El Departamento de Loreto es, por tanto, un área clave en la transmisión de la infección, con la segunda cohorte más grande de pacientes en seguimiento después de Lima. Hasta mitad del año 2024, se habían diagnosticado más de 200 casos nuevos, con cifras récord de infección en hombres que tienen sexo con hombres (11-14%) [5,7]. Algunos estudios en la Amazonia peruana han revelado, además, cifras muy elevadas del virus en poblaciones indígenas aisladas, contribuyendo éstas al 8% de carga de VIH del país, cuando su población apenas representa el 1% de la total del país [5]. Por ejemplo, en la comunidad de Chayahuita se reportó una seroprevalencia de VIH del 7.5%

entre adultos (6 de 80 participantes), 10 veces mayor que la prevalencia nacional masculina [8].

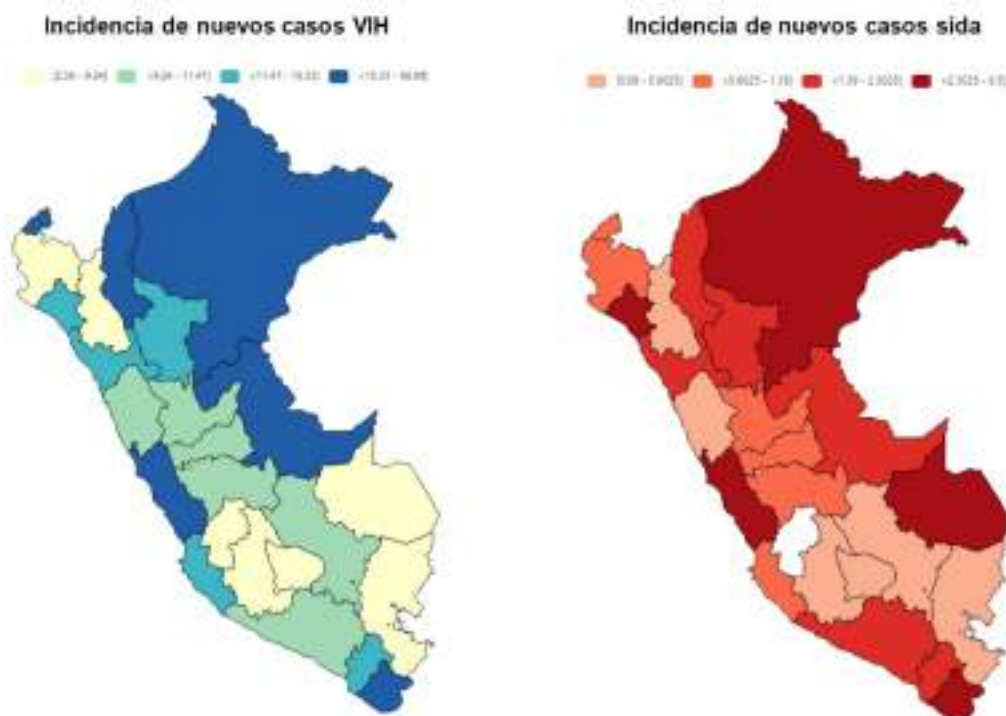


Figura 1.4: Incidencia de nuevos casos de VIH (izquierda) y de SIDA (derecha) en el Perú, destacando el Departamento de Loreto (el más septentrional). Fuente: Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades [5]

El Ministerio de Salud del Perú cuenta con directrices para la prevención, el tratamiento y el control del VIH, alineadas con los estándares internacionales [9]. El acceso a la terapia antirretroviral es gratuito en el punto de dispensación y la medicación se dispensa de forma trimestral en las clínicas TARGA de seguimiento de PVV, donde son monitoreados por un equipo multidisciplinar que incluye enfermería, especialistas en planificación familiar, psicólogos y nutricionistas. A pesar de esto, solo un 66 % de la población peruana seropositiva alcanzaba criterios de supresión viral en 2019 [6].

Factores determinantes de la salud en contexto de VIH.

La salud de las PVV está influenciada por múltiples factores sociales, económicos, culturales y biológicos, que actúan como determinantes críticos en la progresión de la enfermedad y el acceso a los servicios de salud.

A nivel estructural, las condiciones de pobreza, desigualdad social o económica, nivel educativo bajo y otras inequidades de género y etnia, aumentan el riesgo de transmisión del VIH y, al mismo tiempo, perpetúan la vulnerabilidad del colectivo frente a enfermedades transmisibles como las parasitosis intestinales, *Trypanosoma cruzi* (causante de la enfermedad de Chagas (EC)) o Virus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV). La procedencia de zonas rurales o comunidades indígenas, las barreras geográficas y la falta de servicios de salud especializados agravan la situación [7].

Estos determinantes estructurales generan un contexto de marginación que limita el acceso a recursos básicos, como servicios de agua potable, infraestructura de saneamiento y vivienda, educación en salud y estilo de vida y acceso a sistemas de atención médica de calidad (determinantes intermedios de salud) [10]. En zonas rurales y amazónicas del Perú como el Departamento de Loreto y, en concreto, la ciudad de Iquitos, las poblaciones vulnerables enfrentan una exposición constante a fuentes de agua contaminada y sistemas inadecuados de eliminación de excretas, lo que aumenta la transmisión de parásitos intestinales como *Cryptosporidium spp.*, *Giardia duodenalis* (previamente conocida como *Giardia lamblia*), *Entamoeba histolytica* y helmintos intestinales [11]. La desinformación sobre la transmisión de otros parásitos como la enfermedad de Chagas o virus como el HTLV, perpetúa el ambiente desfavorable y aumenta la tasa de contagios por estas enfermedades desatendidas y a menudo asociadas con la pobreza.

Estas poblaciones desfavorecidas ven restringido su acceso a estrategias de prevención del VIH, tales como educación sexual, preservativos, pruebas diagnósticas y tratamiento antirretroviral, debido tanto a barreras económicas como a factores culturales y estigma social [7,12]. Ciertas prácticas de riesgo que favorecen la transmisión del virus del VIH (sexo anal), también favorecen la transmisión de ciertos enteropatógenos de forma significativa, como *G. duodenalis*, *E. histolytica* o *S. stercoralis* [13,14].

De esta forma, los determinantes estructurales actúan como causas profundas que configuran entornos de alto riesgo, mientras que los determinantes intermedios modulan la exposición directa a los agentes infecciosos y la vulnerabilidad individual. A esto se añade, como veremos posteriormente, una predisposición a la adquisición de infecciones oportunistas en casos de inmunosupresión significativa secundaria al VIH, o a medicaciones concomitantes (corticoterapia) [15].

Inmunosupresión por VIH y susceptibilidad a infecciones parasitarias intestinales

El VIH produce una inmunosupresión progresiva que compromete la capacidad del organismo para defenderse frente a infecciones oportunistas. La destrucción selectiva de los linfocitos T CD4+ constituye el mecanismo central de esta inmunosupresión, que resulta en un deterioro funcional inicial de la inmunidad celular y, por consiguiente, de la humoral y de la innata [16]. Además del daño a este nivel, la replicación viral persistente genera una sobrecarga de antígenos que mantiene al sistema inmunológico en un estado de activación constante. Esta estimulación crónica interfiere en los procesos normales de maduración y activación de los linfocitos T CD4+ y CD8+, lo que conduce a un agotamiento funcional de estas células y favorece un envejecimiento acelerado del sistema inmunitario [17].

En la fase final o estadio SIDA, que se define por un número de linfocitos CD4+ menor a 200, el paciente alcanza un punto crítico de deterioro inmunológico que favorece la infección por parásitos oportunistas, en especial patógenos intracelulares, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Leishmania spp.*, *Trypanosoma cruzi*, *Cryptosporidium spp.*, *Microsporidium spp.*, etc. [18,19], que pueden producir cuadros clínicos y reactivaciones agudas más severas que no se suelen ver en personas inmunocompetentes. Aunque en los estudios no se ha demostrado una mayor gravedad del cuadro de *S. stercoralis* en PVV, su prevalencia es mayor en este colectivo por las condiciones de vulnerabilidad que sufren [20–22]. Asimismo, los estudios no han sido concluyentes sobre si la coinfección VIH-HTLV es más grave que la mono infección. No obstante, las importantes similitudes en ambos retrovirus (tropismo por los linfocitos T CD4+ y CD8+, similares rutas de adquisición: sexual, parenteral y vertical), mantienen la sospecha de que dicha coinfección pueda asociarse a una mayor frecuencia y gravedad clínica en PVV [23].

La alteración de las barreras mucosas intestinales es otro factor importante en la relación entre VIH y parasitosis. Desde fases tempranas, el VIH induce una disbiosis intestinal y una disrupción de la integridad epitelial, favoreciendo la translocación microbiana y la colonización por parásitos como *Giardia duodenalis* y *Entamoeba histolytica*, cuya patogénesis depende de la adherencia a la mucosa y de la evasión de mecanismos inmunitarios locales [24].

Las parasitosis y el HTLV, pueden actuar como cofactores que aceleran la progresión de la enfermedad por VIH, debido a su impacto negativo sobre el

estado nutricional y a la activación inmune persistente que promueven. Por lo tanto, la prevención de la adquisición del HTLV y el tratamiento de las personas con VIH contra helmintos en áreas con una prevalencia alta de ambas infecciones podría ayudar a retrasar la progresión de la enfermedad por VIH [25].

Por último, algunos tratamientos inmunosupresores como la terapia con corticoides, se utilizan de forma más frecuente en pacientes con infecciones oportunistas asociadas al VIH, como es la neumonía por *Pneumocystis carinii*, agravando parasitosis concomitantes, por ejemplo, *S. stercoralis* [15].

Por todo esto, en poblaciones donde el VIH y estas infecciones ocultas son frecuentes, como en las zonas rurales amazónicas del Perú, es esencial implementar enfoques integrales de atención que contemplen la vigilancia y tratamiento de coinfecciones parasitarias, como parte de la estrategia de control de la pandemia por VIH [26].



Figura 1.5: Atención a un paciente en la clínica TARGA del Hospital de Apoyo de Iquitos. Fuente: propia

1.2. Infección por *Strongyloides stercoralis*

1.2.1. Aspectos generales de la infección

Hasta un cuarto de la población mundial podría estar infectada por parásitos intestinales [27–29]. Dentro de este grupo, los geohelmintos (por ejemplo *Strongyloides stercoralis*, uncinarias, *Trichuris trichiura* o *Ascaris lumbricoides*) están reconocidos por la Organización Mundial de la Salud como una enfermedad tropical desatendida, ya que su carga de enfermedad es desproporcionadamente mayor en situaciones de pobreza y vulnerabilidad [30]. En la **Tabla 1.1** se describen las prevalencias estimadas para los distintos geohelmintos en el mundo. La gran mayoría de las infecciones (67%) se producen en Asia, seguido de zonas rurales de África, donde la carga disminuye de forma más paulatina que en otras regiones. América Latina ocupa el tercer lugar [29,31,32]. *Strongyloides fuelleborni fuelleborni* y *Strongyloides fuelleborni kellery* son especies muy infrecuentes, pero para los que se han reportado infecciones en humanos en África, Asia y Oceanía [33,34].

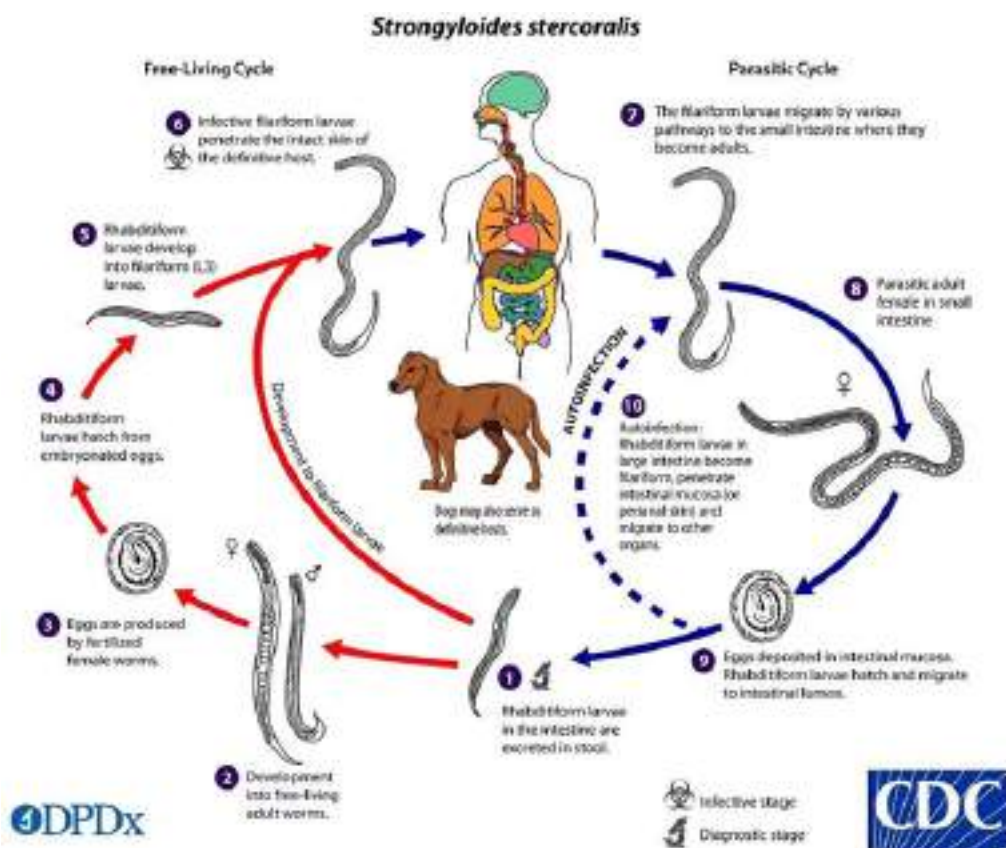


Figura 1.6: Ciclo biológico del parásito *Strongyloides stercoralis*. Fuente: CDC. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>

Tabla 1.1: Prevalencia global y distribución regional de los principales helmintos intestinales

Parásito	Prevalencia global	Distribución regional
<i>Ascaris lumbricoides</i>	804–1200 millones [29,35,36]	El helminto más ampliamente distribuido, sobre todo en Asia y África. En Latinoamérica predomina en Ecuador (35%), Venezuela (28%) y Colombia (26%) [35,37].
<i>Trichuris trichiura</i>	290–447 millones [29,31,35]	Predomina en África Central y es menos prevalente en Asia. En Latinoamérica destaca en Venezuela (28.4%) [35].
Uncinarias (<i>Ancylostoma duodenale</i> y <i>Necator americanus</i>)	229–472 millones [29,31]	Distribución similar a <i>T. trichiura</i> , con baja prevalencia en Asia Central y elevada en África. Presenta solapamiento geográfico con <i>Strongyloides stercoralis</i> .
<i>Strongyloides stercoralis</i>	300–600 millones [32]	Predomina en el Sudeste Asiático, el Pacífico Occidental y África Subsahariana Occidental. En Latinoamérica y el Caribe es frecuente en Panamá, Costa Rica, Colombia, Brasil y Perú, con una prevalencia global aproximada del 7% y valores de hasta el 30% en zonas rurales de selva [32,38,39].

S. stercoralis es un geohelminto o nemátodo cosmopolita, más prevalente en lugares tropicales de clima cálido y húmedo, especialmente rurales o con pobres condiciones de higiene. Su principal vía de adquisición es la cutánea, al caminar descalzo por suelo que contenga las larvas, que penetran a través de la piel [40]. Otras vías descritas de transmisión son la oral, sexual, parenteral o a través del trasplante de órganos [14,33,41–43].

Su importancia clínica recae en dos aspectos principales: su alta prevalencia, que podría estar infraestimada por la baja sensibilidad de las técnicas diagnósticas convencionales, y la capacidad de perpetuar la infección en el

huésped de forma crónica y poco sintomática (“autoinfección”), produciendo cuadros clínicos graves en situaciones de inmunosupresión [44]. Su distribución podría sufrir solapamiento con la de otros geohelminthos que compartan características biológicas y epidemiológicas similares (por ejemplo, uncinarias), lo que podría ayudar a superar la complejidad diagnóstica de *S. stercoralis* [39,42,45].

La capacidad de “autoinfección” de *S. stercoralis*, incluso años después de que el huésped se haya alejado de la fuente de contagio, se debe a que, entre las larvas intestinales, hay algunas no infectivas (rabditiformes) que maduran a la forma infectiva (filariforme) antes de llegar al exterior, adquiriendo capacidad para penetrar de nuevo en el torrente sanguíneo a través de la barrera intestinal o la zona perineal, lo que reiniciaría el ciclo de infección y lo perpetuaría de forma durante años [44]. Por este aspecto, su prevalencia es mayor en adultos que en niños [38,46].

La respuesta inmunitaria adaptativa a *S. stercoralis* es típicamente Th2-mediada, con liberación de interleucina (IL)-5, que conduce a un mayor reclutamiento y activación de eosinófilos, e IL-4, que promueve el cambio de clase de las inmunoglobulinas secretadas por las células B a IgE. Otra citoquina relevante, la IL-13, causa un aumento del peristaltismo, aumentando la expulsión de larvas. Posteriormente, la degranulación de mastocitos y eosinófilos, añadido a la liberación de sustancias tóxicas, dañan las larvas. La expresión de células T reguladoras podría, de forma opuesta, conducir a una disminución de los niveles de IL-5 e IgE, y presumiblemente a un menor aclaramiento de las larvas [47]. Por tanto, ciertas condiciones de inmunosupresión favorecerán la adquisición y/o gravedad de esta infección.

La infección por *S. stercoralis* es asintomática o paucisintomática en un 60-75% de los casos, siendo en muchas ocasiones una elevación de los eosinófilos o de IgE en sangre el único dato de sospecha inicial [40]. Ésta está presente desde la fase aguda y disminuye en cuadros graves debido a la inmunosupresión frecuente de estos pacientes o del uso de esteroides. Por ello, su presencia se relaciona con mejor pronóstico [33]. En el caso de clínica asociada, *S. stercoralis* puede presentarse de forma aguda (invasión de la larva de órganos intermedios como la piel o el pulmón, en su paso hacia el tracto digestivo) o crónica, con sintomatología inespecífica (náuseas, prurito, diarrea, pérdida de peso...) [44]. Si en algún momento el huésped presenta alguna condición de inmunosupresión, la fase crónica puede agudizarse de nuevo, dando lugar a un cuadro grave o de “hiperinfección” [48,49]. Esto se debe a un aumento de la tasa de replicación y autoinfección de las larvas y, por tanto, una mayor carga parasitaria en los

órganos habitualmente afectados (piel, pulmón y tracto gastrointestinal), con sintomatología sistémica grave y mortalidad superior al 80 % [50]. La causa de muerte, en muchas ocasiones, es secundaria a bacteriemia de bacterias presentes en el trasto intestinal, por traslocación o “arrastre” de las larvas durante su migración. En caso de que las larvas afecten a órganos habitualmente no implicados (sistema nervioso central...), se denominará infección diseminada, aunque esta entidad no siempre ha de correlacionarse con una mayor gravedad [33].

El diagnóstico de esta infección, como veremos en el apartado específico, es todo un desafío, dada la frecuente ausencia de clínica y la escasa e intermitente excreción de las larvas en las heces, lo que disminuye la sensibilidad de las pruebas microbiológicas. Se suele realizar en la fase crónica, a partir de la tercera o cuarta semana, cuando las larvas ya son detectables en heces y los anticuerpos en suero o sangre. Se aconseja un abordaje múltiple con técnicas microbiológicas, serológicas y/o moleculares, sin que ninguna pueda considerarse el estándar de oro por sí sola [44].

Actualmente ivermectina es el fármaco de elección para el tratamiento de la estrogiloidiasis, aunque la mayor parte de los ensayos clínicos realizados se han centrado en el tratamiento de la infección crónica y no del síndrome de hiperinfección, en el que habitualmente se prolonga la ivermectina durante al menos dos semanas. En pacientes que no toleran este fármaco, el uso de albendazol es una alternativa razonable, aunque las tasas de curación son inferiores en los ensayos clínicos, alrededor del 63 % [15,40,51].

1.2.2. Epidemiología en el Perú

Los estudios de seroprevalencia de *S. stercoralis* en el Perú son escasos y los datos muy variados dependiendo de la zona geográfica a estudio, el tipo de prueba diagnóstica, el número de muestras recogidas por paciente o la forma de presentación. En un estudio realizado con los datos obtenidos durante el periodo 1981-2010 por el Sistema de Información Sanitaria del Ministerio de Salud del Perú [52] y su actualización realizada por *Vidal-Anzardo et al.* en el periodo 2010-2017 [53], la prevalencia de *S. stercoralis* a nivel nacional oscilaría del 0.3 al 39 %, con una media del 6.25 % y una tendencia descendente. No obstante, la prevalencia ascendería hasta un 13.6 % en los departamentos de selva: Loreto, San Martín, Pasco, Ucayali y Amazonas. En los estudios de *Buonfrate et al.* de

2015 y 2020 [32,54], se estableció que la prevalencia nacional de estrongiloidiasis estaría entre el 10 y el 20 % [32,54]. En una revisión sistemática con metaanálisis de 2021 [55], se describe igualmente una gran heterogenicidad, de entre el 0.3 al 45 %, con una media del 7.34 %, menor en niños (5.6 %).

En cuanto a la presencia del parásito en heces, en el Perú los estudios son más mayoritarios en la costa, con prevalencias entre el 0.8 % y el 4.2 % [56,57], que ascienden hasta un 24.5 % en zonas rurales [58]. A pesar de que se espera una prevalencia aún mayor de este parásito en las zonas selváticas, los estudios realizados en estos entornos siguen siendo muy escasos. En Iquitos contamos solo con estudios observacionales, en los que la seroprevalencia excede de forma consistente el 30 %, con estudios recientes que la elevan al 33 % en embarazadas [59], el 65 % en población general [60] y 72 % en zonas periféricas de la ciudad [39].

En cuanto a la presencia de larvas en heces, el estudio de *Ortiz et al.* [59] en embarazadas es el más reciente, concluyendo una prevalencia del 13.9 %, similar a otros en población general [39] que encontraron aproximadamente un 10 % de prevalencia de larvas, con una diferencia constante del 20 % entre las tasas de seropositividad y la presencia del parásito en heces [61]. En zonas periféricas [39], rurales [62–64] o en grupos de riesgo como los militares [65], las prevalencias oscilaron entre el 8.7 y 28.8 % de heces positivas.

Hay escasos estudios sobre la prevalencia de la coinfección de *S. stercoralis* y VIH a nivel global y, específicamente, en el Perú, sin ningún estudio relevante al respecto en la Amazonia peruana [15,66]. Una revisión sistemática de estrongiloidiasis en Latinoamérica estimó su prevalencia en PVV en el 5 %, ascendiendo a un 8 % en países como Cuba, Brasil y Venezuela [67]. La evidencia más relevante la encontramos en estudios realizados en Brasil, con cifras heterogéneas: del 2-4 % en la ciudad de Sao Paulo [68] al 30 % en la ciudad tropical de Fortaleza [20], que comparte similitudes con la Amazonia peruana. Ehsan et al. [66], es uno de los pocos que concluye una prevalencia de *S. stercoralis* en heces en PVV del Perú, de un 6.9 %. Hasta la fecha, no contamos con ningún dato sobre prevalencia de *S. stercoralis* en PVV en el Departamento de Loreto.

1.2.3. Factores de riesgo de adquisición y gravedad

En los estudios epidemiológicos, la falta de instalaciones sanitarias adecuadas en la vivienda (y no tanto la falta de suministro de agua potable), ha sido

identificado como uno de los principales factores predisponentes para la adquisición de *S. stercoralis*, así como las actividades de granja, caminar descalzo fuera de casa o vivir en zonas húmedas [44,69–71]. Las áreas donde el movimiento poblacional es más significativo debido a la afluencia de inmigrantes y refugiados procedentes de áreas endémicas tienen, asimismo, una mayor prevalencia de enfermedad [42]. Por último, ciertas condiciones de inmunosupresión también han sido descritas como factores de riesgo para la adquisición y severidad de la infección por *S. stercoralis* [46]. Las más establecidos son:

- **Infección por el virus linfotrópico de células T humanas 1 (HTLV-1):** transmitido por lactancia materna y endémico en el Perú, sobre todo en zonas andinas, con una prevalencia estimada en Iquitos del 1-2% [59], HTLV-1 es uno de los principales factores de riesgo para la adquisición e hiperinfección por *S. stercoralis*, incluso en ausencia de otra inmunosupresión [40]. Además, estudios observacionales han reportado una mayor tasa de fracaso del tratamiento antiparasitario en estos pacientes. El mecanismo subyacente parecen ser las alteraciones en la respuesta mediada por Th2, con aumento de la respuesta T reguladora, junto a las alteraciones de la IL-5, que disminuyen los niveles de IgE [33]. Asimismo, la estrongiloidiasis podría tener un impacto en la historia natural del HTLV-1, habiéndose sugerido como cofactor para el desarrollo de la enfermedad clínica por HTLV-1 [42,72]. Dada la importante carga de HTLV en el Perú, esta infección se analiza en un apartado específico.
- **Tratamiento corticoideo:** independientemente de la dosis, duración o vía de administración, es el factor de riesgo más importante para hiperinfección por *S. stercoralis*. Incluso en ciclos cortos de 1 semana o dosis de 20 mg diarios ha sido asociado a enfermedad diseminada e incluso mortal [40]. No está claro si esto se debe a la supresión de los eosinófilos o a un efecto directo en los propios parásitos, que aceleraría el paso de larva rabditiforme a filariforme [15].
- **Trasplante de órgano sólido y hematopoyético:** inicialmente fue relacionada con el tacrolimus y el trasplante hematopoyético, aunque se ha objetivado con otros fármacos y órganos trasplantados [33].
- **Otros:** hipogammaglobulinemia, neoplasias hematológicas, malnutrición y otros fármacos inmunosupresores como los agentes quimioterápicos o los anticuerpos biológicos [33].

En cuanto a la coinfección *S. stercoralis* y VIH, a pesar de que el segundo tiene una diana común al HTLV-1 (los linfocitos CD4+), no parece condicionar una mayor severidad del primero. Esto puede deberse a una modulación del sistema inmune por el VIH, que afecta predominantemente a la respuesta Th1 y la producción de citoquinas por los Th2, lo que favorecería más las infecciones bacterianas y virales que las causadas por helmintos. También se ha teorizado que el VIH promueve el desarrollo larvario indirecto en pacientes estadio SIDA, reduciendo, por tanto, la posibilidad de autoinfección [46]. Aunque inicialmente se clasificó la hiperinfección por *S. stercoralis* como una enfermedad definitoria de SIDA, hay menos de treinta casos descritos de hiperinfección en pacientes VIH [15], y estos parecen relacionados con la corticoterapia empleada en el síndrome de reconstitución inmune (SIRI) [44,73,74]. Si el SIRI ocurre debido a la infección única por *S. stercoralis*, todavía no ha sido esclarecido [33]. Sin embargo, la mayoría de estudios recientes sí apuntan a una mayor prevalencia de *S. stercoralis* en PVV de manera significativa [46], debido, como se ha comentado, a los factores de vulnerabilidad relacionados con la infección con VIH y al mayor uso de corticoides en infecciones oportunistas o en SIRI [66,69]. Otros factores de riesgo que han sido analizados en pacientes con PVV en pequeños estudios son el estadio avanzado de la infección [46], el sexo masculino [70], la carga viral elevada, la orientación no-heterosexual [68], el alcoholismo [46] o el trabajo relacionado con la agricultura o el ganado [21].

Por tanto, podemos concluir que la población VIH tiene un riesgo mayor de morbilidad asociado a *S. stercoralis* que en población general, además de una mayor letalidad si hay toma concomitante de corticoides.

1.2.4. Diagnóstico parasitológico

Técnicas diagnósticas disponibles y sus limitaciones

El diagnóstico de *S. stercoralis* es complejo y precisa de la combinación de diferentes técnicas [75]. Las opciones disponibles se pueden dividir en tres grandes grupos: microscopía (técnicas de diagnóstico convencional), serología y análisis molecular (**Tabla 1.2**) [31,33,76].

A diferencia de otras infecciones de parásitos intestinales, donde se detectan huevos parasitarios en las muestras fecales, el ciclo biológico de *S. stercoralis* implica una eclosión de los huevos dentro del intestino, detectándose larvas

rabbitiformes en las heces. En caso de hiperinfección, se podrían detectar también larvas filariformes, pudiendo encontrarse el parásito en otros fluidos además de las heces: esputo, líquido pleural o líquido peritoneal. Por tanto, la técnica de Kato-Katz (que sirve para la visualización de huevos en las heces), no es aplicable a este nemátodo [75].

En la fase crónica de la infección, la carga larvaria suele ser intermitente o de baja intensidad, por lo que la sensibilidad de la microscopía convencional es limitada (<50 %), precisándose el análisis de más de tres muestras para obtener una rentabilidad fiable. Otra forma de mejorar el rendimiento de la microscopía es el uso de métodos específicos de recuperación de lavas, como el método de Baermann, Harada-Mori o cultivo en carbón o placa de agar, más laborioso. Las técnicas de concentración de las heces (formol-éter), son menos sensibles en la detección de este patógeno [15,77,78].

Los ensayos serológicos clásicos (incluidos los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), test de inmunofluorescencia (IFAT) y sistemas de inmunoprecipitación de luciferasa [LIPS]), detectan la respuesta IgG del huésped contra el antígeno (Ag) crudo de larva filariforme L3. Son más sensibles que los métodos de detección de heces (>90 %), especialmente en zonas no endémicas o viajeros sin contacto previo con la infección. Sin embargo, su especificidad es subóptima en regiones con elevada carga de parasitosis debido a la posibilidad de reacciones serológicas cruzadas con otras parasitosis (especialmente filarias, pero también otros helmintos como *Ascaris* o uncinarias), provocando resultados falsamente positivos [79–81]. De hecho, un estudio reciente realizado en embarazadas en Iquitos utilizando IgG ELISA de Ag crudo, encontró una especificidad de tan solo el 70 % en esta zona endémica [59].

Otro inconveniente de la serología surge en los pacientes inmunosuprimidos con respuestas humorales débiles, puesto que esto disminuye la sensibilidad de la prueba, con posibilidad de resultados falsamente negativos [33]. En estos pacientes, los algoritmos de diagnóstico recomiendan todavía más fervientemente la combinación de la serología con la confirmación parasitológica o molecular para garantizar una sensibilidad diagnóstica adecuada, manteniendo la especificidad. Aunque se ha visto que el nivel de anticuerpos disminuye de forma progresiva tras el tratamiento, estos pueden permanecer positivos durante meses, por lo que la serología no es útil como método de confirmatorio de cura tras el tratamiento. Además, no siempre permite diferenciar entre infección activa o pasada [82].

La fortaleza de la serología, por tanto, radica principalmente en su alto valor predictivo negativo para descartar la infección en población inmunocompetente en la fase crónica de la infección, o ayudar a su confirmación en personas sin contacto previo con parasitosis endémicas.

Recientemente, se han empezado a realizar estudios con antígenos larvarios recombinantes (principalmente NIE y/o SsIR), en lugar de antígeno crudo, dado que su fabricación es menos laboriosa y aumentan la especificidad de la prueba al reducir las reacciones cruzadas [33]. En los últimos años se están desarrollando técnicas de inmunocromatografía (ICT) rápida para detección de antígenos de *S. stercoralis*, con dispositivos portátiles, más fáciles de utilizar y de menor coste, especialmente útiles para su uso en terreno sin personal entrenado (*point-of-care*) [83,84]. Algunos ICT de antígenos recombinantes, como el Strongy Detect de Inbios [85,86], ya han sido validados de forma previa a su comercialización, aunque todavía no están disponibles para uso clínico rutinario. Sin embargo, el problema de la sensibilidad subóptima en inmunodeprimidos no ha sido resuelta con este método, por lo que se debe seguir usando un diagnóstico combinado en estos pacientes [87].

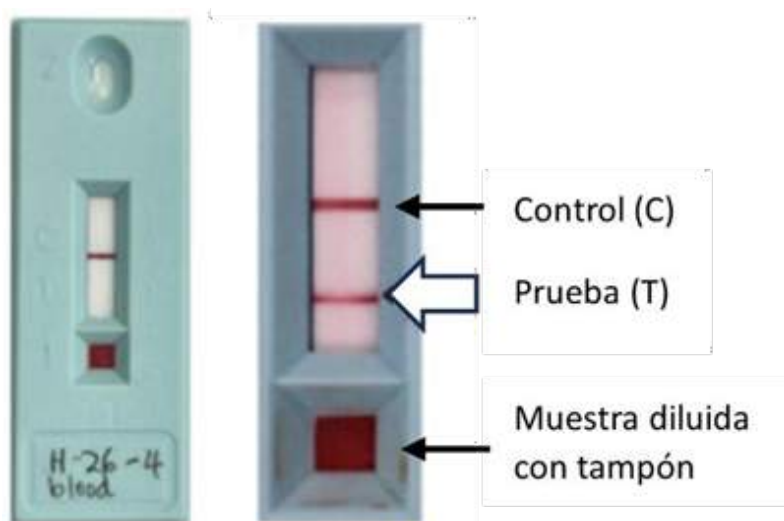


Figura 1.7: Test tipo cassette para *S. stercoralis*, con resultado negativo (izquierda) y positivo (derecha). Fuente: Noordin et al., 2022 [88]

Las técnicas moleculares, en especial los ensayos basados en PCR realizada en heces, ofrecen alta sensibilidad y especificidad para detectar cargas parasitarias bajas [89], pero su implementación clínica generalizada sigue limitada por la falta de estandarización, su sensibilidad variable (del 38 al 95% en estudios, dependiendo del contexto epidemiológico, la población o el comparador) y la posibilidad de que haya inhibidores de la reacción PCR en las heces [90–93]. Por

otra parte, el mayor coste y la necesidad de contar con cierta infraestructura en el laboratorio, hace que ésta sea una técnica poco implementada en zonas endémicas con pocos recursos [94]. A este nivel, la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), un método de amplificación de ADN rápido y visual, con sensibilidad y especificidad similares o superiores a la PCR convencional, es más adecuado para estos entornos. Futuras investigaciones deberían combinarlo con sistemas cerrados de extracción y detección para reducir la contaminación y los falsos positivos [95]. La positividad de la PCR disminuye de forma progresiva tras el tratamiento, pudiendo tener un papel en el control post-tratamiento [89].

Dado que cada técnica (parasitológica, inmunológica y molecular) presenta sus ventajas e inconvenientes, ninguna debe utilizarse como prueba diagnóstica independiente.



Figura 1.8: Calle sin asfaltar en Iquitos. Fuente: propia

Tabla 1.2: Características de los principales métodos diagnósticos para *S. stercoralis* [96-98]

Método diagnóstico	Sensibilidad	Especificidad	Comentarios
Microscopía directa (frotis de heces)	25-50 %	100 %	Baja sensibilidad. Requiere múltiples muestras (carga baja e intermitente)
Métodos de concentración (formol-Éter)	48-55 %	100 %	Sensibilidad moderada. Proceso laborioso (carga baja e intermitente)
Técnica modificada de Baermann	70-75 %	99.7-100 %	Requiere heces frescas. Procesamiento manual
Cultivo en agar	89-95 %	99.7-100 %	Puede contaminarse por hongos. Requiere incubación. Disponibilidad limitada
Cultivo en carbón	38-50 %	99.7-100 %	Menor sensibilidad que en agar. Requiere incubación
Técnica de Harada-Mori	24-45 %	99.7-100 %	Baja sensibilidad. Requiere incubación. Disponibilidad limitada
Pruebas serológicas (ELISA, IFAT, LIPS)	70-98 % (técnica-dependiente)	74-100 % (reacciones cruzadas)	Alta sensibilidad en inmunocompetentes. Reactividad cruzada (filaria, ascariasis...). Descenso lento tras tratamiento. Barreras logísticas [40,99,100]
Técnicas Moleculares (PCR, LAMP)	38-95 % (variable)	95-100 %	Alta especificidad, sensibilidad variable (falta de estandarización, variabilidad geográfica de las cepas, posible inhibición). Barreras logísticas (menores en LAMP). Alto coste. [96,100]

1.2.5. Otros helmintos intestinales

Las geohelmintiasis intestinales producidas por otros nemátodos se transmiten generalmente por vía fecal-oral, a través de la ingestión de huevos o larvas presentes en agua o alimentos contaminados (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*...), a excepción de las uncinarias *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, que penetran a través de la piel, como *S. stercoralis* [101]. *Enterobius vermicularis* puede transmitirse por autoinoculación y dispersión de huevos en el ambiente domiciliario [102]. El cuadro clínico depende de la especie parasitaria y de la carga infectante. Si bien muchas infecciones son asintomáticas, otras pueden producir dolor abdominal, diarrea, anemia ferropénica (especialmente la anquilostomiasis), desnutrición o retraso en el crecimiento en poblaciones pediátricas [103]. En personas con infección por VIH, la inmunosupresión se asocia con mayor persistencia, intensidad sintomática y carga parasitaria, aunque, a diferencia de *S. stercoralis*, no suelen producir infecciones diseminadas [25].

En los departamentos de las regiones amazónicas se estima un mayor porcentaje de otros geohelmintos que en zonas de montaña o costa, a pesar de ser áreas menos representadas en los estudios. En una publicación de 2013 [104], donde se compararon tasas de geohelmintiasis entre población indígena y no indígena en la Amazonia peruana, se describen prevalencias el doble de elevadas en personas indígenas (70 % vs 31 %). En el Perú, solo se ha reportado un estudio de prevalencia de parasitosis a nivel nacional [53]. Esta revisión sistemática está realizada con datos poblacionales del Sistema de Información en Salud del Ministerio de Salud desde el 2010 hasta el 2017. La prevalencia nacional de geohelmintos en 2017 fue del 3.3 %. Sin embargo, el Departamento de Loreto destacó por tener la mayor prevalencia de helmintos del país (12.8 %), seguido de otras zonas de selva. A pesar de que el 70 % de las regiones han experimentado un descenso de la carga parasitaria desde 2010 gracias a programas de tratamiento antiparasitario en masa, Loreto sigue teniendo una prevalencia relativamente estable. El parásito más aislado a nivel nacional fue *A. lumbricoides* (0.3 % en el Perú y 2.4 % en Loreto). *T. trichiura* y uncinarias fueron menos frecuentes, probablemente por las medidas de desparasitación citadas. Este estudio tiene limitaciones: solo se utilizaron técnicas microbiológicas convencionales, se realizó en centros de salud, menos accesible para población rural, y en población general, por lo que estos datos pueden estar infraestimados.

La elevada carga de parasitosis intestinales a nivel global se ha relacionado con algunos factores de riesgo comunes: bajo nivel socioeconómico y cultural (inadecuado conocimiento sobre transmisión y métodos de prevención), además de con acceso limitado al agua potable, mala higiene personal, deficiente saneamiento ambiental y mala conservación de los alimentos, más frecuentes en comunidades rurales y que afectan de forma más acusada a la presencia de geohelminos que a la de otros parásitos intestinales [104]. Los niños y los inmunosuprimidos también son más vulnerables a la adquisición de parasitosis en términos generales.

El diagnóstico de geohelminos distintos a *S. stercoralis* se fundamenta, en gran medida, en la identificación de huevos en muestras de heces mediante técnicas coproparasitológicas como la de Kato-Katz. Éste tiene una sensibilidad adecuada para detectar infecciones moderadas y altas (74–95%), especialmente de *A. lumbricoides*, en huevos por gramo de heces, siendo una técnica estandarizada y reproducible, por lo que se mantiene como método recomendado, especialmente en zonas de bajos recursos [105]. Sin embargo, presenta limitaciones en la detección de infecciones de baja carga, particularmente en el caso de uncinarias, debido a la rápida desintegración de sus huevos tras la preparación de la lámina. Esto ha llevado a la exploración de métodos alternativos, como las técnicas de concentración por éter, flotación o sedimentación, que, aunque más laboriosas, incrementan la sensibilidad, particularmente en escenarios post-intervención, donde hay menos carga parasitaria. Como en el caso de *S. stercoralis*, la visualización de múltiples muestras aumenta la sensibilidad [106,107].

En los últimos años, las técnicas moleculares como la PCR han emergido como herramientas de alta sensibilidad y especificidad para la detección de helmintos intestinales, permitiendo identificar infecciones de baja intensidad y distinguir especies morfológicamente similares. No obstante, las limitaciones previamente comentadas restringen su aplicabilidad en estudios de campo en regiones endémicas con recursos limitados [76,108].

El tratamiento habitual incluye antihelmínticos de amplio espectro, como albendazol o mebendazol, mientras que las medidas preventivas se basan en la mejora de las condiciones de saneamiento, la higiene personal y la desparasitación periódica en comunidades de áreas endémicas [109].

1.3. Protozoos intestinales

1.3.1. Aspectos generales de la infección

La carga global de protozoos intestinales (*Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica* y protozoos productores de esporas: *Cryptosporidium spp.*, *Cyclospora cayetanensis*, *Cystoisospora belli* y *Microsporidia*) podría ser incluso mayor a la de geohelminthos (**Tabla 1.3**) [110]. En los últimos años, *Blastocystis spp.* ha emergido como agente de interés, debido a su alta frecuencia y patogenia controvertida) [111].

Los protozoos son responsables de un porcentaje destacable de diarreas agudas y crónicas en regiones con condiciones sanitarias deficientes, además de casos esporádicos en países industrializados [112]. Se transmiten de manera feco-oral, a través de la ingestión de quistes presentes en agua o alimentos contaminados [113], o por contacto directo persona a persona, especialmente en entornos con alta densidad poblacional, deficientes prácticas higiénicas o prácticas sexuales oro-anales [114]. La infección por VIH podría ser un factor de riesgo para la parasitosis por protozoos. En estudios observacionales, los pacientes con cargas virales elevadas parecen tener más prevalencia de protozoos intestinales de forma significativa, así como aquellos de edades extremas, vivienda en una zona rural o consumo de agua no potable [115,116]. Además, la inmunosupresión celular por VIH avanzado o trasplante de órgano parece relacionarse con mayor gravedad de la infección por protozoos, especialmente en casos de protozoos productores de esporas [117].

La detección de protozoos intestinales sigue basándose en el examen microscópico de heces para encontrar quistes o trofozoítos. Las técnicas más utilizadas son el examen en fresco (con solución salina o yodo lugol) y las técnicas de concentración por flotación (sulfato de zinc) o sedimentación (formol-éter), que aumentan la sensibilidad para detectar quistes y trofozoítos en muestras con baja carga parasitaria [122].

Los ensayos de ELISA para antígenos facilitan la detección de protozoos en grandes series de muestras y su aplicación en estudios de prevalencia.

Tabla 1.3: Prevalencia global y distribución regional de los principales protozoos intestinales

Protozoo	Prevalencia global	Distribución regional
<i>Cryptosporidium spp.</i>	64 – 500 millones [29,31]	Sobre todo en México, Nigeria, Bangladesh y Corea. 7% en Sudamérica, con más datos en Brasil y Colombia. Muy relacionado con niños e inmunosuprimidos, por lo que las incidencias son muy heterogéneas.
<i>Giardia duodenalis</i>	200 millones [29,36,118]	Predomina en Asia, con un 25% de prevalencia general en Latinoamérica (sobre todo Venezuela, Colombia y México)
<i>Entamoeba histolytica</i>	104 millones [29]	Mayor prevalencia (500 millones) si no se diferencia entre <i>E. histolytica/dispar</i> [119]
<i>Blastocystis spp.</i>	1 billón [36]	El protozoo más ampliamente distribuido (1-5% en países de alta renta y 30-60% en países de baja renta de climas cálidos [120,121]. En Latinoamérica hasta en un 61,6% en adultos sintomáticos, y 41,6% sin clínica

Como en la infección por *S. stercoralis*, el desarrollo de pruebas rápidas de antígenos mediante ICT ha representado un gran avance para la detección de algunos protozoos como *Cryptosporidium spp.*, *Giardia duodenalis* o *Entamoeba histolytica/dispar* [123]. Existen test rápidos combinados para estos tres parásitos, con tiempos de procesamiento cortos, siendo especialmente útiles en contextos clínicos y estudios epidemiológicos donde se requiere un diagnóstico rápido. Su sensibilidad y especificidad, aunque altas, pueden ser inferiores a la de métodos moleculares y no cuantifican la carga parasitaria [124]. Por tanto, estas técnicas pioneras todavía precisan de más estudios para poder situarlas de forma correcta en el algoritmo diagnóstico de los protozoos intestinales.

Casa	Nombre	Test	Sensibilidad	Especificidad	Observaciones
Ceritest	CERTEST Crypto-Giardia Combo Card	ICT	> 97% ^a	> 99% ^b	Identifica Entamoeba spp.
Biopharma	RIDA [®] QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi	ICT	Cry 83% ^a Gia 92% Ent 85%	Cry 93% ^b Gia 99% Ent 87%	Identifica Entamoeba spp.
TechLab	TRI-COMBO PARASITE SCREEN	EIA	97,8% ^a	97,8% ^b	Identifica <i>E. histolytica</i>
Meridian	ImmunoCard STAT [®] CGE	ICT	Cry 80% ^a Gia 92% ^b Ent 75% ^c	Cry 97% ^b Gia 99% ^c Ent 90% ^d	Identifica <i>E. histolytica</i>

Figura 1.9: Rentabilidad diagnóstica de los test combinados (*Giardia-Cryptosporidium-Entamoeba*). Fuente: Rojo-Marcos et al. [125]

Las técnicas moleculares han demostrado ser las herramientas más sensibles y específicas para la identificación de protozoos intestinales, permitiendo la detección de infecciones subclínicas, la diferenciación de subtipos y la detección simultánea de múltiples parásitos en una sola técnica de PCR. [126,127]. Los inconvenientes son comunes a aquellos presentados para geohelminintos [108].

Albendazol tiene una eficacia limitada para los protozoos, contra los que se suele utilizar metronidazol, tinidazol o nitazoxanida, siendo en ocasiones necesaria la adición de un fármaco que elimine los quistes luminales (paromomicina), para evitar la recurrencia de la infección [31].

1.3.2. *Cryptosporidium* spp.

La criptosporidiosis es una infección protozoaria causada por parásitos del género *Cryptosporidium*, siendo *C. hominis* y *C. parvum* las especies más implicadas en las infecciones humanas [128].

La transmisión se produce por la ingestión de ooquistes esporulados presentes en agua o alimentos contaminados, así como por contacto directo con personas o animales infectados [129]. Los ooquistes son altamente resistentes a condiciones ambientales adversas y a desinfectantes comunes, incluido el cloro a concentraciones habituales en sistemas de agua potable, lo que facilita la ocurrencia de brotes epidémicos [130].

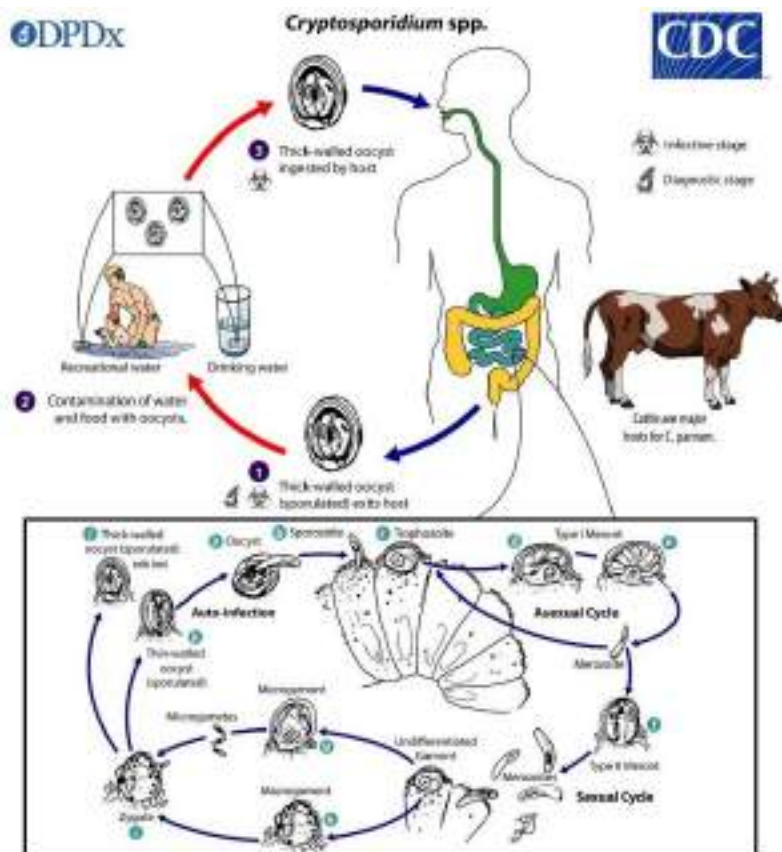


Figura 1.10: Ciclo biológico del parásito *Cryptosporidium spp.* Fuente: CDC.
Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/cryptosporidiosis/index.html>

Cryptosporidium spp. se está posicionando como una de las principales causas de diarrea moderada-severa en países de baja renta (20% de los episodios, segunda causa de muerte por diarrea en menores de 2 años). En países de alta renta podría causar hasta el 9% de los episodios diarreicos. Además, es el parásito más aislado en el huésped inmunosuprimido, seguido de *Cyclospora cayetanensis* y *Cystoisospora belli* [128,129,131].

En Perú, la mayoría de los estudios disponibles corresponden a cohortes comunitarias en población infantil realizadas en Lima y Loreto, con una prevalencia general estimada del 6-10% [132,133]. En pacientes con infección por VIH, dos estudios hechos en Lima han reportado prevalencias de hasta un 20%, situando a *Cryptosporidium spp.* como el protozoo más frecuentemente identificado y un agente etiológico relevante de diarrea en este grupo [134–136]. La información poblacional en adultos y en pacientes con VIH es escasa, sin investigaciones en Iquitos.

Cryptosporidium spp. se suele presentar de manera asintomática o con una diarrea acuosa de diversa gravedad, autolimitada en individuos

inmunocompetentes. Sin embargo, en pacientes inmunodeprimidos — particularmente personas con SIDA— puede afectar a secciones más proximales del intestino delgado, aumentando el volumen y la severidad de la diarrea, o manifestarse como diarrea crónica, con malabsorción y pérdida de peso, llegando a ser potencialmente mortal [129,137,138].

El riesgo de adquisición de *Cryptosporidium spp.* está relacionado con el consumo de agua no tratada, exposición a aguas recreativas (primera causa de brotes en piscinas seguido de *Giardia duodenalis*), el saneamiento inadecuado y la convivencia con animales domésticos o de granja [139,140]. La población más susceptible son los menores de dos años, inmunodeprimidos, personas que tienen contacto con animales, viajeros que regresan del extranjero o aquellos hombres que practican sexo con hombres [129].

La gravedad de la infección está determinada por el estado inmunitario del huésped, en especial de la respuesta celular. Los pacientes con inmunodeficiencia de células T son los de mayor riesgo, incluidos aquellos con infección con VIH con recuentos bajos de linfocitos CD4 (<100 células/ μ L) [137], neoplasias hematológicas (en particular niños con leucemia aguda), deficiencias primarias de células T como la inmunodeficiencia combinada grave o la deficiencia del ligando CD40 (hiper IgM) [129]. En este grupo, la respuesta al tratamiento específico es limitada, siendo el control de la inmunosupresión subyacente la medida más eficaz [141].

Los ooquistes de *Cryptosporidium spp.* no se tiñen adecuadamente con métodos convencionales como el yodo lugol, requiriendo técnicas especiales como la tinción de Kinyoun o la de Ziehl-Neelsen modificada, que permite visualizar los ooquistes como estructuras rojo-cereza contra un fondo azul claro [142]. Esta técnica es específica (>90%), pero precisa de cierto entrenamiento y tiene una sensibilidad limitada en infecciones de baja carga (llegando a valores del 50%), por lo que se recomienda concentrar la muestra mediante sedimentación o flotación antes de la tinción, analizar varias muestras de heces o usar varias técnicas para aumentar la probabilidad de detección [143]. La tinción con auramina es una alternativa, igual que los métodos de inmunofluorescencia directa con anticuerpos conjugados con fluorocromos, que mejoran la sensibilidad y especificidad del diagnóstico, aunque requieren un equipo más especializado [144].

El tratamiento de elección en inmunocompetentes es la administración de nitazoxanida, que acorta la duración de la diarrea. En el caso de los PVV, la terapia

antirretroviral efectiva constituye la medida más importante, complementada con el tratamiento sintomático y la nitazoxanida. Las medidas preventivas incluyen la mejora de la calidad del agua, el saneamiento, la higiene personal y el control de fuentes zoonóticas [145].

1.3.3. *Giardia duodenalis*

Tradicionalmente conocida como *Giardia lamblia*, es un protozoo flagelado muy prevalente a nivel global. Se transmite por ingestión de quistes en agua o alimentos contaminados y por contacto persona a persona (guarderías, comunidades cerradas), dado que sus quistes pueden resistir semanas, incluso en agua fría [146].

El trofozoíto se fija al epitelio del duodeno y yeyuno, provocando daño mecánico y atrofia de las microvellosidades, alterándose la absorción de grasas y carbohidratos, y la disminución de las enzimas disacaridasas (particularmente lactasa), sin invasión mucosa ni producción de úlceras. Como clínica principal, causa diarrea acuosa o pastosa, esteatorrea, flatulencia, náuseas y malestar epigástrico, con malabsorción y pérdida ponderal [147].

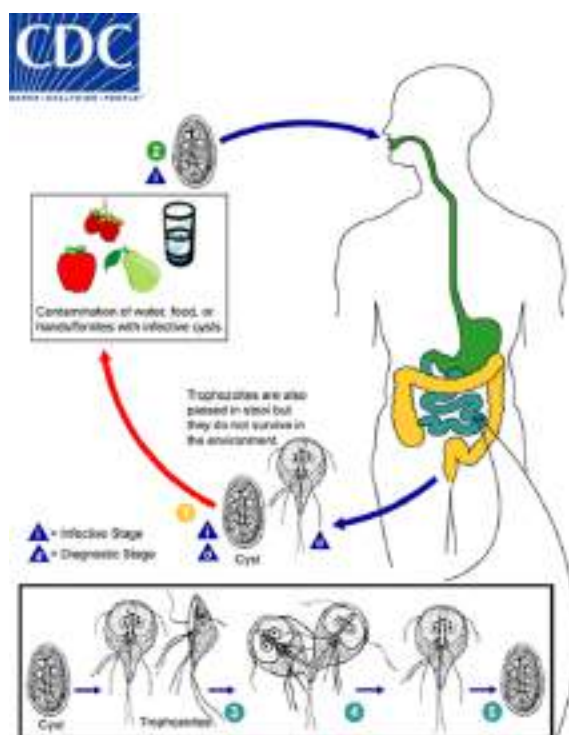


Figura 1.11: Ciclo biológico del parásito *Giardia duodenalis*. Fuente: CDC.
Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>

Giardia duodenalis podría ser el protozoo más frecuente en el Perú, con una prevalencia del 3 al 50 %, predominando en zonas costeras, rurales y en población infantil [132]. En cuanto a la Amazonia peruana, hay escasos estudios. Uno de los más relevantes comparó la prevalencia de protozoos en el Hospital Militar de Iquitos y el Hospital Regional de Loreto, siendo elevada en ambos, pero mayor en el primero (15 % vs 4.8 %) [148]. En zonas rurales de selva se describen prevalencias en torno al 20 % [149,150]. Según estos estudios, la infección por *Giardia duodenalis* podría ser más frecuente en personas con VIH que en la población general, aunque el aumento no siempre es de gran magnitud y varía según la región y el estado de inmunosupresión [151]. En Iquitos no se han encontrado estudios en esta población.

La prueba rápida de antígeno (ICT), comentada con anterioridad, parece presentar la mejor combinación de sensibilidad/especificidad para *Giardia duodenalis* [124], comparado con *Cryptosporidium spp.* y *Entamoeba histolytica/dispar*.

El fármaco de elección es el metronidazol o tinidazol, con altas tasas de curación y buena tolerancia [152].

1.3.4. *Entamoeba histolytica*

Entamoeba histolytica es un protozoo intestinal patógeno que, a diferencia de especies comensales como *Entamoeba dispar* y *Entamoeba moshkovskii*, tiene capacidad de invadir tejidos.

Su ciclo de vida comprende la ingestión de quistes maduros por vía feco-oral, excistación en el intestino delgado y transformación en trofozoítos activos en el colon, que pueden invadir la mucosa intestinal (colitis ulcerativa o disentería) o, en algunos casos, diseminarse por vía hematogena hacia el hígado, generando abscesos. Puede presentarse desde formas asintomáticas hasta cuadros de disentería amebiana con diarrea sanguinolenta, fiebre y, en casos graves, abscesos hepáticos [153]. Además, pueden causar anemia ferropénica, malnutrición y retraso del crecimiento en niños, con disminución de su rendimiento escolar [113].

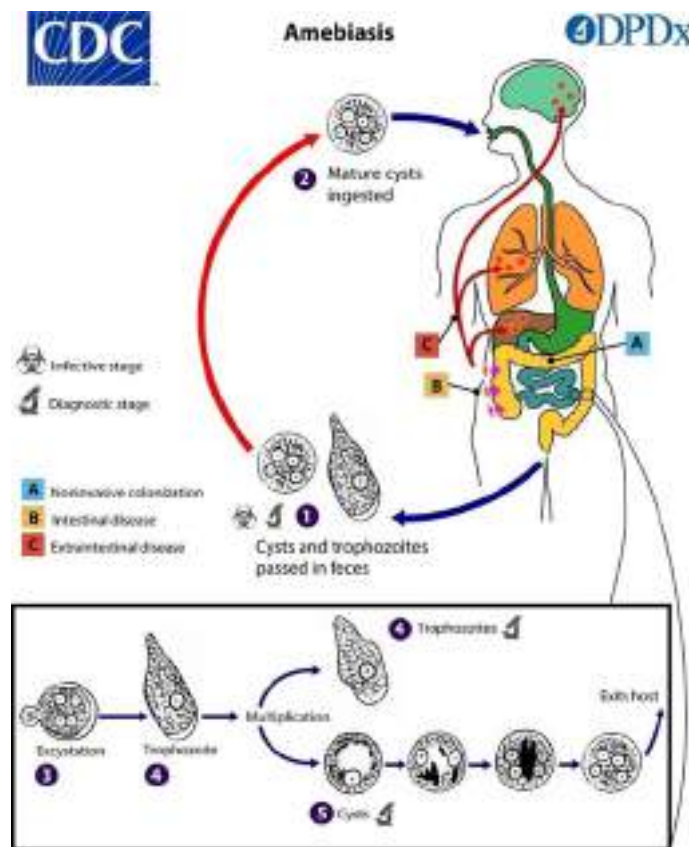


Figura 1.12: Figura 11. Ciclo biológico del parásito *Entamoeba histolytica*.
 Fuente: CDC. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>

Entamoeba histolytica/dispar (utilizamos este término por la incapacidad en la mayoría de estudios de diferenciar la especie patógena de la comensal a nivel microscópico) podría ser el segundo protozoo más aislado en población general en Perú, pero su prevalencia es muy heterogénea, del 4 al 30 % [154], pudiendo estar sobrestimada por la limitación comentada. En Iquitos, se concluyó una prevalencia del 10 % en militares, 4.8 % en el Hospital Regional de Loreto [148] y 24 %, en el sur de la ciudad [155]. En un estudio realizado en el alto Marañón se describen prevalencias en torno al 13 % [150]. En cuanto a la población VIH, en estudios en Lima la prevalencia fue menor que en los protozoos previamente comentados, alrededor del 1.3 % [134]. En Iquitos no se han encontrado estudios relevantes al respecto.

La identificación morfológica de *E. histolytica* al microscopio presenta una sensibilidad menor que las técnicas serológicas y moleculares, con la importante limitación de que *E. histolytica* es morfológicamente indistinguible al microscopio óptico convencional de *E. dispar* [156]. Los test rápidos de antígenos podrían tener una menor especificidad/sensibilidad que para *Giardia duodenalis*, por lo que en

algunos estudios se recomienda combinarlos con otras técnicas si la sospecha es elevada [124]. Las técnicas moleculares sí permiten distinguir entre la especie patógena y las comensales [127].

En la amebiasis invasiva por *Entamoeba histolytica* se recomienda metronidazol seguido de un amebicida intraluminal como paromomicina, con el fin de erradicar los quistes y prevenir recurrencias [157].

1.3.5. *Blastocystis spp.*

Blastocystis hominis o, dada su alta diversidad genética, *Blastocystis spp.*, es un protozoo intestinal anaerobio de distribución mundial (hasta un billón de personas), siendo el parásito más común encontrado en el tracto intestinal de los seres humanos [158,159].

Su ciclo no ha sido descrito en su totalidad, pero hay evidencia de transmisión feco-oral, con posibilidad de contagio por agua o alimentos contaminados, persona-persona y, probablemente, zoonótica [159,160]. Tiene cuatro morfotipos representativos: quístico, granular, ameboide y vacuolar, lo que ha llevado a dificultades para su clasificación, habiendo sido inicialmente confundido con una levadura [121]. Se han definido hasta 26 subtipos diferentes, entre los cuales el ST1, ST2, ST3 y ST4 son los más prevalentes en humanos, causando más del 90 % de infecciones, en especial ST3 [161,162].

Se trata de un parásito cosmopolita, con prevalencias del 1-5% en países de alta renta hasta el 30-60% en países tropicales de baja renta. En el Perú es extremadamente frecuente, con prevalencias de hasta el 92%, especialmente en niños indígenas [121,163,164]. En la zona de Iquitos podría encontrarse en al menos un 25% de la población, aunque los estudios son escasos [150]. En PVV, contamos con el estudio de *Chincha et al.*, hecho en Lima, que estima una prevalencia del 24.6% [163], sin que haya estudios fiables en esta población en Iquitos.

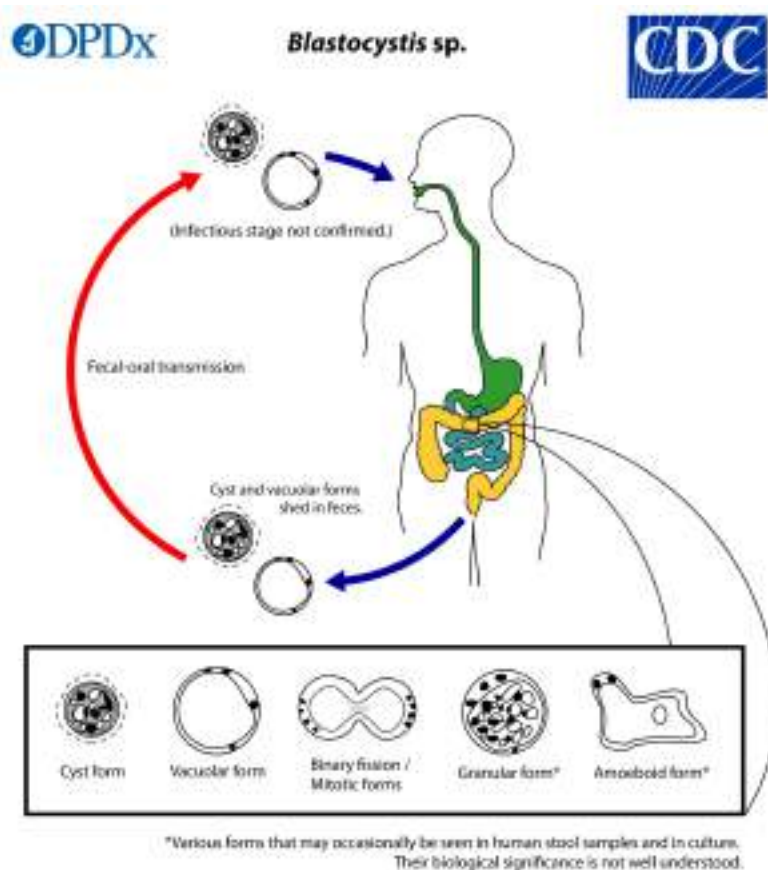


Figura 1.13: Ciclo biológico del parásito *Blastocystis spp.* Fuente: CDC.
Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/blastocystis/index.html>

La patogenicidad de *Blastocystis spp.* es controvertida y, por tanto, la necesidad o no de tratarlo cuando se detecta. Tradicionalmente se ha considerado un protozoo comensal, dado que su clínica es inespecífica y a menudo puede explicarse por otras coparasitaciones, siendo un hallazgo frecuente en individuos asintomáticos y sugiriéndose en algunos estudios que podría relacionarse con una microbiota saludable. Sin embargo, también hay datos clínicos, fenotípicos y genotípicos que cuestionan este hecho. Entre ellos que, a mayor carga parasitaria, mayor frecuencia de sintomatología, que el tratamiento dirigido mejore la sintomatología, y que los subtipos difieran entre individuos sintomáticos y asintomáticos. Esta gran diversidad genética, de hecho, podría ser una de las explicaciones a su comportamiento críptico [121,165].

Aunque en la mayor parte de casos la infección es asintomática, se ha asociado con diarrea y trastornos digestivos como dolor abdominal, náusea o vómitos), llegando incluso a establecer relación entre síndrome de intestino irritable y la presencia de *Blastocystis spp.* Más raramente, podría producir también alteraciones cutáneas tipo urticaria [165].

Algunos de los principales factores de riesgo para la adquisición de *Blastocystis spp.* son el contacto estrecho con animales y las condiciones higiénicas pobres que aumentan la exposición feco-oral [120,162]. Algunos estudios sugieren que los pacientes inmunocomprometidos, incluyendo PVV, presentan mayor susceptibilidad a *Blastocystis spp.*, en especial pacientes con recuentos bajos de CD4+ o elevada carga viral, sugiriéndose un carácter oportunista de la infección [159,165–167]. En otros estudios, sin embargo, no hubo asociación clara [163]. Varios autores han publicado prevalencias mayores en varones que tienen sexo con hombres debido a prácticas sexuales con contacto oro-anal [168].

Se diagnostica por microscopía, cultivo y/o técnicas moleculares, de forma similar a otros protozoos [169,170]. Su tratamiento solo se recomienda en personas sintomáticas sin otro causante de la enfermedad. Algunos fármacos útiles son metronidazol, cotrimoxazol o nitazoxanida [125].

Otros protozoos comensales de escasa patogenicidad (comensales) que pueden ser aislados con métodos similares a *Blastocystis* son *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* o *Iodamoeba bütschlii*. Los dos últimos han sido relacionados de forma ocasional con diarrea y urticaria en niños y pacientes con VIH [171,172]. Además, su presencia puede ser un indicador de contaminación fecal y malas condiciones de higiene o saneamiento comunitario [173].

1.4. Enfermedad de Chagas

1.4.1. Aspectos generales de la infección

La enfermedad de Chagas está causada por el *Trypanosoma cruzi*, cuyo vector es la chinche besucona o “vinchuca” del género *Triatoma infestans*, aunque con creciente importancia de *Rhodius* en la cuenca amazónica. Es endémica en Latinoamérica, principalmente en áreas rurales, donde se estima que hay entre 6 y 8 millones de afectados [174].

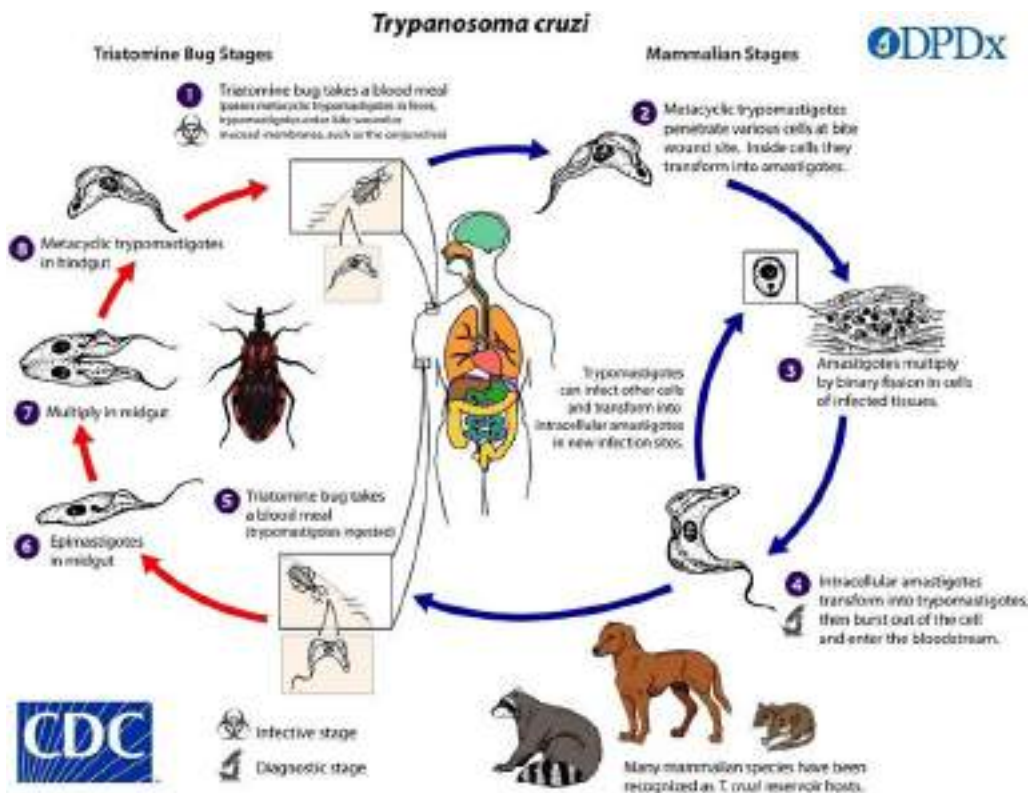


Figura 1.14: Ciclo biológico del parásito *Trypanosoma cruzi*. Fuente: CDC. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>

La principal forma de transmisión es vectorial, a través de la picadura de la chinche, que habita en paredes o techos de las casas de adobe, madera u hojas. También puede ocurrir de manera congénita a través de la vía transplacentaria (5 % aproximadamente), endovenosa, por trasplante de órganos (especialmente el cardíaco) y, en menor medida, oral (por la ingesta de fragmentos del parásito en zumos o alimentos contaminados) [175].

La fase aguda de la enfermedad de Chagas se da en la primera o segunda semana tras la picadura de la chinche y dura unas ocho semanas. Suele ser asintomática, aunque en un pequeño porcentaje de casos aparecen síntomas inespecíficos como fiebre, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia o el característico signo de Romaña, un edema periorbitario y conjuntival unilateral por la picadura de la chinche en la zona ocular [176,177]. En menos del 10 % de los casos sintomáticos se desarrollan formas graves de la enfermedad (miocarditis o meningoencefalitis), aunque éstas podrían ser más frecuentes en infecciones adquiridas por vía oral. El tratamiento antiparasitario en la fase aguda permite la curación en hasta el 85 % de los pacientes [175].

La mayoría de los pacientes pasarán por una fase asintomática indeterminada, que puede durar años. Un 30% de ellos progresarán hacia la forma crónica, desarrollando cardiomiopatía chagásica (la principal causa de mortalidad) o enfermedad digestiva. Es en esta fase crónica en la que se suele diagnosticar la enfermedad [178].

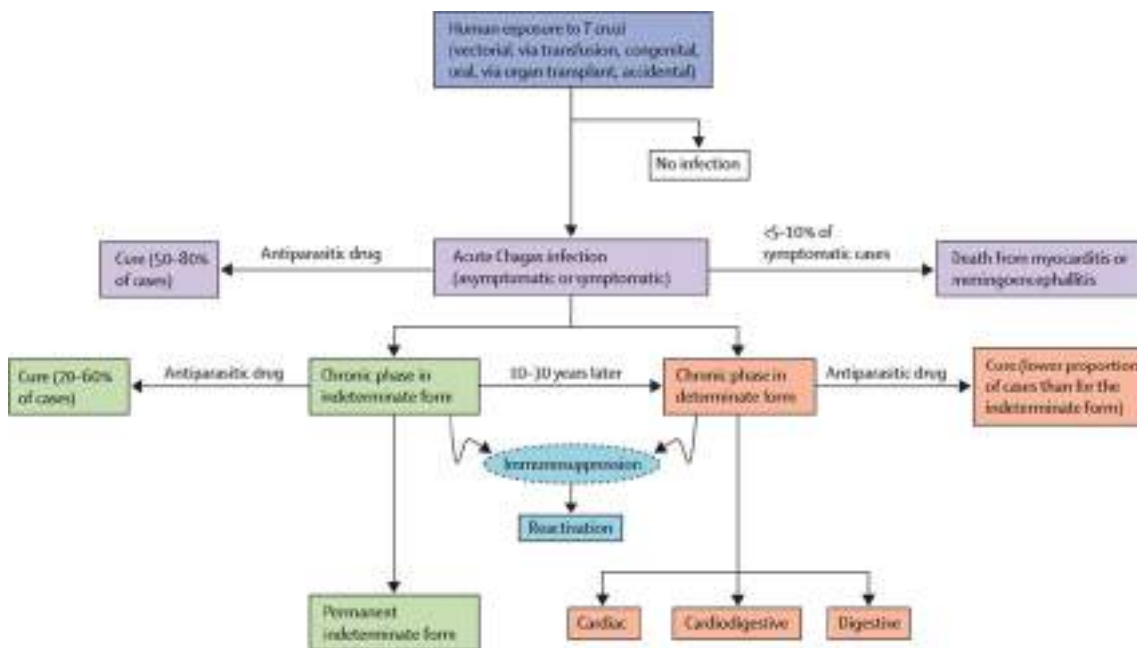


Figura 1.15: Historia natural de la enfermedad de Chagas. Fuente: Rassi et al. [177]

El diagnóstico depende de la fase clínica, aunque habitualmente es serológico, con necesidad de dos test positivos para un resultado positivo concluyente, siguiendo las directrices de la OMS [174]. Se detallará en el apartado específico.

El tratamiento antiparasitario está indicado en la mayoría de los pacientes infectados por *Trypanosoma cruzi*, con el objetivo de eliminar o reducir la parasitemia, prevenir la progresión de la enfermedad y evitar la transmisión. Los fármacos de elección son benznidazol (5-10 mg/kg/día en dos tomas) y nifurtimox (10-15 mg/kg/día en tres tomas), administrados por vía oral durante una media de 60 días, siendo el benznidazol el tratamiento de primera línea en la mayoría de los casos [179]. El mejor rendimiento se da en los casos agudos, donde suele curar la infección, en niños y adultos menores de 50 años sin afectación cardíaca y en mujeres de edad fértil, para disminuir la transmisión vertical. Sin embargo, dados los efectos secundarios cutáneos y digestivos frecuentes, y al menor rendimiento de la medicación, se debe individualizar su indicación en

mayores de 50 años con afectación cardíaca crónica y en pacientes con cardiopatía chagásica avanzada [174].

1.4.2. Epidemiología en el Perú

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana afecta típicamente a personas viviendo en Centroamérica o América del Sur, con una mayor incidencia en el cono sur (Bolivia, Argentina, Paraguay), debido a la distribución del vector. No obstante, los movimientos migratorios lo han expandido a regiones no endémicas donde los pacientes suelen acudir en fase indeterminada o con síntomas crónicos de la infección [175].

En el Perú podrían existir entre 650.000-680.000 infectados por *T. cruzi* (prevalencia del 1-2 %), aunque no existen estudios con muestras representativas ni sobre la distribución del vector [180]. En un estudio en donantes de sangre en Lima, la prevalencia de la enfermedad fue del 0.14 %, con un 1.27 % de resultados indeterminados [181]. Los estudios puntuales a nivel regional o local indican que la infección humana se localiza preferentemente en la región sudoccidental (Arequipa, Moquegua, Ica), donde la prevalencia ha disminuido notablemente en los últimos años por el cambio de las viviendas de adobe a las de cemento y las campañas de erradicación del vector mediante métodos químicos [182]. En la región norte (Libertad, Lambayeque, Piura y Tumbes) y la región nororiental (Cajamarca, Amazonas, San Martín y Loreto) también se ha descrito la enfermedad y la presencia del vector [180]. En el Departamento de Loreto se ha descrito la presencia del vector (*Rhodius* predominantemente) [183] y de *Trypanosoma cruzi* [184], siendo considerada una infección endémica en la cuenca amazónica. Aunque la seroprevalencia en los estudios poblacionales es baja (entre 0 y 1.2 %) [60,185–187], se han descrito al menos seis casos agudos graves en niños en los últimos años [188–190], que podrían estar relacionados con una transmisión oral de la enfermedad por contacto peri-domiciliario con el vector [191].

En la Amazonia peruana no hay datos fiables de seroprevalencia de la EC en PVV. En la literatura se describe una prevalencia en estos pacientes en países endémicos (Argentina, Brasil, Bolivia), de entre el 1-28 %, pudiendo reflejar la prevalencia observada en la población sin VIH en riesgo en el lugar [18,192]. Sin embargo, en un estudio en Argentina, la población con VIH demostró una seroprevalencia de *T. cruzi* mayor que la general (4.2 % vs 2 %) [193].

1.4.3. Factores de riesgo de adquisición y gravedad

La enfermedad de Chagas está tradicionalmente ligada a zonas rurales con pobres condiciones sanitarias y casas de materiales pobres como el adobe. No obstante, el vector parece estar modificando su hábitat con el calentamiento global y la urbanización de sus territorios tradicionales [175].

Aunque la infección por VIH no parece asociarse en sí mismo a una mayor frecuencia de adquisición de la enfermedad, ésta sí podría darse por las condiciones de vulnerabilidad a las que se exponen, dados los resultados de algunos estudios. Como factor de riesgo adicional, el consumo de drogas por vía intravenosa se postula como una vía de transmisión de la infección en aumento en zonas urbanas, siendo las PVV un colectivo de riesgo para su adquisición [193].

La enfermedad por reactivación de *T. cruzi* en PVV y otras entidades con inmunosupresión (trasplante de órganos, procesos tumorales) está bien descrita. Habitualmente ocurre en pacientes con deterioro del sistema inmune (<200 CD4+ o estadio SIDA) y mal control virológico, pudiendo producirse con mayor frecuencia un proceso grave, como la afectación del sistema nervioso central en un 79 % de los casos (chagomas ocupantes de espacio o meningoencefalitis, considerado una infección oportunista en VIH) o la miocarditis aguda (25 %). El diagnóstico es clave para poder realizar seguimiento y tratamiento de la infección y disminuir así el riesgo de mortalidad, que puede ascender al 75 % [18,194,195].

1.4.4. Diagnóstico parasitológico

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas depende del estadio de la enfermedad:

Fase aguda [177]

- Detección directa del tripanosoma en sangre periférica mediante frotis o gota gruesa, especialmente en las primeras 8 semanas de infección.
- Métodos moleculares (PCR o qPCR), más sensibles que el frotis, permitiendo confirmar casos con baja parasitemia o en inmunosuprimidos.

Aunque la serología puede ser negativa en esta fase inicial, se recomienda realizarla para complementar el diagnóstico y repetirla a las pocas semanas si el

resultado es negativo y la sospecha clínica persiste. En caso de un neonato, solo será útil a partir de los 6-9 meses de edad.

Fase crónica [174,177]

Durante la fase crónica, debido a que la parasitemia es escasa, es necesario detectar la presencia de anticuerpos IgG contra los antígenos de *T. cruzi* mediante al menos dos métodos serológicos diferentes (ELISA, inmunofluorescencia indirecta o hemaglutinación indirecta), para confirmar el diagnóstico. Disponemos de test rápidos (ICT) comercializados que han demostrado ser suficientemente precisos como para recomendar su uso para el tamizaje en áreas endémicas sin acceso a tecnología ELISA [196]. No obstante, la recomendación sigue siendo su confirmación mediante técnica ELISA en caso de un resultado positivo [197].

En caso de resultados discordantes, se indica una tercera prueba o PCR. Ésta podría detectar parasitemia baja, pero su sensibilidad es limitada y no sustituye la serología. La técnica LAMP también detecta ADN del parásito y puede emplearse en entornos con pocos recursos, pero aunque comparte indicaciones con la PCR y, por tanto, no está aprobado por la OMS para el diagnóstico de la infección crónica debido a la baja parasitemia en esta fase [197].

Reactivación aguda (inmunosupresión) [18,198]

En casos con serología positiva, la detección del genoma de *T. cruzi* en sangre o líquido cefalorraquídeo mediante técnica de PCR/LAMP permitiría el diagnóstico de reactivación. Debido a que se trataría de un comportamiento agudo, el frotis también podría dar un resultado positivo.

Debido al mayor riesgo de reactivación de Chagas en personas con SIDA, diversas guías recomiendan cribar a las PVV en zonas endémicas y realizar seguimiento con PCR como marcador precoz de reactivación, lo que permitiría iniciar tratamiento precoz y reducir las complicaciones.

1.5. Infección por el Virus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV)

1.5.1. Aspectos generales de la infección

El virus linfotrópico humano de células T (HTLV, por sus siglas en inglés), fue el primer retrovirus humano identificado. Hasta ahora se han identificado cuatro tipos: HTLV-1, de mayor patogenicidad; HTLV-2, de baja patogenicidad; y los más recientes HTLV-3 y HTLV-4, cuya capacidad de causar enfermedad humana aún no se ha confirmado [199].

Se cree que HTLV puede afectar a 15-20 millones de personas en el mundo. Los focos endémicos de infección están principalmente en Asia (en especial en el suroeste de Japón, Melanesia e Irán), Caribe (sobre todo en las islas Trinidad, Tobago y Jamaica), Sudamérica (Brasil, Colombia, Perú, con menor prevalencia en el cono sur) y África Subsahariana. Su prevalencia aumenta con la edad, en mujeres y grupos de riesgo como usuarios de drogas, donde puede llegar al 20 % [200].

En el continente americano, los tipos HTLV-1 y HTLV-2 parecen haber llegado por diferentes vías evolutivas y/o migratorias. Por una parte, HTLV-1 habría sido introducido mediante el comercio transatlántico de esclavos africanos y la inmigración japonesa temprana, siendo frecuente en países como Colombia, Brasil, Guyana y Perú [201,202].

Por otra parte, HTLV-2 presenta dos patrones epidemiológicos diferentes: uno descrito en Europa en relación con usuarios de drogas intravenosas [203], y otro en Sudamérica, sobre todo en tierras bajas de Perú y Brasil, con mayor prevalencia en comunidades indígenas aisladas de la Amazonia, donde su prevalencia llega al 3 % en determinadas cohortes. Dentro de estas comunidades, se ha relacionado con el sexo femenino, la edad y el uso de drogas inyectables [204]. La prevalencia de la coinfección HIV/HTLV es heterogénea según la región, oscilando desde un 1.5 % a un 11 % en Brasil [205].

Su principal mecanismo de transmisión es la vía vertical, en especial a través de la lactancia materna, por medio de linfocitos infectados presentes en el calostro y la leche. Si se evita la lactancia materna en las madres infectadas por el HTLV-1, se previene su transmisión al niño. Otras vías posibles de contagio son la sexual y la parenteral (drogas inyectables o transfusiones de sangre) [185,206].

La mayoría de los sujetos infectados se comportan como portadores asintomáticos, aunque alrededor de un 5% desarrollan alguna manifestación clínica a lo largo de la vida. Éstas constituyen una causa importante de morbimortalidad [207]. Las más relevantes son el linfoma de células T del adulto y la paraparesia espástica tropical, siendo la segunda la más prevalente en el Perú.

Además, las personas infectadas por HTLV-1 presentan un mayor riesgo de desarrollar enfermedades inflamatorias e infecciosas, como alveolitis, síndrome de Sjögren, uveítis, artropatías, polimiositis, lepra, tuberculosis, escabiosis o dermatitis infecciosa [207,208]. Como se ha mencionado, el estado de portador de la infección por HTLV es un reconocido factor de riesgo para las formas graves de *S. stercoralis*, al favorecer la hiperinfección y la diseminación del parásito [209].

A diferencia del HTLV-1, la patogenicidad del HTLV-2 es baja y solo en ocasiones se ha relacionado con síndromes neurológicos de progresión más lenta [204]. Sin embargo, un estudio de cohortes realizado en Estados Unidos demostró que las personas infectadas con HTLV-2 tienen mayor riesgo de desarrollar diversas enfermedades inflamatorias e infecciosas, así como una tasa de mortalidad más alta que las personas seronegativas [210]. Otro equipo investigador publicó una asociación entre HTLV-2 y neumonía entre usuarios de drogas por vía parenteral [211].

Aunque las evidencias al respecto siguen siendo anecdóticas dado el escaso número de estudios, debería reevaluarse el posible impacto del HTLV-2 en las áreas endémicas. Por tanto, mientras HTLV-1 requiere estrategias activas de tamizaje y control por su impacto sanitario directo, HTLV-2 podría representar un marcador de transmisión endémica y movilidad poblacional, con implicaciones antropológicas y epidemiológicas. De hecho, en algunos estudios, se ha visto una transición del predominio de HTLV-2 a HTLV-1, reflejando variaciones en las prácticas de riesgo y en la dinámica viral local [212].

El diagnóstico de HTLV se realiza mediante pruebas serológicas iniciales (ELISA), confirmadas por Western blot o PCR [213], y se discutirá con mayor profundidad en el apartado correspondiente.

No existe tratamiento antiviral específico; la atención se centra en el manejo de las complicaciones clínicas y enfermedades asociadas. La prevención incluye tamizaje en donaciones de sangre, uso de barreras sexuales y evitar la transmisión vertical por lactancia materna en madres infectadas [207].

1.5.2. Epidemiología en el Perú

En el Perú, los estudios de prevalencia disponibles son limitados, abarcando únicamente ciertas regiones y poblaciones. Las escasas investigaciones que hay estiman que entre el 1.3% y el 4.8% de la población general podría estar infectada por HTLV-1/2, con mayor porcentaje en zonas andinas (3-5%) que en la costa, a excepción de Lima (por la alta migración) y la cuenca amazónica (1-5%) [202,214,215]. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha señalado que no existen datos nacionales fiables sobre la prevalencia del HTLV en el Perú [216].

Aunque en muchos estudios no se hace la diferenciación entre HTLV-1 y 2, el primero predomina en el Perú (hasta el 98,4%) [216], especialmente en las zonas de sierra del sureste (poblaciones quechua y aimara) [202], y los indígenas amazónicos (tribu Shipibo-Konibo, Kayapó...), con prevalencias del 5.7% [201]. HTLV-2 se ha aislado predominantemente entre indígenas de la Amazonia peruana, entre ellos la tribu mencionada, donde la prevalencia, del 1 al 4%, casi alcanza la de HTLV-1 [217,218].

En otras comunidades amazónicas del Perú y el norte de Brasil, los valores fluctúan entre un 2-8% [205,219–223], alcanzando hasta 18.5% en la etnia Kayapó, donde se ha evidenciado transmisión intrafamiliar [224]. Sin embargo, un estudio realizado en la segunda mayor cohorte de indígenas brasileños en el centro-sur del país (Mato Grosso do Sul) [225], encontró tan solo un 0.1% de positividad, lo que refuerza la hipótesis de una distribución geográfica localizada en la zona fronteriza de Brasil y el Perú.

En áreas urbanas, los casos reportados son más escasos, aunque los movimientos migratorios por los ríos amazónicos (Ucayali, Marañón y Amazonas) y los asentamientos ribereños podrían facilitar la movilización de la infección hacia ciudades como Iquitos. Aquí contamos con pocos análisis: dos estudios observacionales recientes (en población general [60] y en embarazadas [226]), que muestran prevalencias del 1% y 1.7% respectivamente. Sin embargo, la alta proporción de resultados indeterminados en pruebas serológicas subraya la necesidad de confirmación molecular con tipaje del virus y de una interpretación cuidadosa, así como la implementación de programas de tamizaje sistemático para estimar con precisión la carga de enfermedad en esta zona.

En cuanto a la coinfección VIH/HTLV en el Perú, una revisión sistemática que incluyó estudios epidemiológicos publicados entre 1988 y 2010 [227] y otra

realizada en el 2011 [228], reportaron que para ciertas poblaciones (trabajadoras sexuales, hombres que tienen sexo con hombres, varones que viven con VIH y usuarios de drogas), las prevalencias de infección por HTLV-1 fluctuaban entre el 2 y el 25 %. En un estudio en hombres que tenían sexo con hombres, la prevalencia de HTLV-2 osciló del 1 al 8.5 % [229]. En Brasil, la prevalencia de la coinfección por HTLV/VIH varía según la región y el grupo de riesgo, con tasas del 1.3 % al 21 % [230–232]. En Perú, los datos son limitados, sin estudios específicos en PVV en Iquitos.



Figura 1.16: Poblado de la etnia Shipibo Konibo, en Ucayali, Perú. Fuente: Ingeniería sin Fronteras. Recuperada de: <https://www.isf.es/2020/06/29/el-pueblo-shipibo-konibo-uno-de-los-grupos-mas-afectados-por-la-covid19-en-peru/>

1.5.3. Factores de riesgo de adquisición y gravedad

Como se ha comentado, HTLV se ha relacionado con personas que se inyectan drogas por vía intravenosa, realizan prácticas rituales como la escarificación o tienen exposición sexual sin protección (ausencia de uso de preservativo por ausencia de conocimiento o aspectos culturales), especialmente trabajadoras sexuales y hombres que tienen sexo con hombres [218,227]. En la Amazonia, la prevalencia de la infección es mayor en personas maduras, lo que puede reflejar que su transmisión fue favorecida en décadas previas, o en personas con un mayor periodo de exposición y acumulación de factores de riesgo, lo que hipotéticamente podría apoyar la vía de transmisión por vía sexual o parenteral, más que la vertical [233].

En cuanto a la relación de HTLV-1/2 con la infección por VIH, ambos son retrovirus que comparten vías similares de transmisión, por lo que se podría prever una mayor tasa de infección en PVV, consistente con algunos estudios realizados [230,231]. De hecho, hay autores que abogan por evaluar la eficacia de los antirretrovirales usados en la preexposición (PrEP) del VIH para la prevención de la transmisión del HTLV-1 [234].

Por otro lado, los dos virus afectan predominantemente a la inmunidad celular (linfocitos T CD4+), haciendo pensar que la infección por el VIH podría tener un peor pronóstico en personas infectadas con HTLV, y viceversa. Sin embargo, todavía no hay consenso en cuanto a la relación entre ambos. Algunas hipótesis apoyan que la coinfección HTLV/VIH podría alterar la historia natural de ambas infecciones, acelerando la progresión a SIDA y aumentando la susceptibilidad a infecciones oportunistas [235,236]. En un estudio realizado en EEUU durante 9 años, los pacientes coinfectados mostraron más complicaciones neurológicas, trombocitopenia, infecciones urinarias y respiratorias y hepatitis [237]. En otro estudio realizado en el Perú que incluyó pacientes estadio SIDA sin tratamiento antirretroviral, el tiempo de supervivencia fue menor en los que asociaban infección dual VIH/HTLV-1 que en pacientes con mono infección por VIH [218]. No obstante, este aspecto sigue siendo controvertido, porque algunos estudios han objetivado un mayor recuento de CD4 en pacientes con infección por ambos virus, aunque esto no se ha reflejado en una menor tasa de infecciones oportunistas [237,238].

En una revisión sistemática reciente, se postula que la coinfección por VIH y HTLV tipo 2 sí podría tener una asociación neutral o incluso beneficiosa, disminuyendo la mortalidad y la progresión a SIDA [239], algo que no se concluye para el HTLV tipo 1. No obstante, la interpretación de estos resultados está de nuevo limitada por la falta de datos epidemiológicos, de laboratorio y de tratamiento, y la heterogeneidad de los mismos. De todos modos, se aconseja la determinación HTLV en pacientes con infección por VIH para un mejor seguimiento clínico [237].

1.5.4. Diagnóstico viral

El cribado y diagnóstico inicial de la infección por HTLV requiere de la confirmación de anticuerpos específicos frente a HTLV-1/2 en plasma o sangre mediante pruebas serológicas, principalmente ensayos inmunoenzimáticos

(ELISA, inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA)), que presentan alta sensibilidad, aunque no están exentos de reacciones cruzadas. En general, una prueba negativa excluye la infección por el virus, a menos que haya evidencia de una transmisión aguda, en cuyo caso se debe repetir a los 90 días [207].

Un resultado reactivo o indeterminado debe confirmarse mediante una prueba serológica adicional, como el Western blot o el INNO-LIA para HTLV I/II, que cuenta con una mayor sensibilidad y permite diferenciar con mayor seguridad entre infección por HTLV-1 o HTLV-2.

En casos de serología indeterminada o positiva tras dos pruebas serológicas, se realizará una PCR en sangre total, que detectará la presencia de DNA proviral integrado en los linfocitos T CD4+ y CD8+, permitiendo diferenciar el linaje (1a, 1b, 2a y 2b). Dado que la PCR requiere ADN extraído de sangre total o de células mononucleares de sangre periférica, puede ser necesario volver a citar al paciente si se obtuvo una muestra de plasma en la consulta inicial. Dado que la viremia de HTLV es habitualmente muy baja, no es posible detectar RNA viral en plasma, como sí se realiza en el caso del VIH [207].

2

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

La prevalencia de infección por *Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales (*Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, *Entamoeba spp.*), *Trypanosoma cruzi* y HTLV-1/2 en personas que viven con el VIH en la Amazonía peruana es mayor de la reportada en la población no infectada por VIH, debido a la influencia de factores epidemiológicos, clínicos e inmunológicos asociados al VIH.

2.2. Objetivo General

Evaluar la magnitud y las características de las infecciones parasitarias y por HTLV-1/2 en personas que viven con el VIH en la Amazonía peruana, determinando su prevalencia, los factores epidemiológicos, clínicos e inmunológicos asociados y la concordancia entre los distintos métodos diagnósticos utilizados.

2.3. Objetivos Específicos

Objetivo 1

Caracterizar la infección por *Strongyloides stercoralis* en personas que viven con el VIH, mediante la determinación de su prevalencia serológica y parasitológica, así como la descripción de los factores epidemiológicos, clínicos e inmunológicos asociados.

- Otero-Rodriguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Villacorta-Pezo VY, Parráquez-de-la-Cruz J, Clark EH, Merino E, Ramos-Rincon JM. High prevalence of *Strongyloides stercoralis* in people living with HIV: A critical health challenge in the Peruvian Amazon Basin. *PLoS Negl Trop Dis.* 2025;15;19(7):e0013231.

Objetivo 2

Examinar la concordancia diagnóstica entre las técnicas parasitológicas y serológicas empleadas para la detección de *Strongyloides stercoralis*.

- Otero-Rodriguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Villacorta-Pezo VY, Parráquez-de-la-Cruz J, Clark EH, Merino E, Ramos-Rincon JM. High prevalence of *Strongyloides stercoralis* in people living with HIV: A critical health challenge in the Peruvian Amazon Basin. *PLoS Negl Trop Dis.* 2025;15;19(7):e0013231.

Objetivo 3

Describir la presencia de infección por *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.* en personas que viven con el VIH, e identificar los factores epidemiológicos, clínicos e inmunológicos relacionados con su adquisición.

- Otero-Rodriguez S, Pinedo-Cancino V, Casapia-Morales M, Villacorta-Pezo VY, Mego-Campos, S, Parráquez-de-la-Cruz J, Merino E, Clark E.H, Ramos-Rincón JM. Prevalence of Intestinal Protozoa Among Patients Living with HIV in the Peruvian Amazon. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2025;10(11):324.

Objetivo 4

Comparar las técnicas parasitológicas tradicionales con la inmunocromatografía para valorar su concordancia diagnóstica en la detección de *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.*

- Otero-Rodriguez S, Pinedo-Cancino V, Casapia-Morales M, Villacorta-Pezo VY, Mego-Campos, S, Parráquez-de-la-Cruz J, Merino E, Clark E.H, Ramos-Rincón JM. Prevalence of Intestinal Protozoa Among Patients Living with HIV in the Peruvian Amazon. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2025;10(11):324.

Objetivo 5

Cuantificar la prevalencia serológica de infección por *Trypanosoma cruzi* en personas que viven con el VIH.

- Otero-Rodriguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Ramirez LL, Merino E, Clark EH, Ramos- Rincón JM. Screening for *Trypanosoma cruzi* in patients living with the human immunodeficiency virus (PWH) in the Peruvian Amazon. *Travel Med Infect Dis.* 2025; 28;68:102927.

Objetivo 6

Determinar la infección por HTLV-1/2 en la población con VIH y analizar los factores epidemiológicos, clínicos e inmunológicos asociados.

- *Otero-Rodríguez S, Casapia-Morales M, de Mendoza C, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Soriano V, Merino E, Ramos-Rincón JM. High Rate of Human T-Cell Lymphotropic Virus-2 in Patients with HIV in the Peruvian Amazon. Trop Med Infect Dis. 2025;17;10(9):267.*

3

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Diseño y lugar de realización

Se realizó un estudio observacional descriptivo transversal de una cohorte de pacientes con infección por VIH confirmada en seguimiento ambulatorio en alguno de los dos principales hospitales públicos de la ciudad de Iquitos, durante 7 meses (20 de octubre de 2023 al 20 de mayo de 2024):

- Hospital Regional de Loreto “Felipe Santiago Arriola Iglesias” (HRL), que atiende a pacientes de los distritos de Punchana e Iquitos, y es hospital de referencia para todo el Departamento de Salud de Loreto.
- Hospital de Apoyo de Iquitos “César Garayar García” (HAI), que atiende pacientes de los distritos de Belén y San Juan.

El estudio se llevó a cabo mediante un acuerdo colaborativo entre el Hospital Regional de Loreto, Perú, y la Universidad Miguel Hernández de Elche, España.

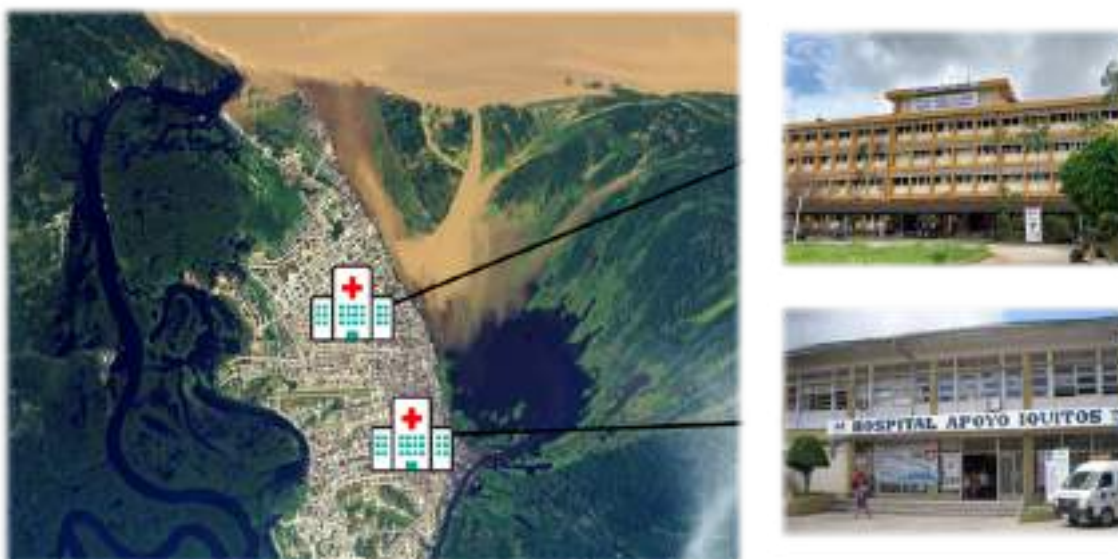


Figura 3.1: Mapa satelital de Iquitos con los dos principales hospitales públicos: Hospital Regional de Loreto (superior) y Hospital de Apoyo de Iquitos (inferior).

Fuente: propia y Amusing Planet, disponible en:

<https://www.amusingplanet.com/2014/08/iquitos-worlds-largest-city-that-cannot.html>

3.2. Sujetos de estudio y criterios de inclusión

Se incluyeron pacientes mayores de 18 años diagnosticados de infección por VIH, independientemente de su estadio, en seguimiento en el HRL o el HAI.

Los participantes se seleccionaron mediante muestreo por conveniencia, es decir, los investigadores acudían a las clínicas TARGA asociadas a cada uno de los dos centros, y las visitas semestrales de seguimiento eran aprovechadas para la inclusión de los pacientes, siempre tras recibir una adecuada información sobre el mismo, leer la Hoja de Información al Paciente (HIP) y firmar el consentimiento informado (**Anexo 1**).

Se excluyó a aquellas personas que ya habían sido incluidas en el estudio, en caso de que volvieran a ser atendidos en la clínica TARGA durante el periodo de reclutamiento.

3.3. Procedimiento

Los participantes fueron informados sobre los objetivos del estudio y su carácter voluntario. Tras firmar el consentimiento informado, fueron incluidos en el estudio y se recogieron variables socioepidemiológicas y clínicas relevantes mediante una entrevista oral semiestructurada. Los datos se registraron en una base de datos Excel anonimizada, dado que la falta de conexión a Internet impidió el uso de RedCap.

Posteriormente se obtuvo una muestra de sangre venosa (5-10 ml en tubos con EDTA) para determinar la serología de *Strongyloides stercoralis*, *Trypanosoma cruzi* y HTLV. Éstas se transportaron cada día al laboratorio de microbiología de la Asociación Civil Selva Amazónica (asociado al HRL) en una nevera isotérmica con bloques refrigerantes. En la clínica se registraban, etiquetaban y centrifugaban, almacenándose el plasma en alícuotas a -20°C hasta su análisis. Cuando se conseguía un número suficiente de muestras, se procesaba un kit ELISA de *S. stercoralis*, *T. cruzi* y HTLV. En caso de resultados indeterminados para *T. cruzi* o HTLV, se avisaba al paciente para recoger una nueva muestra de sangre completa en tubo con EDTA y realizar pruebas confirmatorias.

Asimismo, los pacientes debían entregar una muestra de heces para realizar el estudio coproparasitario. Éste se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia (CIRNA), perteneciente a la Universidad de la Amazonia peruana (UNAP), y constó de las siguientes técnicas: Baermann modificado, cultivo con carbón, técnica de Kato-Katz, test inmunocromatográfico y tinción Ziehl-Neelsen modificada (ZNM).

A los pacientes se les ofreció la opción de entregar la muestra de heces en el momento del reclutamiento o de forma posterior mediante llamada telefónica a una transportista contratada para tal fin, de lunes a sábado, entre las 9 am y las 7 pm. La transportista recogía la muestra en envase estéril de forma inmediata y la mantenía en nevera isotérmica con bloques refrigerantes durante el transporte (20-30 min), hasta que la entregaba en el laboratorio del CIRNA para su procesamiento ese mismo día. Todos los pacientes accedieron a la recogida en casa. Dada la complejidad de la recogida, solo se solicitó una muestra de heces por paciente.

Las muestras positivas fueron evaluadas por dos técnicos con experiencia en parasitología, junto con el 20% de las muestras fecales negativas (control de calidad) y todas las tinciones de ZNM. Los resultados discordantes se revaluaron hasta alcanzar un consenso, siguiendo en todo momento los procedimientos estándar de control de calidad durante su tinción y lectura.



Figura 3.2: Procedimiento de reclutamiento, recogida y procesamiento de muestras esquematizado. Fuente: propia.

3.4. Variables y recogida de datos

Todas las variables a recoger y analizar se encuentran disponibles en la hoja de recogida de datos (HRD) de cada paciente (**Anexo 2**):

- Datos sociodemográficos: edad, sexo, lugar de residencia, nivel de estudios.
- Datos epidemiológicos relevantes: caminar descalzo, material de la casa, convivencia con animales...
- Datos clínicos: embarazo, comorbilidades, infecciones previas, hábitos tóxicos, clínica actual. La presencia de diarrea fue determinada de forma subjetiva por el paciente y clasificada en varias categorías de frecuencia (diaria, semanal, mensual)
- Datos sobre el contagio y el estado actual de la infección por VIH: vía de contagio, grupo de riesgo, CD4 y CV actuales...
- Resultados del test diagnóstico realizado.

3.5. Técnicas de laboratorio

3.5.1. Muestras de suero

Kit IVD-ELISA para *Strongyloides stercoralis* (DRG Instruments GmbH, Marburg, 278 Germany)

La detección de IgG anti-*S. stercoralis* en suero se realizó mediante un kit de uso comercial aprobado por la Comunidad Europea, que incluye pocillos de microtitulación recubiertos con una fracción soluble de antígeno larvario filariforme L3 de *S. stercoralis*. Dada la alta seroprevalencia esperada y la posibilidad de falsos positivos en valores próximos al punto de corte recomendado por el fabricante (0.200), se realizó una duplicación de las pruebas ELISA en los primeros 100 participantes. Con base en estos resultados preliminares, se estableció un punto de corte optimizado de 0.220 para determinar la positividad del test.



Figura 3.3: Kit IVD-ELISA para *Strongyloides stercoralis*. Fuente: <https://device.report/manual/11525748>

Chagatest ELISA lysate y Chagatest ELISA recombinant v.4. para *Trypanosoma cruzi* (Wiener, Rosario, Argentina)

La detección de anticuerpos IgG en suero para *T. cruzi* se llevó a cabo mediante dos pruebas serológicas distintas siguiendo las directrices de la OMS, considerándose seropositivo si ambos eran positivos y seronegativo si ambos eran negativos. En caso de discordancia entre ambas serologías, se realizó un tercer ensayo serológico: **CLIA (MAGLUMI Chagas™, Snibe Diagnostics, Perú)**, que detecta anticuerpos IgG contra *T. cruzi* de forma cualitativa. Dado que no se confirmaron casos con dos pruebas positivas, no se realizó detección de parasitemia mediante PCR.



Figura 3.4: Chagatest ELISA recombinant v.4. Fuente: <https://instrumentalia.com.co/Instrumentalia-Infirma/Enviar/prueba-de-elisa-para-diagnostico-de-chagas-v-40-1293257-wiener-lab.html>

HTLV I+II ELISA recombinant v.4.0 (Wiener lab, Rosario, Argentina)

La detección de anticuerpos IgG en suero para HTLV 1/2 se realizó mediante esta kit, que no diferencia entre subtipos. En caso de positividad o discordancia, se realizó una nueva extracción de sangre digital, que se transportó en papel de filtro Whatman hasta el laboratorio de referencia del Hospital Puerta de Hierro, España, para realización del test **INNO-LIA HTLV I/II Score (Fujirebio, Tokyo, Japan)** a fin de confirmar la infección y hacer la tipificación del virus.



Figura 3.5: HTLV I+II ELISA recombinant v.4.0. Fuente: <https://www.mpbio.com/us/0723080-cf-htlv-i-ii-elisa-4-0-ce>

3.5.2. Muestras de heces

Todas las muestras fueron evaluadas inicialmente con un examen directo con yodo de Lugol para mejorar la precisión diagnóstica de la microscopía directa en fresco en la evaluación de helmintos y protozoos. Posteriormente, se realizaron técnicas específicas para aumentar la rentabilidad de la muestra: técnica de Baermann modificada y cultivo en carbón para visualización de larvas de *S. stercoralis*; prueba de Kato-Katz para búsqueda de huevos de geohelmintos (excepto *S. stercoralis*); prueba ICT para la detección de antígenos de los principales protozoos patógenos (*Cryptosporidium spp.*, *Giardia duodenalis* y *Entamoeba histolytica/dispar*) y tinción de ZNM para detección de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* Excepto la tinción con yodo Lugol, el resto de pruebas no se realizan de forma rutinaria en Iquitos.

Debido al alto volumen esperado de muestras, a la elevada prevalencia anticipada de parasitosis y al uso de otras técnicas diagnósticas adicionales (ICT, ZNM), no se añadió un método de concentración de heces adicional [240]. A

continuación se explica el procedimiento que se realizó para cada una de las técnicas.

Tinción de yodo de Lugol

Se mezcló una pequeña cantidad de heces con una gota de yodo de Lugol en un portaobjetos y se observó al microscopio. El yodo de Lugol tiñe el glucógeno y otras estructuras citoplasmáticas, lo que mejora la visualización de huevos de geohelminths y quistes y trofozoítos de protozoos. Es una técnica rápida, sencilla y útil como examen inicial.

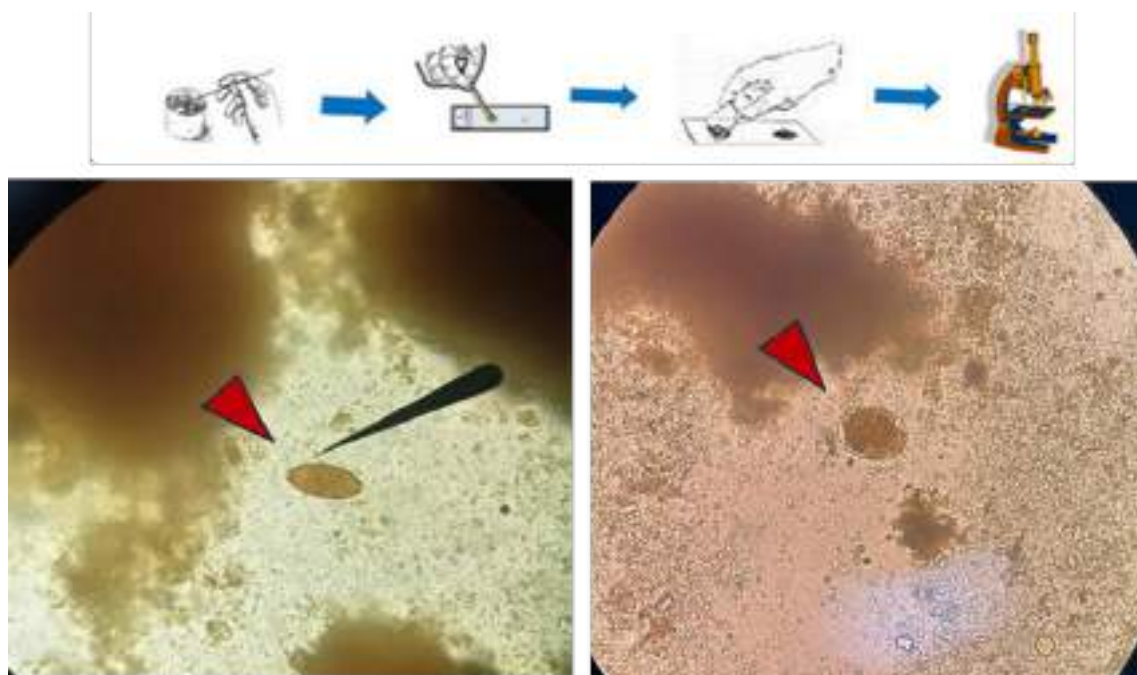


Figura 3.6: Procedimiento de la tinción de Lugol (superior). Huevos de T. trichura (izquierda) y uncinaria (derecha). Fuente: propia (izquierda y derecha); Mbong Ngwese, et al. (superior) [241]

Técnica de Baermann modificada

Se colocaron 5 gramos de heces frescas en el centro de un tamiz de malla, que se sumergió parcialmente en un matraz de sedimentación con agua a 37°C. Tras una hora de incubación a temperatura ambiente, las larvas migraron desde la suspensión fecal hacia el agua tibia. La capa superior del agua se decantó, reteniendo 10 ml en el fondo del embudo. El líquido restante se transfirió a un tubo de ensayo de 15 mL y se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min. 1 ml de este sedimento se examinó al microscopio para detectar la presencia de larvas [242].

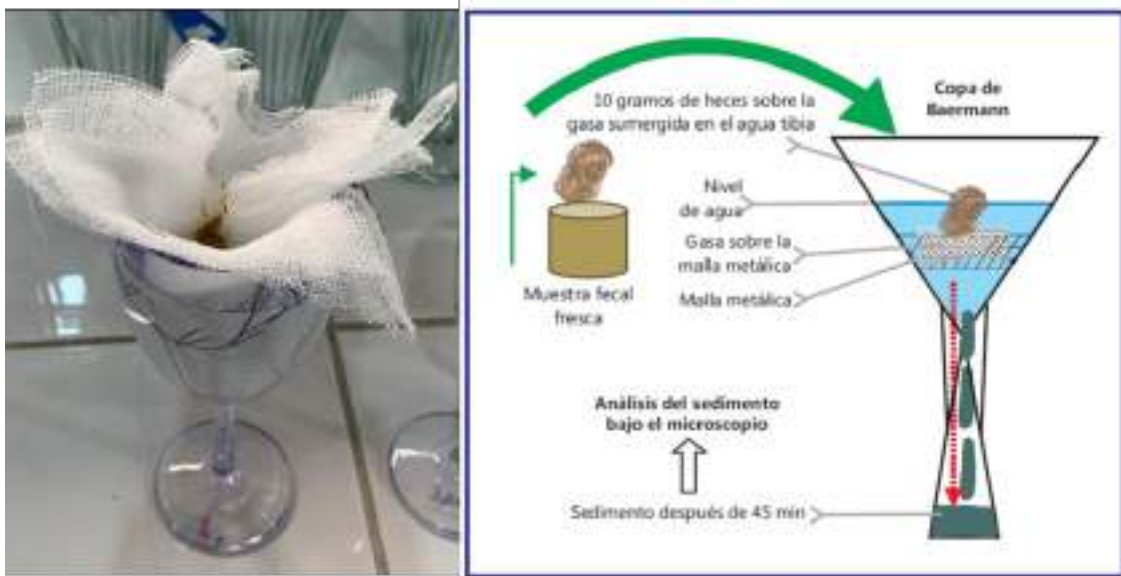


Figura 3.7: Técnica de Baermann. Fuente: propia (izquierda); Marcos LA et al. (derecha) [242]



Figura 3.8: Larva de *S. stercoralis* al microscopio tras técnica de Baermann. Fuente: propia

Cultivo en carbón (cultivo de Dancescu)

Se mezclaron 4 gramos de heces frescas con partes iguales de agua destilada y carbón vegetal granulado. La mezcla se colocó en una placa de Petri forrada con papel de filtro húmedo. La placa se selló con cinta de vinilo y se incubó a 30°C en la oscuridad. Los días 2, 4 y 7 se examinó al microscopio para detectar formas adultas (libres o filariformes) de *S. stercoralis* [97].

Técnica de Kato-Katz

Primero, se colocó una plantilla con un agujero en un portaobjetos. Después, la muestra fecal se tamizó y se extendió sobre el orificio. Por último, se levantó la plantilla y se cubrió la muestra con una tira de celofán empapado en glicerol, a fin de limpiar la materia fecal alrededor de los huevos. Tras esto, se examinó al microscopio en busca de huevos de *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, uncinarias (sin diferenciar *A. duodenale* o *N. americanus*) e *H. nana*. También se realizó el recuento de huevos por gramo de heces para valorar la intensidad de la infección.

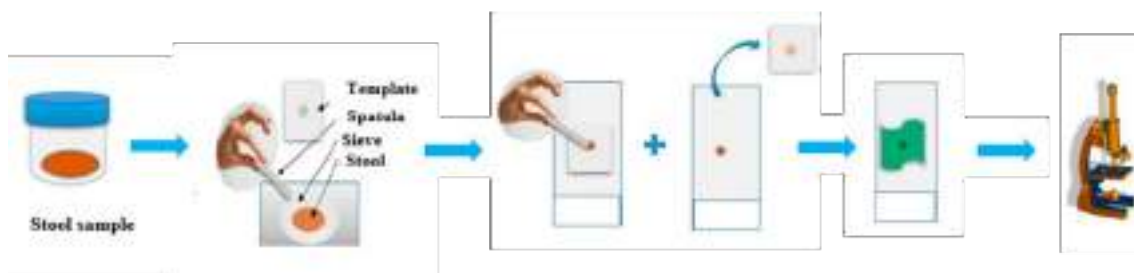


Figura 3.9: Técnica de Kato-Katz. Fuente: Mbong Ngwese, et al. [243]

Test rápido inmunocromatográfico (ICT): CERTEST *Crypto* + *Giardia* + *Entamoeba* One Step, CerTest Biotec) en formato *cassette*

Con este test se detectan a la vez *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* (α 1-giardin and/or CWP1) y *Entamoeba histolytica/dispar* en un solo paso en muestra de heces. Primero se mezcló el reactivo del kit con las heces para obtener el extracto a analizar. Después, se depositaron unas gotas de este extracto en el pocillo del *cassette*, dejando que migraran por capilaridad. Tras el tiempo indicado, se leyeron las líneas: una línea control válida y, en caso de positividad, las líneas de test que indicaban la presencia del o los parásito(s) presentes [123].

Técnica de Ziehl-Neelsen modificada

Cada muestra de heces se homogenizó para preparar un frotis delgado en un portaobjetos. Tras la fijación por calor, las láminas se tiñeron con fucsina carbol-fucsina fría. Los extendidos se decoloraron con HCl-etanol al 3%, se aclararon y se sumergieron en azul de metileno durante 30 segundos, dejándolos secar de forma posterior. La preparación se observó con aceite de inmersión a un aumento de 100x [244].

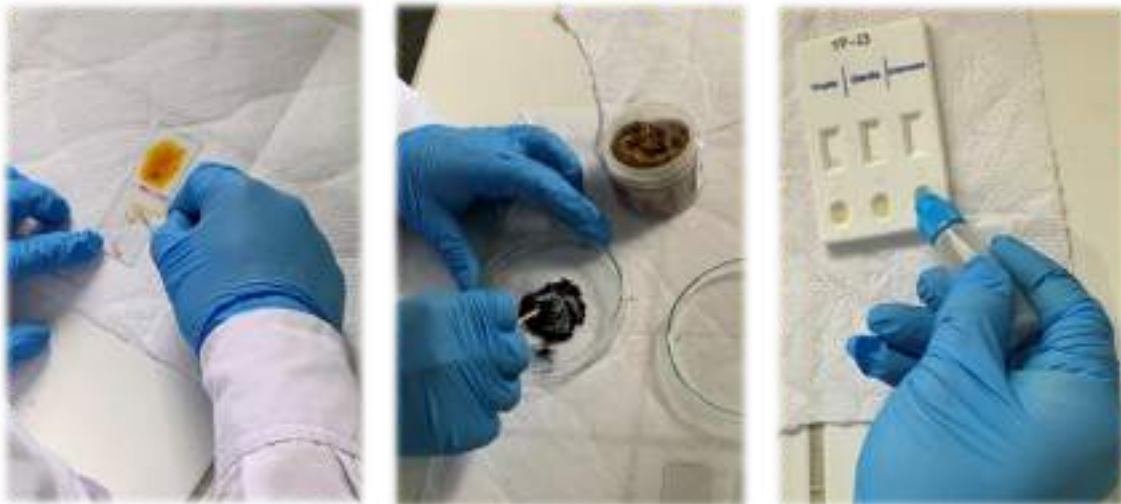
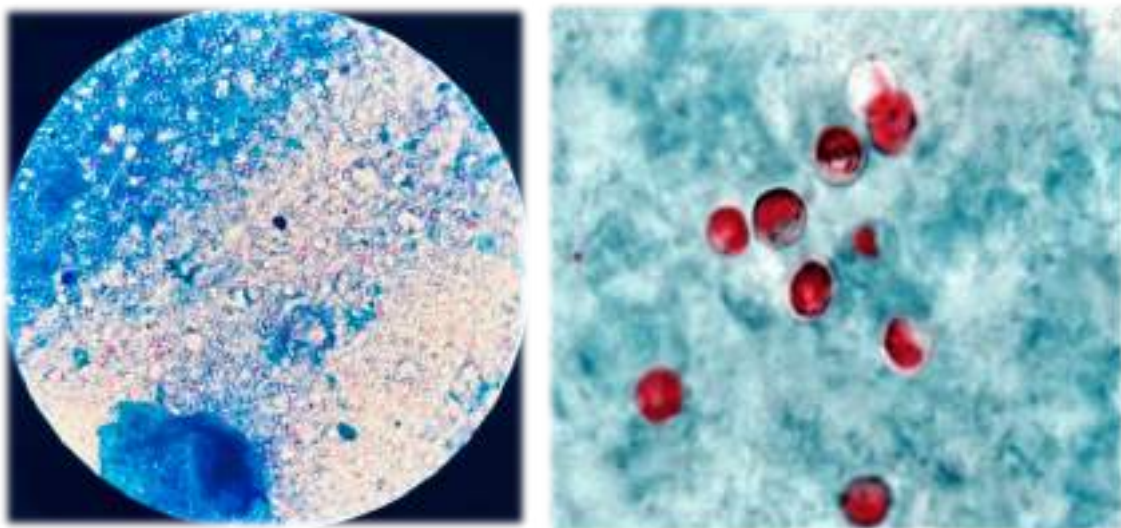


Figura 3.10: Tinción de yodo con Lugol (izquierda), cultivo de Dancescu (centro) e inmunocromatografía para protozoos (derecha). Fuente: propia.



*Figura 3.11: Oocistos de *Cryptosporidium* spp. teñidos en color rojo tras la técnica de Zielh Neelsen modificado. Fuente: Velasco Benítez CA et al. [245]*

3.6. Tamaño muestral

Los cálculos se llevaron a cabo con el programa **OpenEpi**. Para poder calcular una prevalencia próxima al 15% para *S. stercoralis* y protozoos intestinales, con un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 2.5%, en una población de 1500 pacientes con infección por VIH y unas pérdidas del 6%, debíamos tomar una muestra de 548 individuos.

Para calcular una prevalencia próxima al 1.5 % para *T. cruzi*, con un nivel de confianza del 95 % y un margen de error del 2.5 %, en una población de 1500 pacientes con infección por VIH y una pérdida del 6 %, debíamos tomar una muestra de 92 individuos.

Para poder calcular una prevalencia próxima al 2 % para HTLV, con un nivel de confianza del 95 % y un margen de error del 2.5 %, en una población de 1500 pacientes con infección por VIH y unas pérdidas del 6 %, debíamos tomar una muestra de 119 individuos.

3.7. Análisis de los datos

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando **SPSS Statistics versión 22.0 (IBM, Armonk, EE.UU.)**. La normalidad de las variables continuas se comprobó mediante el test de Shapiro-Wilk, describiéndose mediante media/desviación estándar en caso de normalidad y mediana/rango intercuartílico en caso no normalidad. Las variables categóricas se describieron como frecuencias y porcentajes. Los intervalos de confianza del 95 % (IC 95 %) se calcularon utilizando el método de Newcombe [246].

Se realizó un análisis bivariado para ver diferencias entre grupos (infectados versus no infectados), a fin de detectar potenciales factores de riesgo. Las variables cuantitativas se comprobaron mediante la prueba t de Student en caso de distribución normal o la prueba U de Mann-Whitney en caso de distribución no normal. Las variables categóricas se compararon mediante la prueba de chi-cuadrado, usando la corrección de Fisher en caso de precisarla.

Posteriormente, se construyeron modelos de regresión logística multivariable para identificar factores de riesgo independientes para cada infección. Estos modelos incluyeron las variables edad y sexo, así como aquellas que mostraron significación estadística ($p < 0.1$) en los análisis bivariados. El ajuste de los modelos se evaluó mediante las estadísticas R^2 de Cox-Snell y R^2 de Nagelkerke, con el fin de determinar la fuerza de asociación entre las variables dependientes y las independientes.

Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del ensayo ELISA de *S. stercoralis*, utilizando como referencia los resultados parasitológicos (técnica de Baermann modificada y/o cultivo en carbón). El mismo análisis se repitió incluyendo otras infecciones

por helmintos, con el objetivo de descartar reacciones cruzadas. Para comparar la concordancia entre dos pruebas diagnósticas (Baermann versus carbón para *S. stercoralis*, ZNM versus ICT para *Cryptosporidium spp.* y tinción yodo de Lugol versus ICT para otros protozoos), se calculó el coeficiente kappa de Cohen, que mide la concordancia más allá del azar. Los valores de kappa se interpretaron como leves (0–0.20), aceptables (0.21–0.40), moderados (0.41–0.60), sustanciales (0.61–0.80) o casi perfectos (0.81–1.00). Posteriormente, se realizó la prueba de McNemar para proporciones pareadas a fin de evaluar si existían diferencias significativas en el número de resultados positivos detectados por cada método.

3.8. Aspectos éticos

El estudio ha sido aprobado por parte del Comité de Ética de la Investigación Hospital Regional de Loreto (Iquitos, Perú) (**EXP: ID-018-CIEI-20**) y la Oficina de Investigación Responsable de la Universidad Miguel Hernández de Elche (**DMC.JMRR.230908**). Se llevó a cabo de acuerdo con la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, la Declaración de Helsinki en su versión actual (2013), las normas de Buena Práctica Clínica y las leyes españolas y de la Comunidad Valenciana aplicables a este tipo de estudios. Se respetó la confidencialidad de los datos. La información clínica se anonimizó y se utilizó un número codificado para identificar a cada sujeto. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado para su inclusión en el estudio. No se incluyeron menores de 18 años.

4

RESULTADOS

De los 550 pacientes que consintieron a ser incluidos en el estudio, 13 fueron excluidos por duplicidad o ausencia de encuesta clínico-epidemiológica. Finalmente se incluyeron 537 pacientes, de los cuales 175 no entregaron muestra de heces por datos de contacto incorrectos, cambio de domicilio, fallecimiento o viaje fuera de Iquitos, aunque sí de sangre. 3 pacientes no permitieron la extracción de muestra de sangre, pero sí entregaron heces. Para el Objetivo 4, el corte se hizo en 293 pacientes puesto que las muestras en papel de filtro para HTLV 1/2 se mandaron a España en el mes de enero de 2023 por aspectos logísticos, unos meses antes de finalizar el reclutamiento del estudio.



Figura 4.1: Diagrama de flujo de pacientes incluidos y muestras disponibles para el estudio

4.1. Objetivo 1

4.1.1. Referencia del artículo

Otero-Rodriguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Villacorta-Pezo VY, Parráquez-de-la-Cruz J, Clark EH, Merino E, Ramos-Rincon JM. High prevalence of *Strongyloides stercoralis* in people living with HIV: A critical health challenge in the Peruvian Amazon Basin. *PLoS Negl Trop Dis.* 2025;15;19(7):e0013231.

4.1.2. Abstract en español

Introducción: La estrogiloidiasis es una helmintiasis transmitida por el suelo muy relevante, aunque infradiagnosticada, especialmente en zonas tropicales y en algunos grupos vulnerables. **Objetivos:** Evaluar la prevalencia parasitológica, seroprevalencia y factores sociodemográficos asociados a la infección por *Strongyloides stercoralis* en pacientes que viven con el virus de la inmunodeficiencia humana (PVVIH) en un área endémica. **Materiales y métodos:** Realizamos un estudio transversal de estrogiloidiasis en 537 PVVIH en dos hospitales de Iquitos, Perú, del 20 de octubre de 2023 al 20 de mayo de 2024. Se analizaron sueros mediante ELISA IgG para *Strongyloides*, y heces mediante la técnica de Baermann modificada y/o cultivo fecal en carbón, como métodos parasitológicos de alta sensibilidad. Utilizamos una regresión logística multivariable para identificar factores asociados a la infección por *S. stercoralis*. **Resultados:** Entre los 339 PVVIH con muestra de heces, 82 fueron positivos para *S. stercoralis* (prevalencia 24.2%; intervalo de confianza [IC] del 95%: 20.0–29.1%). Entre los 534 PVVIH con muestra de suero, 227 fueron positivos (seroprevalencia: 42.5%; IC del 95%: 38.1–47.5%). El valor kappa entre el cultivo en carbón y la técnica de Baermann fue 0.69. El ELISA mostró una sensibilidad de 92.6% y un valor predictivo negativo de 96.9%. Los factores de riesgo significativos para positividad en heces incluyeron vivir en una zona rural (no pavimentada) (odds ratio ajustada (ORa): 1.86). Los factores de riesgo significativos tanto para positividad en heces como en suero incluyeron vivir en una vivienda pobre (hecha de madera/hojas) (ORa: 2.18 y 2.48 respectivamente), vivir en el área de influencia del Hospital Regional de Loreto (ORa: 5.66 y 5.37 respectivamente) o estar infectado por uncinarias en heces (ORa: 23.88 y 9.78 respectivamente). Tener un nivel educativo bajo se asoció con seropositividad (ORa: 2.42). **Conclusión:** La prevalencia de *S. stercoralis* es alta entre los PVVIH en Iquitos, especialmente entre aquellos que viven en condiciones de vulnerabilidad socioeconómica o coinfectados con uncinarias. El valor predictivo negativo del ELISA para *S. stercoralis* fue alto, aunque este resultado debe interpretarse con cautela en casos de inmunosupresión severa.

4.1.3. Artículo original

RESEARCH ARTICLE

High prevalence of *Strongyloides stercoralis* in people living with HIV: A critical health challenge in the Peruvian Amazon Basin

Silvia Otero-Rodríguez^{1,2*}, Martin Casapia-Morales^{3,4,5}, Viviana Pinedo-Cancino^{5,6}, Seyer Mego-Campos⁶, Victoria-Ysabel Villacorta-Pezo⁷, Jorge Parráquez-de-la-Cruz⁸, Eva H. Clark⁹, Esperanza Merino^{1,2}, Jose-Manuel Ramos-Rincon^{2,10,11}

1 Infectious Diseases Unit, Alicante General University Hospital, Alicante, Spain, **2** Alicante Institute of Sanitary and Biomedical Research (ISABIAL), Alicante, Spain, **3** Infectious Diseases and Tropical Medicine Service, Loreto Regional Hospital, Iquitos, Peru, **4** Medical Department, Asociación Civil Selva Amazónica, Iquitos, Peru, **5** Faculty of Human Medicine, National University of the Peruvian Amazon, Iquitos, Peru, **6** Laboratory for Research on Natural Antiparasitic Products of the Amazon (LIPNAA-CIRNA), National University of the Peruvian Amazon, Iquitos, Peru, **7** Clinical Laboratory, National University of the Peruvian Amazon, Iquitos, Peru, **8** Clinical Laboratory, Asociación Civil Selva Amazónica, Iquitos, Peru, **9** Department of Medicine (Infectious Diseases) and Department of Pediatrics (Tropical Medicine), Baylor College of Medicine, Houston, Texas, United States of America, **10** Internal Medicine Department, Alicante General University Hospital, Alicante, Spain, **11** Clinical Medicine Department, Miguel Hernández University of Elche, Elche, Spain

* o.silvia.r@gmail.com


 OPEN ACCESS

Citation: Otero-Rodríguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Villacorta-Pezo V-Y, Parráquez-de-la-Cruz J, et al. (2025) High prevalence of *Strongyloides stercoralis* in people living with HIV: A critical health challenge in the Peruvian Amazon Basin. PLoS Negl Trop Dis 19(7): e0013231. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231>

Editor: Dora Buonfrate, Centre for Tropical Diseases, ITALY

Received: February 13, 2025

Accepted: June 10, 2025

Published: July 15, 2025

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231>

Copyright: This is an open access article, free of all copyright, and may be freely reproduced, distributed, transmitted, modified, built upon,

Abstract

Introduction

Strongyloidiasis is an important but underdiagnosed soil-transmitted helminthiasis, particularly in tropical areas and some vulnerable groups.

Objectives

To assess the parasitological prevalence, seroprevalence and sociodemographic factors of *Strongyloides stercoralis* infection in patients living with human immunodeficiency virus (PLWH) in an endemic area.

Materials and methods

We performed a cross-sectional study of strongyloidiasis in 537 PLWH in two hospitals in Iquitos, Peru, from 20 Oct 2023 to 20 May 2024. We tested patient sera using *Strongyloides* IgG enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and stool via the modified Baermann technique and/or charcoal fecal culture as highly sensitive parasitological techniques. We used multivariable logistic regression to identify factors associated with *S. stercoralis* infection.

or otherwise used by anyone for any lawful purpose. The work is made available under the [Creative Commons CC0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) public domain dedication.

Data availability statement: The dataset used and/or analysed during the current study are available in Zenodo Repository, under the ORCID: 10.5281/zenodo.14864472. The laboratory protocol is available in protocols.io, under the doi: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.ewov1mpqpv2/v1>

Funding: This work was supported by Miguel Hernandez University (UMH) (under Grant 11-134-4-2023-0133 to J.-M.R), Alicante Health and Biomedical Research Institute (ISABIAL) (under Grant 2024-0181 to S.O.-R) and Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (under Grant CM23/00050 to S.O.-R). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: I have read the journal's policy and the authors of this manuscript have the following competing interests: Miguel Hernandez University has granted the research of J.M.-R in the field. Alicante Health and Biomedical Research Institute (ISABIAL) and Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) have granted the research of S.O.-R in the field. None of the institutions had a role in study design, data collection, analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. The other authors declare that no competing interests exist.

Results

Among the 339 PLWH whose stool samples were collected, 82 were positive for *S. stercoralis* (prevalence 24.2%; 95% confidence interval [CI] 20.0-29.1%). Among the 534 PLWH whose serum samples were collected, 227 were positive (seroprevalence: 42.5%; 95% CI 38.1-47.5%). The kappa value for charcoal culture and Baermann technique was 0.69. ELISA showed a sensitivity of 92.6% and a negative predictive value of 96.9%. Significant risk factors for stool positivity included living in a rural (unpaved) area (adjusted OR: 1.86), whereas significant risk factors for both stool and seropositivity included living in a poor house (made of wood/leaves) (adjusted odds ratio (ORs): 2.18 and 2.48, respectively), in the Loreto Regional Hospital catchment area (adjusted ORs: 5.66 and 5.37, respectively), or being infected by hookworms in stool (adjusted ORs: 23.88 and 9.78, respectively). Having a low level of studies was associated with seropositivity (adjusted OR 2.42).

Conclusion

The prevalence of *S. stercoralis* is high among PLWH in Iquitos, especially among those living in conditions of socioeconomic vulnerability or co-infected with hookworms. The negative predictive value of the *S. stercoralis* ELISA was high, although this result should be taken with caution in severe immunosuppression.

Author summary

Intestinal parasitic infections are especially common in warm climates, particularly where sanitation facilities are poor. Immunocompromised individuals, such as people living with human immunodeficiency virus (HIV) patients, are more susceptible to parasitic infections. *Strongyloides stercoralis* is a common parasite in Iquitos, the capital of the Peruvian Amazon, although its current infection rate among HIV patients is unknown. In this study, our objective was to detect the prevalence of the parasite in the stool of 339 patients from two different hospitals using three microbiological techniques, as none of them is completely reliable by itself. The prevalence of antibodies in the blood of 537 patients was also assessed, since it is useful for knowing the burden of disease in the community as a contact marker. In addition to the diagnostic procedure, we conducted an interview on sociodemographic and clinical characteristics to identify risk factors for infection that can be corrected. This information will help improve prevention, diagnosis, and clinical management in this population.

1. Introduction

Strongyloidiasis is a soil-transmitted helminthiasis caused by the parasitic nematode *Strongyloides stercoralis* (distributed worldwide) or *Strongyloides fuelleborni* (only

present in some regions of Africa and Oceania) [1]. This infection is particularly prevalent in tropical and subtropical areas, where sanitary conditions are poor, and it is acquired through skin contact with contaminated soil [2]. The global prevalence of *S. stercoralis* is estimated to affect approximately 600 million people [3,4], although this figure may be underestimated due to the low sensitivity of the available diagnostic techniques. Strongyloidiasis is important because it is one of the few nematodes able to perpetuate a chronic infection in the host (“autoinfection”). Without treatment, the infection can persist for life and immunosuppressed patients are at risk for *Strongyloides* hyperinfection syndrome and disseminated strongyloidiasis, conditions that carry high morbidity and can even be fatal [5]. The World Health Organization (WHO) includes *Strongyloides* among the soil transmitted helminthiasis targeted for improved control by 2030; for this purpose, specific guidelines have been published recently. However, the organization denounces the need for more evidence to optimize public health programs for strongyloidiasis [6].

Iquitos is a city located in the Loreto region, which has the second-highest prevalence of people living with HIV in Peru, with more than 200 new cases diagnosed in the first half of 2024 [7]. However, the prevalence of *S. stercoralis* infection in PLWH in Peru is understudied, as their predisposition to infection, the impact of HIV related immunosuppression, and the associated risk of hyperinfection syndrome. Despite this, we do know that this is a vulnerable population with a higher risk for high-dose corticosteroid use (a known risk factor for hyperinfection [8]), and in which treating the parasite would reduce morbimortality.

Population studies of *S. stercoralis* infection in Peru show widely varying prevalences depending on the geographical area, the type of diagnostic test used, or the clinical presentation. A study conducted by the Peruvian Ministry of Health, from 1981 to 2010, found a heterogeneous prevalence ranging from 0.3 to 39%, with a national average of 6.25% [9]. A recent systematic review estimated an even higher prevalence of 7.34% [10]. In the Peruvian Amazon, where climatic conditions favor the endemicity of the parasite, the prevalence of *S. stercoralis* consistently exceeds 10% [11–13]. To the best of our knowledge, no published parasitological or sero-epidemiological studies exist on *S. stercoralis* infection in PLWH in the Peruvian Amazon.

The parasitological diagnosis of *S. stercoralis* infection is challenging. Stool processing techniques including the Baermann method and charcoal culture are diagnostic tools that yield higher sensitivity than direct stool smear, but still miss a large proportion of infections [5]. Molecular methods like PCR allow the diagnosis of a higher number of cases; however, this procedure is not available in most patient care settings. While serologic tests are the most sensitive diagnostic tools (especially in non-endemic areas), false positive results can occur due to cross-reactions with other helminth infections and the long-term persistence of *Strongyloides* antibodies even after treatment [14]. Overall, only a combination of techniques can be accepted as highly sensitive for the diagnosis of strongyloidiasis [4].

This study assessed the parasitological prevalence, seroprevalence, and risk factors for *S. stercoralis* infection in PLWH in an endemic area. Our results highlight the urgent need for improved diagnostic tools and expanded public health policies to improve strongyloidiasis diagnosis and treatment strategies for this vulnerable population.

2. Methods

2.1. Ethics statement

The Ethics Committee of Loreto Regional Hospital in Iquitos (Peru) (EXP: ID-018-CIEI-2013) approved this study. After being informed about the study, individuals who volunteered to participate provided written consent to be included. We maintained all the results in strict confidentiality, and those who tested positive for intestinal parasites received free treatment and follow-up by their HIV healthcare provider.

2.2. Study population and inclusion/exclusion criteria

This was an observational, cross-sectional study of PLWH receiving care at one of two hospitals in Iquitos, Peru: (1) the Regional Hospital of Loreto “Felipe Santiago Arriola Iglesias” (which follows patients from the districts of Punchana and Iquitos, but also from the rest of the Loreto Health Department), and (2) the Hospital of Iquitos “César Garayar García” (which follows patients from the districts of Belen and San Juan), from 20 Oct 2023 to 20 May 2024.

We included patients over 18 years with known HIV infection, attending the Regional Hospital of Loreto (located in Iquitos' Punchana district) or the Hospital of Iquitos (located in Iquitos' San Juan district) (Fig 1), who were able to provide stool and/or blood specimens. We offered enrollment to both eligible outpatients and inpatients.

2.3. Enrollment procedures

After providing informed consent, study participants provided a stool specimen for *S. stercoralis* larvae copro-parasitological examination (given the complexity of collecting it at home, only one sample per patient was required), and a blood specimen for *S. stercoralis* serology. We collected epidemiological demographic and risk factor variables using an oral semi-structured interview and clinical history of the patient, if available.

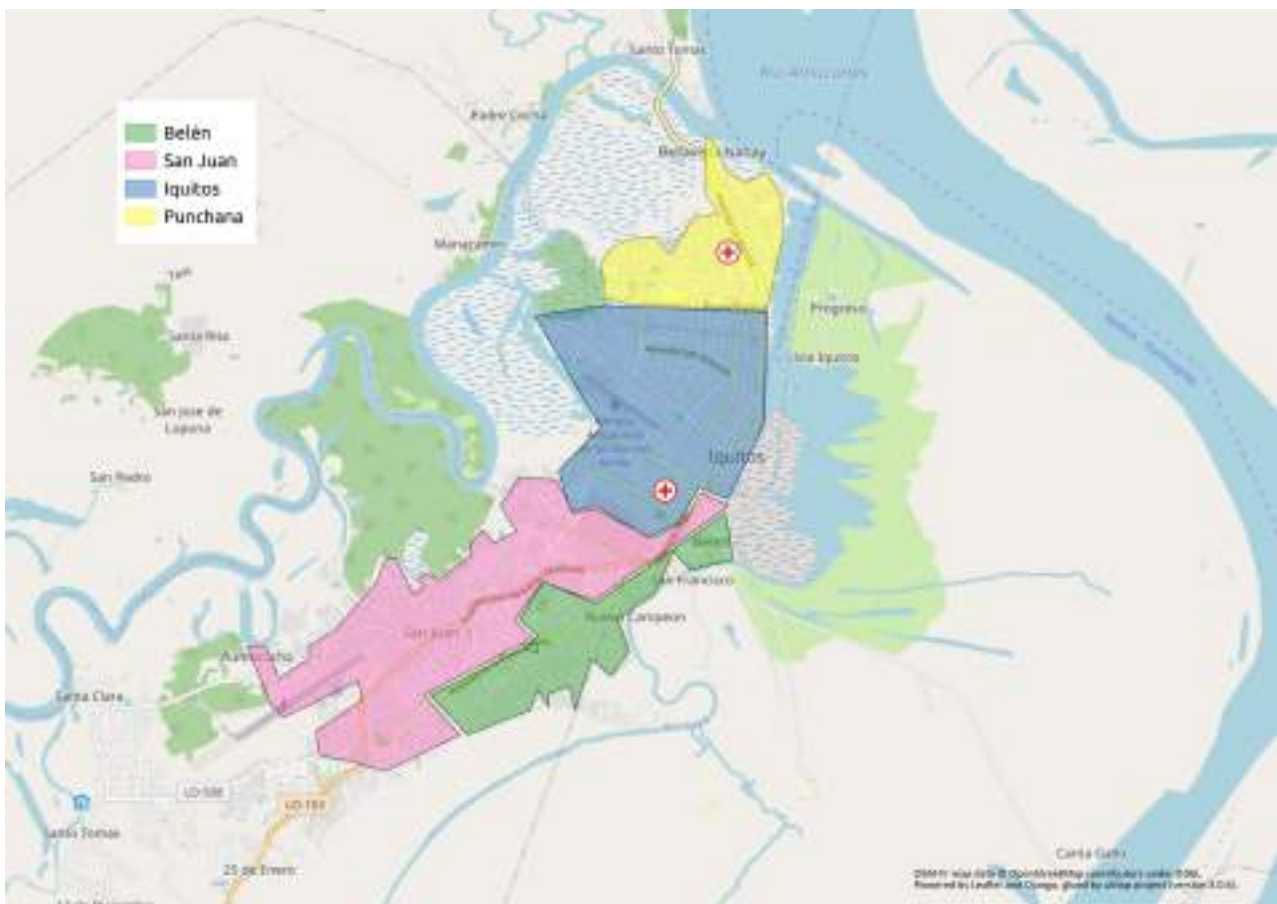


Fig 1. Map of Iquitos (Peru), with its four major districts. From north to south: Punchana district, Iquitos district, San Juan Bautista district and Belén district. The red crosses symbolized the two hospitals included in the study (from north to south: Loreto Regional Hospital and Iquitos Hospital). *Map created with uMap project (version 3.0.6), using data from OpenStreetMap and OpenStreetMap Foundation, licensed under ODbL. <https://www.openstreetmap.org/#map=12/-3.7432/-73.2342>. Custom data and layers included in this map are licensed under Creative Commons BY-SA 4.0. <https://www.openstreetmap.org/copyright/>. <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.g001>

2.4. Stool examination for *S. stercoralis*

Each fecal specimen was analyzed using three techniques: direct examination with Lugol's iodine, modified Baermann technique, and charcoal fecal culture. A specimen was considered positive when *S. stercoralis* larvae were identified by any of these techniques.

- Modified Baermann technique [15]. Briefly, five grams of fresh feces were placed in the center of a cotton-wool gauze sieve, positioned in a funnel partially submerged in a sedimentation flask filled with water at 37 °C. After one hour at room temperature (25-37°C), larvae migrated from the fecal suspension into the heated water. The supernatant was discarded, and 1 mL of sediment from the funnel bottom was microscopically examined for the presence of larvae.
- Charcoal culture (Dancescu culture) [16]: Briefly, four grams of fresh feces were mixed with equal parts of distilled water and granulated charcoal. The mixture was placed in a Petri dish, sealed with vinyl tape, and incubated at 30 °C in darkness. The culture was examined with a compound microscope for *S. stercoralis* adult worm (free-living or filariform) on the second, fourth, and seventh days before discarding the culture.

2.5. *S. stercoralis* serology

Blood samples were centrifuged at 2058 relative centrifugal force for 10 minutes to separate plasma from erythrocytes. The plasma was stored at -80°C until analysis. For serological testing, we employed a commercially available *Strongyloides* crude antigen IgG enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), specifically the *Strongyloides* IgG IVD-ELISA kit (DRG Instruments GmbH, Marburg, 278 Germany, approved by the European Commission). This kit utilizes microtiter wells coated with a soluble fraction of the *S. stercoralis* L3 filariform larval antigen. All assays were performed following the manufacturer's protocol. Considering the anticipated high seroprevalence and potential false positives near the manufacturer's recommended cut-off value (0.200), we conducted duplicate ELISA testing for the initial 100 participants. Based on these preliminary results, we established an optimized cut-off value of 0.220 for determining test positivity.

2.6. Data analysis

Statistical analyses were performed via IBM SPSS Statistics version SPSS 22.0 (IBM, Armonk, EEUU). For descriptive statistics, categorical variables were expressed as frequencies and percentages, while continuous variables were presented as medians with interquartile range (IQR). The 95% confidence intervals were calculated using the Newcombe method [17]. Categorical variables were compared using Chi-square tests, while continuous variables were analyzed using the U-Man Whitney test. Agreement between modified Baermann and charcoal culture results was assessed using Cohen's Kappa coefficient.

Risk factors for *S. stercoralis* infection were initially evaluated through bivariate analysis, with associations quantified using ORs. Subsequently, multivariable logistic regression models were constructed to identify independent risk factors for both parasitological *S. stercoralis* infection and seropositivity to *S. stercoralis*. These models included age and sex, and variables that showed statistical significance ($p \leq 0.05$) in the univariate analyses. The models' goodness of fit was assessed using CoxSnell R^2 and Nagelkerke R^2 statistics to determine the strength of association between dependent variables (parasitological infection *S. stercoralis* infection and seropositivity to *S. stercoralis*) and independent variables.

We calculated the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value for the ELISA results, along with their respective 95% CIs, using the parasitologic results (i.e., outcomes from the modified Baermann technique and/or charcoal culture) as the reference standard. Same analysis was realized also including other helminths infections, in other to rule out cross-reactions.

3. Results

3.1. Description of the study population and epidemiologic data

For the 537 PLWH included in this study, we obtained serum from 534 and stool from 339 patients (Fig 2). More than 60% were heterosexual men with few comorbidities, and the median age was 41 years (range 32-49) (Table 1). Most patients had well-controlled HIV with an undetectable HIV viral load.

3.2. *S. stercoralis* stool examination (parasitologic) results

Among the 339 participants with available stool samples, only 1 was positive in the direct exam, while 82 tested positive by the modified Baermann technique and/or charcoal culture (prevalence 24.2%; 95% CI 20.0-29.1%). Five were positive via the Baermann technique alone, 30 via charcoal culture alone, and 47 via both tests. The Kappa index was 0.69 (95% CI: 0.58-0.79), indicating a good correlation between the modified Baermann method and charcoal culture (Table 2).

3.3. Other Helminths isolated in stool examination

Among the 339 patients with stool specimen, 17 (5.0%) were positive for hookworms, 10 (2.9%) for *Ascaris lumbricoides*, 2 (0.6%) for *Hymenolepis nana* and 1 (0.3%) for *Trichuris trichiura*.

Among the 82 patients who were positive for *S. stercoralis* infection in stool, 15 (18.2%) were also co-infected by hookworms, 6 (7.3%) coinfecting by *Ascaris lumbricoides* and 1 (1%) co-infected by *Trichuris trichiura*.

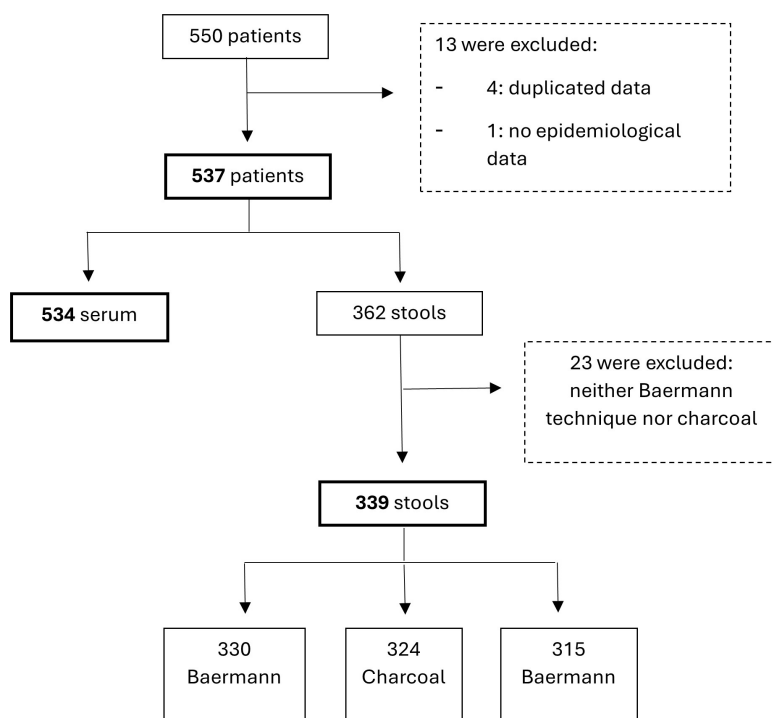


Fig 2. Flow chart of study participant inclusion and specimen availability for the study.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.g002>

Table 1. Epidemiological characteristics of study participants, divided by those with available serum specimens and those with stool specimens.

Variables	Patients with serum specimen (N = 534)	Patients with stool specimen (N = 339)
Male, % (n/N)	66.1 (353/534)	64.3 (218/339)
Age, median (IQR), years	41 (32, 49)	41 (32, 48)
Hospital attended, % (n/N)		
Regional Hospital of Loreto	77.9 (416/534)	84.7 (287/339)
Inpatient	1.5 (8/534)	0.3 (1/339)
Outpatient	76.4 (408/534)	84.4 (286/339)
Hospital of Iquitos (Outpatient)	22.1 (118/534)	15.3 (52/339)
Residence, % (n/N)		
Iquitos district	32.0 (171/534)	35.1 (119/339)
Punchana district	25.1 (134/534)	25.7 (87/339)
San Juan district	20.4 (109/534)	20.4 (69/339)
Belén district	16.3 (87/534)	14.7 (50/339)
Out of Iquitos metropolitan area	6.1 (33/534)	4.1 (14/339)
Occupation, % (n/N)		
Unemployed	40.3 (215/534)	43.4 (147/339)
Primary Sector	18.2 (97/534)	14.5 (49/339)
Secondary sector	33.1 (177/534)	4.4 (15/339)
Tertiary sector	8.4 (45/534)	10.0 (34/339)
Education, % (n/N)		
None	2.2 (12/534)	2.4 (8/339)
Completed primary school	18.9 (101/534)	17.4 (59/339)
Completed secondary school	54.3 (290/534)	55.8 (189/339)
Attended university	24.5 (131/534)	24.5 (83/339)
Epidemiological risk factors, % (n/N)		
Lives with dogs, cats or farm animals	69.1 (369/534)	69.9 (237/339)
Walks barefoot	26.8 (143/534)	26.8 (91/339)
Resid in rural location ^a	33.1 (177/534)	31.0 (105/339)
Lives in house made of wood or leaves	48.0 (256/534)	47.2 (160/339)
Alcohol or tobacco consumption	51.7 (276/234)	52.5 (178/339)
Albendazole ^b 6 months prior to study	8.8 (47/534)	5.0 (17/339)
Pregnancy, % (n/N)	0.9 (5/534)	0.9 (3/339)
Comorbidity, % (n/N)		
Diabetes or high blood pressure	6.7 (36/534)	7.4 (25/339)
Other cardiovascular disease	2.8 (15/534)	3.2 (11/339)
Digestive disease	7.1 (38/534)	5.9 (20/339)
Urinary disease	2.1 (11/534)	2.1 (7/339)
Dermatological disease	0.6 (3/534)	0.6 (2/339)
Other	1.1 (6/534)	0.3 (1/339)
Previous infections, % (n/N)		
Intestinal parasitosis	18.2 (97/534)	13.3 (45/339)
Chronic hepatitis	6.7 (36/534)	6.8 (23/339)
Gonorrhea	11.6 (62/534)	13.3 (45/339)
Syphilis	13.5 (72/534)	14.2 (48/339)
Tuberculosis	23.2 (124/534)	21.8 (74/339)

(Continued)

Table 1. (Continued)

Variables	Patients with serum specimen (N= 534)	Patients with stool specimen (N= 339)
Cerebral toxoplasmosis	3.2 (17/534)	3.5 (12/339)
Symptoms, % (n/N)		
Cough or cold symptoms	14.8 (80/534)	13.8 (74/339)
Fever	1.7 (9/534)	1.2 (4/339)
Diarrhea	20.4 (109/534)	21.8 (74/339)
< 4 times a month	79.8 (87/109)	77.0 (57/74)
>= 4 times a month	20.2 (22/109)	23.0 (17/74)
Risk group, % (n/N)		
Heterosexual	75.4 (376/499)	76.5 (244/319)
Homosexual	18.2 (97/499)	18.8 (60/319)
Transexual	2.1 (11/499)	2.5 (8/319)
Bisexual	3.0 (15/499)	2.2 (7/319)
HIV acquisition, % (n/N)		
Sexual	87.3 (466/534)	90.6 (307/339)
Vertical	0.7 (4/534)	0.3 (1/339)
Parenteral	0.2 (1/534)	0.3 (1/339)
Unknown	11.8 (63/534)	8.8 (30/339)
CD4+ nadir, median (IQR),/ml	238 (118, 375)	239 (120, 375)
Current CD4+, median (IQR),/ml	443 (281, 615)	432 (289, 587)
Current CD4+ < 200/ml (AIDS), % (n/N)/ml	13.9 (52/374)	12.2 (29/238)
Current HIV viral load, % (n/N) (copies/ml)		
Undetectable < 20	75.8 (380/501)	76.9 (250/325)
Between 20 and 2000	11.4 (61/501)	11.4 (37/325)
Detectable > 2000	11.2 (60/501)	11.7 (38/325)
ART adherence, % (n/N)		
>95%	85.6 (374/437)	85.9 (243/283)
90-95	6.9 (30/437)	6.4 (18/283)
<90	7.6 (33/437)	7.8 (22/283)

Data shown as % (n/N) or median (IQR), unless specified otherwise. Statistically significant differences shown in bold. Percentages may not total 100 due to rounding. ^aDefined as absence of paved streets. ^bSelf-medication with Albendazole (dose unknown). Abbreviations AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome. ART: anti-retroviral therapy.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.t001>

Table 2. Correlation between charcoal culture and modified Baermann technique.

		Charcoal culture		Total
		Positive, n (%)	Negative, n (%)	
Modified Baermann technique	Positive, n (%)	47 (14.9%)	2 (0.6%)	49 (15.6%)
	Negative, n (%)	30 (9.5%)	236 (74.9%)	266 (84.4%)
Total		77 (24.4%)	238 (75.6%)	315 (100%)

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.t002>

3.4. *S. stercoralis* serologic results

Among the 534 participants with available serum specimens, 227 tested positive by ELISA (seroprevalence: 42.5%; 95% CI 38.1-47.5%).

3.5. Risk factors associated with parasitological *S. stercoralis* infection

After adjusting for sex, age, and variables with p values ≤ 0.05 in the bivariate analysis (Table 3), the characteristics most strongly associated with parasitological infection of *S. stercoralis* in PLWH were belonging to the Loreto Regional Hospital catchment area (adjusted OR: 5.43), living in a rural area (adjusted OR: 1.86), living in a house made of wood/leaves (adjusted OR: 2.18) and having hookworms in stools (adjusted OR: 23.88) (Fig 3a). The model's Cox–Snell R^2 value was 0.18 and the Nagelkerke R^2 value was 0.27, with an AUC of 0.76 (95% CI 0.70 – 0.82, $p < 0.001$).

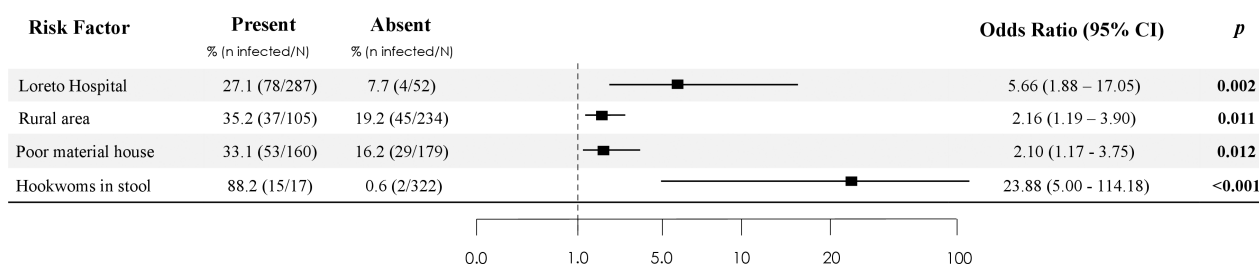
Table 3. Variables associated with *S. stercoralis* infection defined by visualization of larvae in stool (via the modified Baermann technique or charcoal culture).

	Infection defined by larvae in stool (N=339)			
	Infected (N=82)	Not Infected (N=257)	OR ^c (IC95%)	p
Sex (male), % (n/N)	68.3 (56/82)	63.0 (162/257)	1.26 (0.74-2.15)	0.387
Age (years), median (IQR)	41 (31, 48)	41 (32, 49)	–	0.746
Hospital attended , % (n/N)				
Hospital Regional de Loreto	95.1 (78/82)	81.3 (209/257)	4.48 (1.56-12.83)	0.003
Hospital de Iquitos	4.9 (4/82)	18.7 (48/257)	1	
Residence (Punchana district), % (n/N)	28.0 (23/82)	24.9 (64/257)	1.18 (0.67-2.06)	0.570
Occupation (primary sector), % (n/N)	17.0 (14/82)	13.6 (35/257)	1.31 (0.66-2.57)	0.439
Education (illiterate or completed only primary school), % (n/N)	24.4 (20/82)	18.3 (47/257)	1.44 (0.80-2.61)	0.227
Epidemiological risk factors , % (n/N)				
Lives with dogs, cats or farm animals (yes)	63.4 (52/82)	72.0 (185/257)	0.68 (0.40-1.14)	0.141
Walks barefoot (yes)	28.0 (23/82)	26.5 (68/257)	1.08 (0.62-1.89)	0.777
Resid in rural location ^a (yes)	45.1 (37/82)	26.5 (68/257)	2.29 (1.36-3.83)	0.001
Lives in house made of wood or leaves (yes)	64.6 (53/82)	41.6 (107/257)	2.56 (1.53-4.29)	<0.001
Alcohol or tobacco consumption (yes)	54. (45/82)	51.8 (133/257)	1.13 (0.69-1.87)	0.621
Albendazole ^b 6 months prior to study (yes)	0.0 (0/82)	6.6 (17/257)	–	0.016
Previous infections , % (n/N)				
Chronic hepatitis (yes)	8.5 (7/82)	6.2 (16/257)	1.41 (0.56-3.55)	0.469
STI (gonorrhea or syphilis) (yes)	22.0 (18/82)	21.0 (54/257)	1.06 (0.58-1.93)	0.856
Tuberculosis (yes)	18.3 (15/82)	23.0 (59/257)	0.75 (0.40-1.41)	0.373
Cough, fever or diarrhea (yes), % (n/N)	12.2 (10/82)	14.8 (38/257)	0.80 (0.38-1.69)	0.558
Frequent diarrhea (≥ 4 times/month), % (n/N)	3.7 (3/82)	5.4 (14/257)	0.66 (0.19-2.35)	0.772
Risk group (non-heterosexual), % (n/N)	23.2 (19/82)	21.8 (56/257)	1.14 (0.63-2.08)	0.670
Current CD4+ < 200 (AIDS), % (n/N)	8.5 (7/82)	8.6 (22/257)	0.96 (0.39-2.38)	0.931
Current HIV viral load > 2000 (detectable), % (n/N)	14.6 (12/82)	11.3 (29/257)	1.44 (0.70-2.97)	0.324
ART adherence $\leq 95\%$ (bad adherence), % (n/N)	12.2 (10/82)	11.7 (30/257)	1.09 (0.50-2.36)	0.832
Hookworms in stool	18.3 (15/82)	0.8 (2/257)	28.55 (6.37-127.90)	<0.001

Data shown as % (n/N) or median (IQR), unless specified otherwise. Statistically significant differences shown in bold. Percentages may not total 100 due to rounding. ^aDefined as absence of paved streets. ^bSelf-medication with Albendazole (dose unknown). ^cOdds Ratio: "Not Infected" is the reference category. STI: sexually transmitted infection.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.t003>

a. Independent Predictors of *S. stercoralis* infection (defined by larvae in stools) from Multivariable Logistic-Regression Analysis



b. Independent Predictors of *S. stercoralis* seropositivity (defined by positive ELISA in serum) from Multivariable Logistic-Regression Analysis

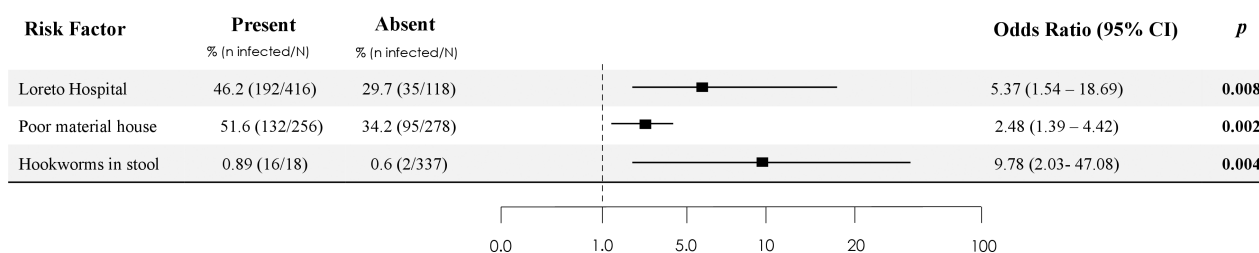


Fig 3. a. Independent Predictors of *S. stercoralis* infection (defined by larvae in stools) from Multivariable Logistic-Regression Analysis. b. Independent Predictors of *S. stercoralis* seropositivity (defined by positive ELISA in serum) from Multivariable Logistic-Regression Analysis.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.g003>

3.6. Risk factors associated with *S. stercoralis* seropositivity

After adjusting by sex, age, and variables with p values ≤ 0.05 in the bivariate analysis (Table 4), four variables had a significant association with *S. stercoralis* seropositivity: belonging to Loreto Regional Hospital catchment area (adjusted OR: 3.88), living in a house made of wood/leaves (adjusted OR: 2.82), having hookworms in stools (adjusted OR: 9.78), and having a low level of education (illiteracy or primary school) (adjusted OR 2.42) (Fig 3b). The model's Cox–Snell R² value was 0.17 and the Nagelkerke R² value was 0.23, with an AUC of 0.72 (95% CI 0.67 – 0.78, p < 0.001).

3.7. Detection of *S. stercoralis* by serology versus stool examination

A total of 354 participants had both stool and serologic results. With the modified Baermann technique and/or charcoal culture as the parasitological reference standard, ELISA had a sensitivity of 92.6% and a negative predictive value of 96.9% (Table 5).

Only one hookworm infection was found to have a positive serology in absence of *S. stercoralis* stool infection.

Discussion

We detected a high prevalence of *S. stercoralis* infections in this population; approximately 1 in 4 PLWH had *S. stercoralis* larvae identified in stool and the seroprevalence was higher than 40%. These findings underscore the importance of developing public health campaigns to screen populations living in tropical regions for *S. stercoralis* infection. Published

Table 4. Variables associated with positive serology against *S. stercoralis*.

	Infection defined by positive ELISA (N=534)			
	Infection (N=227)	Non-Infection (N=307)	OR ^c (IC95%)	p
Sex (male), % (n/N)	71.4 (162/227)	62.2 (191/307)	1.51 (1.05-2.19)	0.027
Age (years), median (IQR)	41 (31, 49)	41 (33, 48)	–	0.942
Health area , % (n/N)				
Hospital Regional de Loreto	84.6 (192/227)	73.0 (224/307)	2.03 (1.31-3.16)	0.001
Hospital de Iquitos	15.4 (35/227)	27.0 (83/307)	1	
Residence (Punchana district), % (n/N)	27.8 (63/227)	23.1 (71/307)	1.28 (0.86-1.89)	0.223
Occupation (primary sector), % (n/N)	21.6 (49/227)	15.6 (48/307)	1.49 (0.96-2.31)	0.078
Education (illiterate or completed only primary school), % (n/N)	25.1 (57/227)	18.2 (56/307)	1.50 (1.00-2.28)	0.050
Epidemiological risk factors , % (n/N)				
Lives with dogs, cats or farm animals (yes)	69.2 (157/227)	69.1 (212/307)	1.01 (0.69-1.46)	0.979
Walks barefoot (yes)	27.8 (63/227)	26.1 (80/307)	1.09 (0.74-1.60)	0.662
Resid in rural location ^a (yes)	36.1 (82/227)	30.9 (95/307)	1.26 (0.88-1.82)	0.209
Lives in house made of wood or leaves (yes)	58.1 (132/227)	40.4 (124/307)	2.05 (1.45-2.91)	<0.001
Alcohol or tobacco consumption (yes)	52.9 (120/227)	50.8 (156/307)	1.09 (0.77-1.53)	0.639
Albendazole ^b 6 months prior to study	8.8 (20/227)	8.8 (27/307)	1.00 (0.55-1.84)	0.995
Previous infections , % (n/N)				
Chronic hepatitis (yes)	7.5 (17/227)	6.2 (19/307)	1.23 (0.62-2.42)	0.554
ITS (gonorrhea or syphilis) (yes)	22.9 (52/227)	18.6 (57/307)	1.30 (0.85-1.99)	0.219
Tuberculosis (yes)	22.5 (51/227)	23.8 (73/307)	0.93 (0.62-1.40)	0.723
Cough, fever or diarrhea (yes), % (n/N)	13.7 (31/227)	18.6 (57/307)	0.69 (0.43-1.12)	0.131
Frequent diarrhea (>= 4 times/month), % (n/N)	3.1 (7/227)	4.9 (15/307)	0.62 (0.25-1.55)	0.300
Risk group (non-heterosexual), % (n/N)	26.9 (61/227)	20.2 (62/307)	1.50 (1.00-2.26)	0.052
Current CD4+ <200 (AIDS), % (n/N)	9.3 (21/227)	10.1 (31/307)	0.93 (0.51-1.68)	0.802
Current viral load >2000 (detectable), % (n/N)	14.5 (33/227)	8.8 (27/307)	1.76 (1.02-3.02)	0.040
Adherence <= 95% (bad adherence), % (n/N)	12.8 (29/227)	11.1 (34/307)	1.18 (0.69-2.02)	0.547
Hookworms in stool	7.0 (16/227)	0.7 (2/307)	10.47 (2.37-46.24)	<0.001

Data shown as % (n/N) or median (IQR), unless specified otherwise. Statistically significant differences shown in bold. Percentages may not total 100 due to rounding. ^aDefined as absence of paved streets. ^bSelf-medication with Albendazole (dose unknown). ^cOdds Ratio: Non-Infection is a reference category.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.t004>

Table 5. Comparison of *S. stercoralis* serology and stool examinations.

<i>S. stercoralis</i> ELISA	Modified Baermann Methods and/or Charcoal Culture		
	Positive	Negative	Total
Positive	75	86	161
Negative	6	187	193
Total	81	273	354

Sensitivity: **92.6%**; 95 IC: 0.84 - 0.97

Specificity: **68.5%**; 95% IC: 0.63 - 0.74

Positive predictive value: **46.6%**; 95% IC: 0.39 to 0.55

Negative predictive value: **96.9%**; 95% IC 0.93 to 0.99

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013231.t005>

data describing *S. stercoralis* prevalence among PLWH are scarce [8,18]. Most publications suggest a higher risk of co-infection with *S. stercoralis* in PLWH versus the general population [19–21], although PLWH do not seem to have a higher risk of disseminated strongyloidiasis, probably due to their protective Th2 cytokine patterns [22–24]. *S. stercoralis* prevalence is likely highest in impoverished tropical areas such as the Peruvian Amazon basin, although no prior studies exist of *S. stercoralis* infection in PLWH living in this region [5].

Regarding available epidemiologic data for strongyloidiasis in Latin America, a recent systematic review estimated the global pooled prevalence of HIV and *S. stercoralis* co-infection to be 5%, and as high as 8% in some Caribbean and Latin American countries (including Cuba, Brazil, and Venezuela) [22]. Studies of strongyloidiasis in Brazil, a large country that shares Amazonian areas with Peru, indicate varied prevalences in PLWH, from 2–4% in the subtropical city of Sao Paulo [25,26], to 12% in the high altitude tropical city of Minas Gerais [27] and 30% in the northeastern tropical city of Fortaleza [28]. In this last study, conducted in an area similar to ours, *S. stercoralis* prevalence was significantly higher in PLWH than in general population: 30% vs 11%. A Colombian cohort of PLWH demonstrated 0.5% stool prevalence of *S. stercoralis*, but, notably, the investigators performed only one stool test specific for *S. stercoralis* (agar culture). Ehsan et al. [18], in one of the few meta-analyses describing geographical *S. stercoralis* prevalence in PLWH, reported a pooled stool prevalence of 6.9% in Peru. To the best of our knowledge, our study is the first to provide strongyloidiasis prevalence data for one of the largest cohorts of PLWH in the Peruvian Amazon.

Expanding our review of the HIV-*S. stercoralis* coinfection literature to outside of Latin America, several publications of Asian and African PLWH utilized specific *S. stercoralis* techniques to evaluate prevalence in stool specimens. One study of nearly 1,500 PLWH from eastern India found a stool prevalence of 3.76% [29]. Similar studies describe stool prevalence of 10.8% in Laos [30], 2.4–11.5% in Ethiopia [31,32], and 8.2% in Uganda [33]. Therefore, globally, most studies of stool specimens of PLWH reveal a lower prevalence of *S. stercoralis* than our study.

Studies of *S. stercoralis* in populations without HIV living in or near Iquitos report a 10% stool prevalence among pregnant women [10], 8.7% among people living along the Nanai River [11], and 10.5% among children living in Padre Cocha [13]. Several studies published prevalences closer to ours: 16% in schoolchildren in San Martin in 1999 and 19.5% in outpatients with diarrhea in Madre de Dios in 2001 [10]. Gallardo et al. [12] reported one of the highest prevalences (28.8%), while studying stools of another vulnerable population, soldiers, in 2015. Finally, a 2005 study in a rural community of the Pasco region, which is further from Iquitos but still within the Amazon, concluded a higher prevalence than ours, 38.5% [34].

Regarding seropositivity, we found a 42.5% *Strongyloides* seroprevalence in our cohort of PLWH. Studies of other populations living in or near Iquitos also describe high seroprevalences, including 72% in a rural community 15 km from Iquitos [11], 65% in recently published cross-sectional study in general population [35], and 33% in pregnant women [10], being the latter two studies conducted by our research group, with a median difference of prevalence between stool and serum of approximately 20% [36]. Outside Latin America, Asia is the continent best represented, from which studies report seroprevalence rates ranging between 20% and 45% and indicate that seroprevalence increases with the population's degree of rurality or distance from health care [37–39].

In areas of high endemicity, *Strongyloides* crude antigen IgG ELISA is known to have a lower specificity compared to reference stool tests because (1) *Strongyloides* IgG antibodies persist for many years after treatment and (2) the crude antigen lysate allows for cross-reactivity with other helminths that can be co-endemics with *S. stercoralis* [40]. Besides, ELISA's sensitivity may be reduced in patients with AIDS due to impaired immune responses to the parasite [41]. In our study, the specificity of the ELISA was close to 70%, similar to a study of pregnant women in Iquitos performed with the same test [10], probably due to the persistence of antibodies in an endemic area (only one patient had a positive ELISA for *S. stercoralis* with a discordant parasite in stool). About ELISA's sensitivity and negative predictive value, they were greater than 90%, higher than in the previously cited study, where it only reached 70% [10]. The higher cutoff point that we chose for this study could be responsible for this improvement.

Although various immunocompromising conditions have been associated with *Strongyloides* hyperinfection syndrome, HTLV-1 infection (also present in Iquitos, with an estimated prevalence in general population of 1–2% [10,35] but unknown between PLWH), and iatrogenic immunosuppression via corticosteroid use are the most consistent associations [8]. PLWH, especially those with AIDS, are a vulnerable group with a relatively high utilization of corticosteroid therapy [23]. Previous investigations in PLWH [18,25,32,42] suggest that the socioeconomic status, AIDS stage, alcoholism or male gender may contribute to risk for *S. stercoralis* infection in this group [8,21].

Studies evaluating specific risk factors are rare. In our cohort, adjusted risk of *S. stercoralis* stool positivity was higher among PLWH living in a house made of wood/leaves (used as a proxy for low socioeconomic status), in a rural area (defined by the presence of unpaved streets, regardless of housing material), or with a low level of education. These findings are consistent with well-established risk factors, including poor sanitation, contact with fecal contaminated soil due to lifestyle practices, limited access to healthcare, and overall socioeconomic vulnerability [5,23,43,44]. Additionally, we found that study participants attending Loreto Regional Hospital—an urban area in the confluence of two major rivers—, had a higher risk of *S. stercoralis* infection than those attending Iquitos Hospital. Loreto Regional Hospital is the referral hospital for people from river communities with limited access to potable water, which may explain our results. This data also could be influenced by the higher amount of patients collected in this Hospital. Hookworm infection in stool was significantly associated with both *S. stercoralis* infection and seropositivity. This co-occurrence has been discussed in previous literature, as the distribution of both helminths often overlaps due to similar biological and epidemiological characteristics. Consequently, hookworm has been proposed as a proxy indicator for estimating the global burden of strongyloidiasis [11,45]. Although cross-reactivity in serology remains a concern, it did not affect ELISA's specificity in our cohort, as previously discussed.

In our study, AIDS stage was not significantly associated with either *S. stercoralis* stool positivity or seropositivity [33]. A viral load >2000 copies/ml was significantly associated with seropositivity in the bivariate analysis, though not in the multivariate analysis. However, the substantial amount of missing data on CD4 count and viral load limits the strength of conclusions regarding the association between poor immunovirological control and infection risk. Other previously described risk factors, including a non-heterosexual sexual orientation [25,20], low educational level, agricultural occupation [31], and male sex [18,43], were borderline-associated with *S. stercoralis* seropositivity in the bivariate analysis but not found to be significant risk factors in the multivariate analysis. Deworming treatment within the past six months appeared protective against *S. stercoralis* stool positivity in the bivariable analysis but was not significant in the multivariate analysis [33]. Although albendazole (administered twice over three days) may explain this effect, many participants could not recall the exact drug dosage, which may have influenced the results.

A key strength of this study is its comprehensive approach to evaluate *S. stercoralis* infection in PLWH, utilizing two complementary classes of tests: parasitological analysis of stool samples and serological testing. Additionally, the study focuses on a population from a highly endemic Amazonian region, providing valuable epidemiological insights into an area where data on this common coinfection are scarce. Our large sample size further strengthens the reliability and generalizability of the findings.

This study has several limitations. First, we collected and analyzed only a single stool sample, which may have underestimated the true prevalence of *S. stercoralis* [46]. Analyzing three samples could have improved the detection rate of active infection [47]. To mitigate this limitation, we used two different parasitological techniques to enhance the sensitivity of larval detection. Second, the absence of molecular techniques, (e.g., PCR), which are highly sensitive and useful for identifying low-level infections, may have limited diagnostic accuracy. Additionally, our cohort primarily included PLWH who were actively engaged in routine care, possibly underrepresenting individuals not accessing care—who may be at greater risk of infection. Finally, the large amount of missing data on CD4 and viral load hindered our ability to fully explore associations between immunovirological control and infection risk. While our findings highlight a high burden of *S. stercoralis* in the Amazon, they may not be generalizable to regions with different epidemiological contexts.

Conclusion

Infection with *Strongyloides stercoralis* is common and potentially serious among people living with PLWH in Iquitos and the surrounding areas, affecting nearly one in four individuals, primarily from impoverished backgrounds. It is essential to implement a routine screening program for *S. stercoralis*, especially at the time of entry into HIV care and during follow-up visits, due to the risk of reinfection. This measure could reduce *Strongyloides*-related morbidity and prevent severe complications, such as *Strongyloides* hyperinfection syndrome.

Furthermore, our findings underscore the urgent need for large-scale public health interventions, including deworming protocols targeted at vulnerable populations and improved access to effective screening and diagnostic tools tailored to low resource endemic regions. Proactively working toward the control of strongyloidiasis will not only improve the quality of life for PLWH but also reduce the broader public health burden in Amazonian areas.

Supporting information

S1 File. Graphical abstract summarizing the study protocol and its main results.

(TIF)

Acknowledgments

We want to thank the medical staff of the Infectious Diseases Service in Loreto Regional Hospital and Iquitos Hospital, together with the laboratory staff of LIPNAA-CIRNA and Asociación Civil Selva Amazónica for the support on the field.

Author contributions

Conceptualization: Silvia Otero Rodriguez, Martin Casapia-Morales, Viviana Pinedo-Cancino, Esperanza Merino, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Data curation: Silvia Otero Rodriguez, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Formal analysis: Silvia Otero Rodriguez, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Funding acquisition: Silvia Otero Rodriguez, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Investigation: Silvia Otero Rodriguez, Seyer Mego-Campos, Victoria-Ysabel Villacorta-Pezo, Jorge Parráquez-de-la-Cruz.

Methodology: Silvia Otero Rodriguez, Martin Casapia-Morales, Eva H Clark, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Project administration: Silvia Otero Rodriguez, Martin Casapia-Morales, Viviana Pinedo-Cancino, Esperanza Merino, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Resources: Silvia Otero Rodriguez.

Validation: Silvia Otero Rodriguez, Martin Casapia-Morales, Viviana Pinedo-Cancino, Eva H Clark, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Writing – original draft: Silvia Otero Rodriguez, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

Writing – review & editing: Silvia Otero Rodriguez, Martin Casapia-Morales, Viviana Pinedo-Cancino, Seyer Mego-Campos, Victoria-Ysabel Villacorta-Pezo, Jorge Parráquez-de-la-Cruz, Eva H Clark, Esperanza Merino, Jose-Manuel Ramos-Rincon.

References

1. Nutman TB. Human infection with *Strongyloides stercoralis* and other related *Strongyloides* species. *Parasitology*. 2017;144(3):263–73. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000834> PMID: [27181117](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27181117/)
2. Greaves D, Coggle S, Pollard C, Aliyu SH, Moore EM. *Strongyloides stercoralis* infection. *BMJ*. 2013;347:f4610. <https://doi.org/10.1136/bmj.f4610> PMID: [23900531](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900531/)

3. Buonfrate D, Bisanzio D, Giorli G, Odermatt P, Fürst T, Greenaway C, et al. The Global Prevalence of *Strongyloides stercoralis* Infection. *Pathogens*. 2020;9(6):468. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060468> PMID: 32545787
4. Chan AHE, Thaenkhom U. From past to present: opportunities and trends in the molecular detection and diagnosis of *Strongyloides stercoralis*. *Parasit Vectors*. 2023;16(1):123. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05763-8> PMID: 37041645
5. Czeresnia JM, Weiss LM. *Strongyloides stercoralis*. *Lung*. 2022;200(2):141–8. <https://doi.org/10.1007/s00408-022-00528-z> PMID: 35396957
6. World Health Organization. WHO guideline on preventive chemotherapy for public health control of strongyloidiasis. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2024.
7. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. Situación epidemiológica del VIH - Sida en el Perú. 2024. https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/vih-sida/vih-sida_20246_16_153419.pdf
8. Keiser PB, Nutman TB. *Strongyloides stercoralis* in the Immunocompromised Population. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17(1):208–17. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.1.208-217.2004> PMID: 14726461
9. Vidal-Anzardo M, Moscoso MY, Fabian MB. Parasitosis intestinal: helmintos. Prevalencia y análisis de la tendencia de los años 2010 a 2017 en el Perú. 2010.
10. Ortiz-Martínez S, Ramos-Rincón J-M, Vásquez-Chasnamote M-E, Alarcón-Baldeón JJ, Parraguez-de-la-Cruz J, Gamboa-Paredes O-N, et al. A Cross-Sectional Study of Seroprevalence of Strongyloidiasis in Pregnant Women (Peruvian Amazon Basin). *Pathogens*. 2020;9(5):348. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050348> PMID: 32375325
11. Yori PP, Kosek M, Gilman RH, Cordova J, Bern C, Chavez CB, et al. Seroepidemiology of strongyloidiasis in the peruvian amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;74(1):97–102. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.74.97>
12. Gallardo MS, Cornejo M, Rios GV, Errea R, Urquiaga J, Montoya D, et al. High prevalence of intestinal parasites among soldiers in Peru: another population at risk. 2015. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4836.0169>
13. Errea RA, Vasquez-Rios G, Calderon ML, Siu D, Duque KR, Juarez LH, et al. Soil-Transmitted Helminthiasis in Children from a Rural Community Taking Part in a Periodic Deworming Program in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;101(3):636–40. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-1011> PMID: 31309921
14. Buonfrate D, Formenti F, Perandin F, Bisoffi Z. Novel approaches to the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21(6):543–52. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.04.001> PMID: 25887711
15. Marcos RLA, Canales M, Terashima A. Métodos de diagnóstico para *Strongyloides stercoralis* en el Perú. *Rev Peru Parasitol*. 2010;18:8.
16. Hailegebriel T, Petros B, Endeshaw T. Evaluation of Parasitological Methods for the Detection of *Strongyloides Stercoralis* among Individuals in Selected Health Institutions In Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiop J Health Sci*. 2017;27(5):515–22. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v27i5.10> PMID: 29217957
17. Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Statist Med*. 1998;17(8):857–72. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0258\(19980430\)17:8<857::aid-sim777>3.0.co;2-e](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0258(19980430)17:8<857::aid-sim777>3.0.co;2-e)
18. Ahmadpour E, Ghanizadegan MA, Razavi A, Kangari M, Seyfi R, Shahdust M, et al. *Strongyloides stercoralis* infection in human immunodeficiency virus-infected patients and related risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Transbound Emerg Dis*. 2019;66(6):2233–43. <https://doi.org/10.1111/tbed.13310> PMID: 31359566
19. Feitosa G, Bandeira AC, Sampaio DP, Badaró R, Brites C. High prevalence of giardiasis and strongyloidiasis among HIV-infected patients in Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2001;5(6):339–44. <https://doi.org/10.1590/s1413-86702001000600008> PMID: 12010598
20. Vazquez Guillamet LJ, Saul Z, Miljkovich G, Vilchez GA, Mendonca N, Gourineni V, et al. *Strongyloides Stercoralis* Infection Among Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected Patients in the United States of America: A Case Report and Review of Literature. *Am J Case Rep*. 2017;18:339–46. <https://doi.org/10.12659/ajcr.902626> PMID: 28366929
21. Schär F, Trostorf U, Giardina F, Khieu V, Muth S, Marti H, et al. *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(7):e2288. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002288> PMID: 23875033
22. Akanksha K, Kumari A, Dutta O, Prasanth A, Deeba F, Salam N. Prevalence of soil-transmitted helminth infections in HIV patients: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2023;13(1):11055. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38030-y> PMID: 37422549
23. Marcos LA, Terashima A, Dupont HL, Gotuzzo E. *Strongyloides* hyperinfection syndrome: an emerging global infectious disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2008;102(4):314–8. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.01.020> PMID: 18321548
24. Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clin Infect Dis*. 2001;33(7):1040–7. <https://doi.org/10.1086/322707> PMID: 11528578
25. Barcelos NB, Silva LFE, Dias RFG, Menezes Filho HRD, Rodrigues RM. Opportunistic and non-opportunistic intestinal parasites in HIV/AIDS patients in relation to their clinical and epidemiological status in a specialized medical service in Goiás, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2018;60:e13. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860013> PMID: 29538510
26. Cimerman S, Cimerman B, Lewi DS. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. *Int J Infect Dis*. 1999;3(4):203–6. [https://doi.org/10.1016/s1201-9712\(99\)90025-5](https://doi.org/10.1016/s1201-9712(99)90025-5) PMID: 10575149
27. Silva CV, Ferreira MS, Borges AS, Costa-Cruz JM. Intestinal parasitic infections in HIV/AIDS patients: experience at a teaching hospital in central Brazil. *Scand J Infect Dis*. 2005;37(3):211–5. <https://doi.org/10.1080/00365540410020875> PMID: 15849055

28. Bachur TPR, Vale JM, Coêlho ICB, Queiroz TRBS, Chaves C de S. Enteric parasitic infections in HIV/AIDS patients before and after the highly active antiretroviral therapy. *Braz J Infect Dis.* 2008;12(2):115–22. <https://doi.org/10.1590/s1413-86702008000200004> PMID: [18641847](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18641847/)
29. Seema K, Kumar A, Boipai M, Kumar M, Sharma AK. Prevalence of intestinal parasites in HIV/AIDS-infected patients with correlation to CD4+ T-cell count at hospital in Eastern India. *J Family Med Prim Care.* 2023;12(11):2884–7. https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe.806_23 PMID: [38186830](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38186830/)
30. Kaneshiro Y, Sourinphoumy K, Imaizumi N, Rasaphon M, Kuba-Miyara M, Sakihama S, et al. Intestinal helminth infections in HIV-infected patients in Savannakhet after establishment of an HIV registration network in Lao People's Democratic Republic. *Trop Med Health.* 2019;47:14. <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0142-0> PMID: [30804703](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30804703/)
31. Miressa R, Dufera M. Prevalence and Predisposing Factors of Intestinal Parasitic Infections Among HIV Positive Patients Visiting Nekemte Specialized Hospital, Western Ethiopia. *HIV AIDS (Auckl).* 2021;13:505–12. <https://doi.org/10.2147/HIV.S304294> PMID: [34017200](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34017200/)
32. Aliyo A, Gemechu T. Assessment of intestinal parasites and associated factors among HIV/AIDS patients on antiretroviral therapy at Bule Hora General Hospital, West Guji, Ethiopia. *SAGE Open Med.* 2022;10:20503121221124685. <https://doi.org/10.1177/20503121221124685> PMID: [36147874](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36147874/)
33. Mwebaza S, Senyonga B, Atuhairwe C, Taremwa IM. Prevalence and associated factors of intestinal parasitic infections among HIV clients attending Masaka Regional Referral Hospital, Uganda. *Pan Afr Med J.* 2022;43:122. <https://doi.org/10.11604/pamj.2022.43.122.15957> PMID: [36762162](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36762162/)
34. Lau chong C, Samalvides Cuba F, Terashima Iwashita A. Evaluación de técnicas parasitológicas en el diagnóstico de estrogiloidiasis por *Strongyloides stercoralis*. *Rev Med Hered.* 2012;16(1):11. <https://doi.org/10.20453/rmh.v16i1.858>
35. Casapia-Morales M, Casanova-Rojas W-S, Vázquez-Ascate J, Carey-Angeles C-A, Alvarez-Antonio C, Alava-Arévalo F-F, et al. Seroprevalence of *Strongyloides stercoralis*, human T-lymphotropic virus, and Chagas disease in the Peruvian Amazon: a cross-sectional study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2024;66:e73. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202466073> PMID: [39699511](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39699511/)
36. Anselmi M, Guevara A, Vicuña Y, Vivero S, Prandi R, Caicedo C, et al. Community Epidemiology Approach to Parasitic Infection Screening in a Remote Community in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.* 2019;101(3):650–3. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0187> PMID: [31333160](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31333160/)
37. Van De N, Minh PN, Van Duyet L, Mas-Coma S. Strongyloidiasis in northern Vietnam: epidemiology, clinical characteristics and molecular diagnosis of the causal agent. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):515. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3776-1> PMID: [31685003](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31685003/)
38. Ahmad AF, Hadip F, Ngui R, Lim YAL, Mahmud R. Serological and molecular detection of *Strongyloides stercoralis* infection among an Orang Asli community in Malaysia. *Parasitol Res.* 2013;112(8):2811–6. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3450-z> PMID: [23666229](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23666229/)
39. Sultana Y, Gilbert GL, Ahmed B-N, Lee R. Strongyloidiasis in a high risk community of Dhaka, Bangladesh. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012;106(12):756–62. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2012.08.011> PMID: [23084030](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23084030/)
40. Arifin N, Hanafiah KM, Ahmad H, Noordin R. Serodiagnosis and early detection of *Strongyloides stercoralis* infection. *J Microbiol Immunol Infect.* 2019;52(3):371–8. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.10.001> PMID: [30482708](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30482708/)
41. Nabha L, Krishnan S, Ramanathan R, Mejia R, Roby G, Sheikh V, et al. Prevalence of *Strongyloides stercoralis* in an urban US AIDS cohort. *Pathog Glob Health.* 2012;106(4):238–44. <https://doi.org/10.1179/2047773212Y.00000000031> PMID: [23265425](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23265425/)
42. Gedle D, Kumera G, Eshete T, Ketema K, Adugna H, Feyera F. Intestinal parasitic infections and its association with undernutrition and CD4 T cell levels among HIV/AIDS patients on HAART in Butajira, Ethiopia. *J Health Popul Nutr.* 2017;36(1):15. <https://doi.org/10.1186/s41043-017-0092-2> PMID: [28506307](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28506307/)
43. Khieu V, Schär F, Marti H, Bless PJ, Char MC, Muth S, et al. Prevalence and risk factors of *Strongyloides stercoralis* in Takeo Province, Cambodia. *Parasit Vectors.* 2014;7:221. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-221> PMID: [24886763](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24886763/)
44. Schär F, Giardina F, Khieu V, Muth S, Vounatsou P, Marti H, et al. Occurrence of and risk factors for *Strongyloides stercoralis* infection in South-East Asia. *Acta Trop.* 2016;159:227–38. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.03.008> PMID: [25795619](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25795619/)
45. Krolewiecki A, Nutman TB. Strongyloidiasis: A Neglected Tropical Disease. *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(1):135–51. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2018.10.006> PMID: [30712758](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30712758/)
46. Campo Polanco L, Gutiérrez LA, Cardona Arias J. Diagnosis of *Strongyloides Stercoralis* infection: meta-analysis on evaluation of conventional parasitological methods (1980-2013). *Rev Esp Salud Publica.* 2014;88(5):581–600. <https://doi.org/10.4321/S1135-57272014000500004> PMID: [25327268](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25327268/)
47. Nielsen PB, Mojon M. Improved diagnosis of strongyloides stercoralis by seven consecutive stool specimens. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A.* 1987;263(4):616–8. [https://doi.org/10.1016/s0176-6724\(87\)80207-9](https://doi.org/10.1016/s0176-6724(87)80207-9) PMID: [3604502](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3604502/)

4.2. Objetivo 2

4.2.1. Referencia del artículo

Otero-Rodriguez S, Pinedo-Cancino V, Casapia-Morales M, Villacorta-Pezo VY, Mego-Campos, S, Parráquez-de-la-Cruz J, Merino E, Clark E.H, Ramos-Rincón JM. *Prevalence of Intestinal Protozoa Among Patients Living with HIV in the Peruvian Amazon. Trop. Med. Infect. Dis.* 2025;10(11):324.

4.2.2. Abstract en español

Los protozoos intestinales son una causa frecuente de morbilidad en personas que viven con VIH (PVV), especialmente en regiones tropicales con saneamiento deficiente. Realizamos un estudio transversal en 315 PVV de Iquitos, Perú, entre octubre de 2023 y mayo de 2024, para evaluar su prevalencia y factores de riesgo. Las muestras fecales se analizaron mediante yodo de Lugol, tinción de Ziehl–Neelsen modificada e inmunocromatografía. La edad media fue de 41 años, con una mediana de CD4+ de 431 células/ μ L; el 12.4% se encontraba en estadio SIDA y el 21.5% tenía carga viral detectable. El 51.4% de los participantes fue positivo para algún protozoo intestinal. La prevalencia global de *Cryptosporidium spp.* (combinando los resultados de ZNM e ICT) fue del 25.7%. Las prevalencias globales de *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.* (combinando Lugol e ICT) fueron del 2.9% y 1.9% respectivamente. *Blastocystis spp.* se aisló con frecuencia, aunque su patogenicidad sigue siendo incierta. La concordancia diagnóstica fue casi perfecta entre Lugol e ICT para *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.* ($\kappa=0.87$; $p<0.001$ y $\kappa=0.91$; $p<0.001$, respectivamente), pero solo ligera entre ZNM e ICT. Las prácticas homosexuales se identificaron como un factor de riesgo significativo para la infección por protozoos patógenos (ORa: 2.52; IC del 95%: 1.04–6.12). En conclusión, la elevada prevalencia de infección por protozoos refleja una exposición feco–oral persistente, lo que resalta la necesidad de educación sanitaria, diagnóstico rutinario y tratamiento en entornos similares.

4.2.3. Artículo original



Article

Prevalence of Intestinal Protozoa Among Patients Living with HIV in the Peruvian Amazon

Silvia Otero-Rodríguez^{1,2,*}, Viviana Pinedo-Cancino^{3,4}, Martin Casapia-Morales^{3,5,6},
Victoria-Ysabel Villacorta-Pezo⁷, Seyer Mego-Campos⁴, Jorge Parráguéz-de-la-Cruz⁸, Esperanza Merino^{1,2,9},
Eva H. Clark¹⁰ and José-Manuel Ramos-Rincón^{2,9,11}

- ¹ Infectious Diseases Unit, Doctor Balmis University General Hospital, 03010 Alicante, Spain; merino_luc@gva.es
 - ² Alicante Institute of Sanitary and Biomedical Research (ISABIAL), 03010 Alicante, Spain; jose.ramosr@umh.es
 - ³ Faculty of Human Medicine, National University of the Peruvian Amazon, Iquitos 16007, Peru; viviana.pinedo@unapiquitos.edu.pe (V.P.-C.); mcasapia@acsaperu.org (M.C.-M.)
 - ⁴ Laboratory for Research on Natural Antiparasitic Products of the Amazon (LIPNAA-CIRNA), National University of the Peruvian Amazon, Iquitos 16007, Peru; megoseyer@gmail.com
 - ⁵ Infectious Diseases and Tropical Medicine Service, Loreto Regional Hospital, Iquitos 16001, Peru
 - ⁶ Medical Department, Asociación Civil Selva Amazónica, Iquitos 16001, Peru
 - ⁷ Clinical Laboratory, National University of the Peruvian Amazon, Iquitos 16007, Peru; villacortapezovictoria@gmail.com
 - ⁸ Clinical Laboratory, Asociación Civil Selva Amazónica, Iquitos 16001, Peru; jparraguez@acsaperu.org
 - ⁹ Clinical Medicine Department, Miguel Hernández University of Elche, 03202 Elche, Spain
 - ¹⁰ Department of Medicine (Infectious Diseases) and Department of Pediatrics (Tropical Medicine), Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA
 - ¹¹ Internal Medicine Department, Doctor Balmis University General Hospital, 03010 Alicante, Spain
- * Correspondence: o.silvia.r@gmail.com

Abstract

Intestinal protozoa are a common cause of morbidity in people living with HIV (PWH), particularly in tropical regions with poor sanitation. We conducted a cross-sectional study in 315 PWH from Iquitos, Peru, between October 2023 and May 2024, to assess their prevalence and risk factors. Stool samples were examined using Lugol's iodine, modified Ziehl–Neelsen (MZN) staining, and immunochromatography (ICT). The mean age was 41 years, with a median CD4+ count of 431 cells/ μ L; 12.4% were in the AIDS stage, and 21.5% had a detectable viral load. 51.4% of the participants tested positive for any intestinal protozoa. The overall *Cryptosporidium* spp. prevalence (by combining MZN and ICT results) was 25.7%. The overall *Giardia* spp. and *Entamoeba* spp. prevalences (by combining Lugol's iodine and ICT results) were 2.9% and 1.9%, respectively. *Blastocystis* spp. was frequently isolated, though its pathogenicity remains uncertain. Diagnostic agreement was almost perfect between Lugol and ICT for *Giardia* and *Entamoeba* ($\kappa = 0.87$; $p < 0.001$ and $\kappa = 0.91$; $p < 0.001$, respectively), but only slight between MZN and ICT. Homosexual practices were identified as a significant risk factor for pathogenic protozoa infection (AOR 2.52; 95% CI: 1.04–6.12). In conclusion, the high prevalence of protozoa infection reflects ongoing fecal–oral exposure, underscoring the need for public health education, routine diagnosis, and treatment in similar settings.

Keywords: intestinal protozoa; parasite; *Cryptosporidium*; *Giardia*; *Entamoeba*; HIV; Peru



Academic Editors: Ricardo Izurieta and Enrique Terán

Received: 8 October 2025

Revised: 6 November 2025

Accepted: 14 November 2025

Published: 18 November 2025

Citation: Otero-Rodríguez, S.; Pinedo-Cancino, V.; Casapia-Morales, M.; Villacorta-Pezo, V.-Y.; Mego-Campos, S.; Parráguéz-de-la-Cruz, J.; Merino, E.; Clark, E.H.; Ramos-Rincón, J.-M. Prevalence of Intestinal Protozoa Among Patients Living with HIV in the Peruvian Amazon. *Trop. Med. Infect. Dis.* **2025**, *10*, 324. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed10110324>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Intestinal protozoa are common in immunocompromised patients and an important cause of diarrhea in patients living with HIV (PWH) worldwide [1], particularly in tropical low-resource countries that are challenged by scarce access to potable water and/or robust sanitation infrastructure [2,3].

Cryptosporidium spp. is a well-recognized opportunistic intestinal protozoa that cause acute or chronic enterocolitis, with severity varying according to the host's immune status [4]. In fact, it is classified as an acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)-defining illness, as it predominantly affects PWH with profound immunosuppression, in whom it can lead to severe, life-threatening diarrheal disease [4–7]. Additionally, it can cause epidemic outbreaks [8]. *Giardia duodenalis* can cause similar gastrointestinal manifestations, particularly diarrhea and malabsorption, which can be more persistent and difficult to treat in immunocompromised hosts, although it is less frequently associated with life-threatening disease [9]. *Entamoeba histolytica* is a well-recognized pathogenic intestinal protozoan capable of causing amebic colitis, with disease severity largely determined by the host's immune status. In immunocompromised patients, such as those with advanced HIV infection, *E. histolytica* infection may progress to more severe manifestations, including amebic liver abscesses and fulminant amebic dysentery [10].

Blastocystis spp., traditionally known as a commensal parasite, is a parasite frequently found in human fecal samples [11,12]. Its pathogenicity remains uncertain; however, certain subtypes (such as ST1 and ST7) have been associated with gastrointestinal symptoms—including diarrhea, bloating, or abdominal pain—and, in some reports, with irritable bowel syndrome and pruritus, possibly mediated through alterations of the intestinal microbiome [13]. This suggests that the clinical relevance of *Blastocystis* may be limited to specific populations and clinical contexts. *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, and *Iodamoeba bütschlii* are generally considered non-pathogenic in humans, but their presence in stool may serve as a sentinel for infection with pathogenic organisms [14].

The prevalence of intestinal protozoa is likely underestimated given the high proportion of asymptomatic infections, low sensitivity of standard microscopy, and scarcity of personnel who are competent in parasitology diagnosis [6]. Despite this, it is consistently reported to be high among PWH in Peru [15], sometimes reaching levels twice as high as in healthy individuals [16]. Some reports describe intestinal protozoa in PWH in Lima, with an overall prevalence of 47.5%. *Cryptosporidium* spp., *Blastocystis* spp., and *Giardia duodenalis* were the most common, with prevalences of approximately 20%, 11%, and 8%, respectively [17,18]. However, no studies have assessed the HIV population in the Peruvian Amazon basin.

Iquitos, Peru, the largest city in the Peruvian Amazon (Loreto Department), presents a unique context for studying the prevalence of intestinal protozoa in PWH. It has the second-highest prevalence of PWH in Peru, after Lima; more than 1000 patients presented to Iquitos' public hospitals, and 272 new HIV cases were diagnosed in the latter part of 2023 [19]. The city has distinctive environmental and socio-economic factors (hot and humid conditions, limited access to healthcare and potable water, high levels of poverty), which could contribute to a high burden of intestinal parasitic infections. Despite the favorable environment for intestinal protozoa infections, their epidemiology in PWH is understudied. Addressing this knowledge gap is crucial for developing targeted clinical and public health interventions to improve the care of PWH.

The objective of this study was to assess the parasitological prevalence and risk factors for intestinal protozoa infection in established outpatients attending HIV-dedicated clinics in Iquitos, Peru.

2. Materials and Methods

We conducted a cross-sectional study of PWH receiving care at one of two hospitals in Iquitos, Loreto Department, Peru: (1) the Regional Hospital of Loreto “Felipe Santiago Arriola Iglesias”, a referral center for patients from the northern part of the city or surrounding rural communities), and (2) the Hospital of Iquitos “César Garayar García”, a referral center for patients from the southern part of the city, from 20 October 2023 to 20 May 2024.

2.1. Study Population and Inclusion/Exclusion Criteria

We included adult outpatients (≥ 18 years) with confirmed HIV infection who were attending HIV-dedicated clinics for routine follow-up at either the Regional Hospital of Loreto or the Hospital of Iquitos and were able to provide stool specimens. Previously enrolled patients were excluded from re-entry during the study period.

2.2. Enrollment Procedures

Patients were enrolled consecutively after being informed about the study when they attended either hospital for their routine follow-up visits, which are typically scheduled every six months. After informed consent, the participant’s socio-epidemiological, clinical, and HIV-related data were collected through a structured interview and recorded in an electronic Excel spreadsheet due to the lack of a stable internet connection. The presence of diarrhea was classified according to the patient’s self-report, while frequency was categorized into three categories (at least once a day, at least once a week, at least once a month). Next, study participants submitted a fresh stool specimen, which was preserved under cold-chain conditions and processed for copro-parasitological examination on the same day. If participants could not submit the stool sample, a driver collected it from their home within the following week, provided they consented to a home visit. All participants agreed to home collection. The driver was available by call from 9:00 a.m. to 7:00 p.m., Monday through Friday, with patients instructed to keep samples refrigerated as much as possible; transport to the clinic usually took 20–30 min, during which samples were maintained in a cooler to preserve the cold chain.

2.3. Stool Specimen Processing, Staining, and Microscopy

Stool samples were examined using Lugol’s iodine solution for the identification of intestinal protozoa; modified Ziehl–Neelsen (MZN) stain for *Cryptosporidium* spp. oocysts (a technique not routinely performed in Iquitos); and an immunochromatographic test (ICT) for *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Entamoeba histolytica/dispar*. All the positive samples were assessed by two technicians, together with the 20% negative stool (control quality) and the MZN stains. Discordant results were re-evaluated until consensus was reached. In addition, standard quality control procedures were followed throughout the staining and reading processes.

- Lugol’s iodine solution: Each fecal specimen was analyzed using Lugol’s iodine solution to enhance the diagnostic accuracy of direct microscopy of wet mounts, looking for *Giardia* spp., *Entamoeba* spp., *Blastocystis* spp., *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, and *Iodamoeba bütschlii*. Due to the expected high volume of samples and the labor-intensive nature of some techniques, a concentration method was not performed. Moreover, given the anticipated high prevalence of intestinal protozoa in this population and the use of additional diagnostic methods (ICT and MZN), the benefit of performing a concentration technique was considered limited [20]. Lugol’s iodine stains glycogen and other cytoplasmic structures, enhancing the visualization of protozoan cysts and trophozoites. *Giardia* cysts typically appear oval with in-

ternal nuclei and axonemes [21], while *Entamoeba* cysts show characteristic nuclear structures and chromatoid bodies, and the trophozoite could appear with red blood cells in the cytoplasm, which allows it to be distinguished from the commensal *E. dispar*, even if it is not a pathognomonic sign [22]. Commensal protozoa, including *Blastocystis*, display variable shapes and internal granularity, whereas *E. coli*, *E. nana*, and *I. bütschlii* cysts can be distinguished by their size, number of nuclei, and cytoplasmic inclusions [23]. This technique is simple, fast, and useful, and provides a cost-effective approach for preliminary identification of intestinal protozoa in laboratory settings.

- **Modified Ziehl–Neelsen stain (MZN):** Briefly, each stool sample was homogenized, and a thin smear was prepared on a slide. After heat-fixing, slides were stained with phenolated fuchsin, decolorized with 3% acid alcohol, counterstained with methylene blue, air-dried, and observed under immersion oil at 100× magnification [24]. To assure high-quality microscopy results, the two study staff microscopists were trained by the Cayetano Heredia University’s Microbiology Service and Selva Amazonica Civil Association before study initiation.
- **Crypto + Giardia + Entamoeba ICT (CerTest®)**, Certest Biotec, Zaragoza, Spain [25]: This one-step combo card test is a colored chromatographic immunoassay for the simultaneous qualitative detection of *Cryptosporidium* spp. (via Anti-Crypto MAb (clone CR23) and inactivated *Cryptosporidium parvum* antigen (native extract)), *Giardia duodenalis* (via α 1-giardin protein and/or the cyst wall protein CWP1, detecting both trophozoites and cysts) and *Entamoeba histolytica/dispar* (via antigens from both species) in stool samples [26]. It is used by mixing a small amount of stool sample with the provided buffer, applying the mixture to the test cassette, and waiting the specified time (usually 10–15 min). The appearance of lines in the result window indicates the presence of antigens from *Cryptosporidium* spp. and/or *Giardia duodenalis* and/or *Entamoeba histolytica/dispar*.

2.4. Data Analysis

Statistical analyses were performed via SPSS Statistics version 22.0 (IBM, Armonk, NY, USA). For descriptive statistics, categorical variables are expressed as frequencies and percentages, while continuous variables are presented as medians with interquartile range (IQRs). The 95% confidence intervals (CIs) were calculated using the Newcombe method [27]. Categorical variables were compared using Chi-square tests, while continuous variables were analyzed using Student’s *t*-tests (for variables with a normal distribution, like age) and Mann–Whitney U tests (for other quantitative variables without a normal distribution). The prevalence of each parasite was reported separately for each diagnostic method (Lugol’s microscopy, ICT, and MZN staining), as well as an overall prevalence for *Giardia* spp., *Entamoeba histolytica/dispar*, and *Cryptosporidium* spp., defined as follows:

- Overall *Giardia* spp. prevalence: combined positivity in Lugol’s microscopy and ICT;
- Overall *Entamoeba histolytica/dispar* prevalence: combined positivity in Lugol’s microscopy and ICT;
- Overall *Cryptosporidium* spp. prevalence: combined positivity in MZN staining and ICT.

Finally, we also present the prevalence in the subgroup of patients reporting diarrhea.

To compare the agreement between two diagnostic tests (MZN versus ICT for *Cryptosporidium* spp. and Lugol’s iodine solution versus ICT for the other two protozoa), we calculated Cohen’s kappa coefficient, which measures concordance beyond chance. Kappa values were interpreted as slight (0–0.20), fair (0.21–0.40), moderate (0.41–0.60), substantial (0.61–0.80), or almost perfect (0.81–1.00) agreement. McNemar’s test for paired proportions

was performed to evaluate whether there were significant differences in the number of positive results detected by each method.

Risk factors were assessed for the overall prevalence of the three main pathogenic intestinal protozoa (*Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Entamoeba*). Initially, we evaluated them through bivariate analysis, with associations quantified using odds ratios (ORs). Subsequently, multivariable logistic regression models were constructed to identify independent risk factors for protozoan infection. This model included variables that showed statistical significance ($p < 0.05$) in the univariate analyses, adjusted for gender and age. The models' goodness of fit was assessed using Cox–Snell R^2 and Nagelkerke R^2 statistics to evaluate the association between the dependent variable (protozoa infection) and independent variables (socio-epidemiological, clinical, and HIV-related factors).

2.5. Ethical Considerations

The Ethics Committee of Loreto Regional Hospital in Iquitos (Peru) (EXP: ID-018-CIEI-2013) and the Responsible Research Office of the Miguel Hernández University of Elche approved the study (DMC.JMRR.230908). All participants provided written informed consent. All study results were kept strictly confidential and released only to the participants' HIV healthcare providers, who offered treatment and follow-up to those who tested positive for intestinal parasites (protozoa or helminths) at no cost.

3. Results

3.1. Description of the Cohort

315 patients were enrolled (Figure 1). The mean age of the PWH cohort was 41 (+/–11 years), with a median of CD4+ count of 431 cells/ μ L (IQR 288, 584). 39 patients (12.4%) had CD4+ count < 200 cells/ μ L (AIDS stage), while 68 (21.5%) had a detectable viral load.

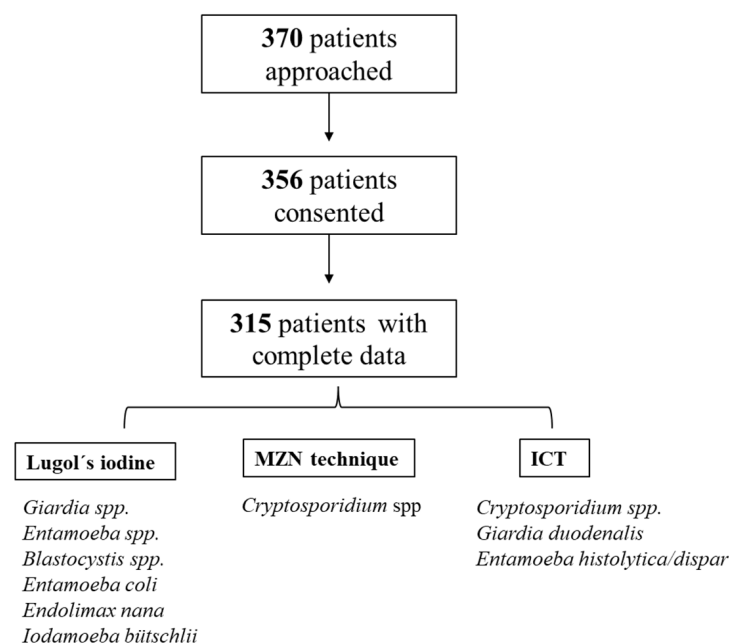


Figure 1. Flowchart illustrating sample availability for the study.

Most participants (267/315, 85%) were enrolled from Loreto Regional Hospital, which has the largest PWH cohort in Iquitos. Most participants were heterosexual men (227/315, 76.7%) and had few comorbidities. 103/315 (32.7%) resided on an unpaved road, 150/315 (47.6%) lived in a wood-made house, and 220/315 (70.0%) reported frequent contact with domestic animals. Of those reporting diarrhea (68/315, 21.6%), 76.5% reported symptoms once a month, 10.3% once a week, and 13.2% once a day. Baseline characteristics remained similar after excluding the 41 patients with incomplete data ($n = 356 \rightarrow 315$).

3.2. Stool Diagnosis

We received stool samples from 315 PWH. All samples underwent direct examination using Lugol's iodine staining, MZN, and ICT. Among the 315 samples, 162 (51.4%; 95% CI 45.9–57.0%) were positive for any pathogenic or commensal protozoa.

3.2.1. Prevalence of *Giardia* spp., *Entamoeba* spp., *Blastocystis* spp., and Commensal Pathogens

By Lugol's iodine staining, 35/315 (prevalence 11.1%; 95% CI 8.1–15.1%) were positive for *Blastocystis* spp., 8/315 (prevalence 2.5%; 95% CI 1.2–4.9%) for *Giardia* spp., and 5/315 (prevalence 1.6%; 95% CI 0.7–3.7%) for *Entamoeba* spp. For commensal pathogens, 64/315 (prevalence 20.3%; 95% CI 16.3–25.1%) were positive for *Entamoeba coli*, 24/315 (prevalence 7.6%; 95% CI 5.2–11.1%) for *Endolimax nana*, and 6/315 (prevalence 1.9%; 95% CI 0.8–4.1%) for *Iodamoeba buetschlii*.

By ICT, 8/315 (prevalence 2.5%; 95% CI 1.2–4.9%) were positive for *Giardia duodenalis*, and 6/315 (prevalence 1.9%; 95% CI 0.8–4.1%) for *Entamoeba histolytica/dispar*.

By combined methods (overall prevalence): 9/315 (prevalence 2.9%; 95% CI 1.5–5.3%) were positive for *Giardia* spp., and 6/315 (prevalence 1.9%; 95% CI 0.8–4.1%) for *Entamoeba* spp.

3.2.2. Prevalence of *Cryptosporidium* spp.

By MZN, 73/315 (prevalence 23.2%; 95% CI 18.9–28.1%) were positive for *Cryptosporidium* spp.

By ICT, 11/315 (prevalence 3.5%; 95% CI 2.0–6.1%) were positive for *Cryptosporidium* spp.

By combined methods (overall prevalence), 81/315 (prevalence 25.7%; 95% CI 21.2–30.8%) were positive for *Cryptosporidium* spp.

3.2.3. Evaluation of Diagnostic Test Agreement

Agreement between Lugol's iodine microscopy and ICT for the detection of *Giardia* spp. and *Entamoeba* spp. was almost perfect ($\kappa = 0.87$; 95% CI 0.70–1.00; $p < 0.001$ and $\kappa = 0.91$; 95% CI 0.73–1.00; $p < 0.001$, respectively), while McNemar's test did not indicate a significant difference between discordant pairs ($p = 1.000$) in both cases. In contrast, agreement between MZN and ICT for the detection of *Cryptosporidium* spp. was slight ($\kappa = 0.11$; 95% CI 0.04–0.18; $p = 0.74$), while McNemar's test revealed a significant difference in discordant pairs ($p < 0.001$) (Figure 2).

3.2.4. Prevalence of Co-Infection with *Giardia* spp., *Entamoeba* spp., *Cryptosporidium* spp., and *Blastocystis* spp.

8/315 patients (2.5%; 95% CI 1.3–4.9) were co-infected with *Cryptosporidium* spp. and *Blastocystis* spp., 3/315 (1.0%; 95% CI 0.3–2.9) with *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp., and 2/315 (0.6%; 95% CI 0.2–2.3) with *Giardia* spp. and *Blastocystis* spp.

3.2.5. Epidemiological Risk Factors Associated with Pathogenic Intestinal Protozoa Positivity

We compared demographic and epidemiological characteristics, comorbidities, and HIV infection features by pathogenic protozoa (overall *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., and *Entamoeba* spp. positivity) (Table 1).

		Conventional microscopy			
		Lugol's iodine			
ICT	<i>Giardia duodenalis</i>	<i>Giardia</i> spp.			
			Positive	Negative	
		Positive	7	1	κ = 0.87; p<0.001
		Negative	1	306	
	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	<i>Entamoeba</i> spp.			
			Positive	Negative	
		Positive	5	1	κ = 0.91; p<0.001
		Negative	0	309	
	<i>Cryptosporidium</i> spp.	MZN			
		<i>Cryptosporidium</i> spp.			
		Positive	Negative		
Positive		3	8	κ = 0.11; p=0.74	
Negative	70	234			

Figure 2. Cross-tabulations and Cohen's Kappa (κ) for ICT versus conventional microscopy for *Giardia* spp., *Entamoeba* spp., and *Cryptosporidium* spp. Kappa values were interpreted as follows: slight (0–0.20), fair (0.21–0.40), moderate (0.41–0.60), substantial (0.61–0.80), and almost perfect (0.81–1.00) agreement.

Table 1. Bivariate analysis of epidemiological characteristics of study participants (N = 315) by pathogenic protozoa positivity (overall *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., and *Entamoeba* spp. positivity).

Variables	Pathogenic Protozoa Positive (N = 92)	Pathogenic Protozoa Negative (N = 223)	OR	p
Male, % (n/N)	60.9 (56/92)	64.6 (144/223)	0.85	0.54
Age, mean ± SD, years	42 ± 12	41 ± 12	1.26	0.39
Hospital attended, % (n/N)				
Hospital of Iquitos	26.1 (24/92)	10.8 (24/223)	2.93	<0.001
Regional Hospital of Loreto	73.9 (68/92)	89.2 (199/223)		
Residence, % (n/N)				
Iquitos district	33.7 (31/92)	34.5 (77/223)	N/A	0.58
Punchana district	29.3 (27/92)	25.1 (56/223)		
Belen district	15.2 (14/92)	15.7 (35/223)		
San Juan district	16.3 (15/92)	22.0 (49/223)		
Outside of Iquitos	5.4 (5/92)	2.7 (6/223)		
Occupation, % (n/N)				
Unemployed or student (yes)	38.1 (35/92)	46.2 (103/223)	N/A	0.19
Cattle, agriculture or construction (yes)	16.3 (15/92)	15.2 (34/223)		
Craft work (yes)	4.3 (4/92)	4.5 (10/223)		
Intellectual work ^a (yes)	15.2 (14/92)	6.7 (15/223)		
Self-employment (yes)	26.1 (24/92)	27.4 (61/223)		

Table 1. Cont.

Variables	Pathogenic Protozoa Positive (N = 92)	Pathogenic Protozoa Negative (N = 223)	OR	p
Education, % (n/N)				
None (yes)	3.3 (3/92)	2.7 (6/223)		
Attended primary school (yes)	22.2 (20/92)	14.3 (32/223)	N/A	0.31
Attended secondary school (yes)	48.9 (45/92)	59.2 (132/223)		
Attended university (yes)	26.1 (24/92)	23.8 (53/223)		
Epidemiological risk factors, % (n/N)				
Lives with dogs/cats/farm animals (yes)	69.6 (64/92)	70.0 (156/223)	0.98	0.94
Walks barefoot (yes)	33.7 (31/92)	26.0 (58/223)	1.45	0.17
Resides in a rural location ^b (yes)	30.4 (28/92)	33.6 (75/223)	0.86	0.58
Lives in a house made of wood/leaves (yes)	44.6 (41/92)	48.9 (109/223)	0.84	0.49
Alcohol or tobacco consumption (yes)	55.4 (51/92)	51.6 (115/223)	1.17	0.53
Comorbidity, % (n/N)				
Diabetes or high blood pressure (yes)	6.5 (6/92)	7.6 (17/223)	0.85	0.73
Other cardiovascular disease (yes)	1.0 (1/92)	3.6 (8/223)	0.30	0.23
Digestive disease (yes)	8.7 (8/92)	5.4 (12/223)	1.68	0.27
Urinary disease (yes)	3.3 (3/92)	0.9 (2/223)	3.73	0.13
Dermatological disease (yes)	1.0 (1/92)	0.4 (1/223)	2.44	0.52
Other (yes)	0.0 (0/92)	0.9 (2/223)	1.42	0.36
Previous infections, % (n/N)				
Tuberculosis (yes)	20.7 (19/92)	22.0 (49/223)	0.92	0.80
Intestinal parasitosis (yes)	18.5 (17/92)	9.0 (20/223)	2.30	0.017
Gonorrhea (yes)	19.6 (18/92)	10.3 (23/223)	2.12	0.026
Syphilis (yes)	18.5 (17/92)	13.5 (30/223)	1.46	0.26
Chronic hepatitis (yes)	8.7 (8/92)	5.8 (13/223)	1.54	0.35
Cerebral toxoplasmosis (yes)	0.0 (0/92)	4.9 (11/223)	1.43	0.038
Symptoms, % (n/N)				
Cough, cold symptoms (yes)	14.1 (13/92)	8.1 (18/223)	1.87	0.10
Fever (yes)	1.1 (1/92)	2.2 (5/223)	0.48	0.68
Diarrhea (yes)	26.1 (24/92)	19.7 (44/223)	1.44	0.21
Frequency of diarrhea, % (n/N)				
No diarrhea	73.9 (68/92)	80.3 (179/223)		
Once a month	16.3 (15/92)	16.6 (37/223)	N/A	0.014
Once a week	2.2 (2/92)	2.2 (5/223)		
Once a day	7.6 (7/92)	0.9 (2/223)		
Risk group, % (n/N)				
Heterosexual	70.9 (61/86)	79.0 (166/210)		
Homosexual	27.9 (24/86)	15.7 (33/210)	N/A	0.046
Transexual/Bisexual	1.2 (1/86)	5.2 (11/210)		
■ Missing data, % (n/N)	6.5 (6/92)	5.8 (13/223)		
HIV acquisition, % (n/N)				
Sexual	92.4 (85/92)	88.8 (198/223)		
Vertical	0.0 (0/92)	0.9 (2/223)	N/A	0.64
Parenteral	0.0 (0/92)	0.4 (1/223)		
Unknown	7.6 (7/92)	9.9 (22/223)		

Table 1. Cont.

Variables	Pathogenic Protozoa Positive (N = 92)	Pathogenic Protozoa Negative (N = 223)	OR	p
CD4+ nadir, median (IQR), / μ L	234 (131, 369)	261 (117, 378)	N/A	0.84
■ Missing data, % (n/N)	46.7 (43/92)	(92/223)		
Current CD4+, median (IQR), / μ L	427 (265, 574)	431 (293, 592)	N/A	0.61
■ Missing data, % (n/N)	30.4 (28/92)	31.4 (70/223)		
Current CD4+ < 200/mL, % (n/N), /mL	18.8 (12/64)	9.8 (15/153)	2.12	0.069
■ Missing data, % (n/N)	30.4 (28/92)	31.4 (70/223)		
Uncontrolled HIV viral load, (>20 copies/mL), % (n/N)	29.4 (25/85)	18.4 (40/217)	1.84	0.037
■ Missing data, % (n/N)	7.6 (7/92)	2.7 (6/223)		
Poor ART adherence \leq 95%, % (n/N)	14.8 (12/81)	14.2 (26/183)	1.05	0.90
■ Missing data, % (n/N)	12.0 (11/92)	17.9 (40/223)		

Data are shown as % (n/N) or median (interquartile range: IQR), unless specified otherwise. Variables with a p-value < 0.10 are shown in bold and were included in the multivariable analysis. Percentages may not total 100 due to rounding. ^a Scientific work, teaching, architecture, or politics. ^b Defined as the absence of paved streets. Abbreviations: N/A: not applicable. ART: anti-retroviral therapy.

After adjusting for sex, age, and variables with p-values < 0.10 in the bivariate analysis (hospital, current CD4+ count < 200 cells/ μ L, viral load uncontrolled >20 copies/mL, daily diarrhea, homosexual practices, prior intestinal parasite infection, gonococcal infection and toxoplasmosis), homosexual practices (compared with heterosexual, bisexual, or transgender practices) were significantly associated with a higher risk of pathogenic protozoa positivity (p : 0.045; adjusted OR: 2.52; 95% CI: 1.04–6.12). As including CD4+ count in the multivariable model reduced the analytic sample to 199 participants (63.2% of the total), due to missing data for this variable, an additional multivariable analysis was performed excluding CD4+, which increased the sample size to 285 participants (90.5% of the cohort). The second model yielded consistent results, showing that homosexual risk practices were also associated with a higher prevalence of intestinal parasitosis (p : 0.028; adjusted OR: 2.32; 95% CI: 1.10–4.91), together with a history of previous gonococcal infection (p : 0.022; adjusted OR: 2.77; 95% CI: 1.16–6.59).

3.2.6. Prevalence Pattern of Protozoa in People Referring Diarrhea

Among patients with diarrhea, the prevalence pattern of pathogenic agents was higher than in asymptomatic individuals. *Cryptosporidium* spp. was the most frequently isolated parasite (19/68, 27.9%; 95% CI 18.7–40.0), followed by *Blastocystis* spp. (8/68, 11.8%; 95% CI 6.1–21.5), *Giardia* spp. (4/68, 5.9%; 95% CI 2.3–14.2), and *Entamoeba* spp./3/68, 4.4%; 95% CI 1.1–13.1).

The presence of overall *Giardia* spp. was marginally associated with diarrhea in the previous month (p = 0.091; OR 3.03; 95% CI 0.79–11), which was similar for *Entamoeba* spp. (p = 0.088; OR 3.754; IC 0.74–19.04), without significant differences in the sub-analysis by Lugol's iodine or ICT techniques. A prior diagnosis of gonorrhea was significantly associated with diarrhea (p = 0.012; OR 2.41; 95% CI 1.20–4.86), as was a history of digestive disease (p < 0.001; OR 4.09; 95% CI 1.63–10.28).

4. Discussion

This study provides an epidemiologic evaluation of intestinal protozoa infections among a vulnerable population—people with HIV (PWH)—in Iquitos, Peru, representing one of the few studies conducted in a tropical rainforest environment, where ecological conditions for the transmission and acquisition of intestinal parasites are particularly favorable. The global prevalence of intestinal parasitosis in patients with HIV/AIDS and diarrhea has been reported at approximately 50%, with various studies identifying *Cryptosporidium* spp. as the most common protozoan pathogen, followed by *Giardia* spp. [16,17,28], which is consistent with our results.

4.1. *Cryptosporidium* spp. Prevalence in Stool

Our study demonstrated a notable prevalence of *Cryptosporidium* spp. in both the general cohort (25.7%) and people with diarrhea (27.9%), relatively high compared to reports from similar populations in Peru, where prevalence usually ranges between 10 and 20% depending on diagnostic methods and setting [16–18,29], reaching 25% among PWH with poor hygienic habits [30]. We found only one study of *Cryptosporidium* spp. in Amazonian populations without HIV [31], in children living in the Colombian Amazon, which identified a 2% prevalence, suggesting that our results are among the first to describe *Cryptosporidium* infections in PWH in the Peruvian Amazon.

The substantial discrepancy between MZN (23.2%) and ICT (3.5%) results, including 70 MZN-positive/ICT-negative samples, represents a key finding and a central point of discussion in this study. Our results can be attributed to two main factors: First, MZN is a specific tool for detecting *Cryptosporidium* spp., but its sensitivity can vary (60–100%) depending on the staining process, infection stage, and the laboratorian's expertise [8,32]. The presence of other acid-resistant or refractory materials in fecal samples (e.g., *Cystoisospora* or *Cyclospora cayetanensis* oocysts, yeast cells, pollen, or fungal spores) may cause what appears to be a *Cryptosporidium* oocyst to actually be debris or a different microorganism, resulting in false-positive results [33,34]. A minor potential for misidentification may persist even when samples are evaluated independently by two expert microscopists, as was the case in our study. Second, while MZN detects oocysts from any *Cryptosporidium* species, the manufacturer's instructions for the CerTest "Crypto + Giardia + Entamoeba" targets have ambiguities in the specification for the *Cryptosporidium parvum*/*Cryptosporidium hominis* module in their rapid antigen tests. The combined "Crypto + Giardia + Entamoeba" test [25] lists *Cryptosporidium* generically, whereas the individual CerTest Crypto Card [35] explicitly targets *C. parvum*. When reviewing the list of raw materials, we found that the test includes a pan-specific monoclonal antibody (clone CR23) as well as an inactivated *C. parvum* antigen [26]. As a result, although the test is marketed for *Cryptosporidium* spp., its validation appears focused on *C. parvum*, leaving uncertainty regarding the detection of *C. hominis* and raising the potential for underdiagnosis in regions where *C. hominis* predominates. We only found an external validation of the individual CerTest Crypto Card in Sub-Saharan Africa, with a good specificity (92.5%) but low sensitivity (49.6%) and positive predictive value (61.3%) when compared to the composite reference standard of qPCR and RFLP-PCR for the detection of *Cryptosporidium* species [36]. While *Cryptosporidium parvum* is generally considered the most relevant species in low-resource and rural settings due to its zoonotic transmission—accounting for up to 70% of infections in some HIV-positive cohorts in Asia [37]—studies among HIV-infected patients in Lima reported that *C. parvum* represented only 11.3% of identified genotypes, whereas *C. hominis* (67.5%) and *C. meleagridis* (12.6%) were predominant [38]. Although species distribution data from Iquitos are lacking, the low ICT positivity may indicate a predominance of non-*parvum*

species. Further validation studies are needed to accurately evaluate the ICT performance across diverse epidemiological settings.

With the available data, the high prevalence of *Cryptosporidium* spp. detected by the modified Ziehl–Neelsen (MZN) technique may represent the true burden of infection in this setting. Nevertheless, as MZN has lower specificity than molecular assays, the possibility of overdiagnosis cannot be entirely ruled out without PCR confirmation. Future studies incorporating molecular diagnostics are warranted to validate these findings.

4.2. *Giardia* and *Entamoeba* spp. Prevalence in Stool

Prevalence of *Giardia* spp. and *Entamoeba* spp. was relatively low, but agreement between Lugol's iodine microscopy and ICT for the detection of *Giardia duodenalis* and *Entamoeba histolytica/dispar* was almost perfect, underscoring the validity of the diagnostic approach [20]. The prevalence of *Giardia* spp. observed in this study is notably lower than global estimates. A meta-analysis in HIV/AIDS patients reported a pooled prevalence of giardiasis of 5% [39]. Studies in Peru have reported considerable variability depending on population, area, and associated symptomatology, with prevalence rates as high as 20% in Trujillo (northern Peru) [40] and 4–15% in HIV in Lima [18,41]. In the Peruvian Amazon, studies on intestinal protozoa are limited. One study found high prevalences at both the Military and Regional Hospitals of Loreto in Iquitos, though higher in the former (15% vs. 4.8%) [42]. Additional reports from rural areas such as Yurimaguas [43] and native communities in the upper Marañón (Amazonas) [44] have documented similarly elevated prevalences, ranging from 17% to 21%. One possible explanation is that the presence of other opportunistic microorganisms, such as *Cryptosporidium*, could compete with and displace *Giardia*, especially in individuals with more advanced immunosuppression [45]. Furthermore, *Cryptosporidium* oocysts are more resistant to conventional cleaning methods than *Giardia* oocysts, and they can be more easily acquired in recreational settings such as swimming pools and rivers, which are very common in Iquitos [46]. Finally, children, who were not included in our study, appear more susceptible to *Giardia* infection [47].

Entamoeba histolytica is usually less frequent than *Giardia duodenalis*, but its prevalence may be overestimated because it is difficult to distinguish pathogenic *E. histolytica* from the non-pathogenic *E. dispar*. Few studies in Peru have assessed its prevalence. One study in Lima reported a prevalence of 1.9% among people living with HIV [41], consistent with our results. In two studies in Iquitos in non-HIV people, prevalence was 4.8% in Loreto Regional Hospital, 10% in the Militar Hospital [42], and 13% in a rural location in the Marañón River [44].

Although the associations between the presence of *Giardia* or *Entamoeba* and diarrhea were not statistically significant, our results suggest a trend toward an increased risk. However, the occurrence of diarrhea in this population is likely multifactorial. A prior diagnosis of gonorrhea and a history of gastrointestinal disease—both significantly associated with diarrhea—support the influence of other contributing factors. Beyond enteric protozoa, episodes of diarrhea among PWH in Iquitos may also be driven by other coinfections (*Campylobacter* spp., *Escherichia coli*...), anti-retroviral-related gastrointestinal effects, or changes in gut microbiota related to HIV infection [16,48]. In addition, the local diet, typically fried and rich in fats and calories, may predispose individuals to postprandial gastrointestinal discomfort or diarrhea, potentially affecting the specificity of symptom-based associations [49].

4.3. Prevalence of *Blastocystis* and Commensal Pathogens in Stool

Blastocystis spp. prevalence was high among PWH in Iquitos (11.5%). Globally, estimates vary from 10 to 50% depending on the geographical area [50]. In Peru, studies in

PWH are mostly restricted to Lima, reporting prevalences between 11% [18] and 24.6% [41], consistent with our findings. In our study, *Blastocystis* spp. was not associated with diarrhea but was identified as a risk factor for co-infection with commensal protozoa, similar to previous reports suggesting that *Blastocystis* may serve as a sentinel of fecal contamination [14] due to its association with limited access to potable water and animal contact [50–52].

4.4. Risk Factors for Pathogenic Intestinal Protozoa Acquisition

PWH are well-known to be a vulnerable population for intestinal parasitosis, particularly opportunistic protozoa such as *Cryptosporidium* spp. in patients with low CD4+ counts [53]. Additional commonly reported risk factors for intestinal protozoan infections include young age, male sex, low educational level, lack of sanitary facilities, previous infection with other protozoa, living in suburban areas, and uncontrolled HIV viral load (>1000 copies/mL) [53,54].

In our study, homosexual practices were associated with a higher prevalence of pathogenic protozoa. This finding aligns with previous research describing the role of specific sexual behaviors (particularly oral–anal contact (“rimming”), digital–anal contact, use of sex toys contaminated with fecal material or multiple sexual practices without intermediate hygiene) as potential routes for fecal–oral transmission of enteric parasites [55,56]. These include *Giardia* spp., *Entamoeba* spp., *Cryptosporidium* spp., *Blastocystis* spp., and some helminths such as *Strongyloides stercoralis* [57–61]. Furthermore, HIV infection may amplify the risk of enteric pathogen acquisition during sexual activity by compromising mucosal immunity and altering gut integrity [56]. In the multivariable model excluding CD4+ count, this association was confirmed, and a previous gonococcal infection also remained independently associated with intestinal protozoa infection, reinforcing the link between sexual risk behaviors and intestinal parasitic infections.

Our findings suggest that intestinal protozoa may share transmission routes with HIV, emphasizing the importance of prevention strategies that integrate education on sexual health, hygiene, and awareness of enteric pathogens in populations engaging in high-risk sexual behaviors.

Furthermore, a poor immunovirological control of HIV and a previous diagnosis of toxoplasmosis—which also reflects impaired immunity—were identified as risk factors for protozoan acquisition in our bivariate analysis [17,62,63], even if they did not emerge as risk factors in the multivariable analysis. This was likely due to the high proportion of missing HIV viral load data, which substantially reduced the number of participants included. Other important associations, such as a prior diagnosis of intestinal parasites or experiencing daily diarrhea, also reached significance in the bivariate analysis but not in the multivariate analysis, suggesting trends that could be confirmed with larger cohorts.

4.5. Strengths and Limitations

This study is the first epidemiological evaluation of intestinal protozoa—including *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., and *Entamoeba* spp.—in PWH in the Peruvian Amazon. It identifies risk factors for protozoan acquisition in this vulnerable population and may inform clinical and public health interventions. Strengths include rigorous staff training in stool processing and microscopy, use of gold-standard techniques for *Cryptosporidium* detection, and inclusion of participants from both major hospitals in Iquitos, representing about one-third of the city’s PWH.

Nevertheless, this study is subject to several limitations. First, a stool concentration technique, which may have improved diagnostic sensitivity, was not performed. However,

their practical advantage may be reduced in contexts where parasite loads are high, samples are fresh, microscopy is performed by trained personnel, or complementary methods—such as ICT and MZN—are used, as in this study [20]. Second, resource limitations precluded the combination of traditional staining with newer molecular techniques (PCR), which would have improved the specificity and sensitivity of our results [34]. In this regard, it was not possible to distinguish *E. histolytica* from *E. dispar*, nor to differentiate the genotype of *Cryptosporidium* spp. A third limitation related to diagnostics is the potential for misclassification bias resulting from the discrepancy between MZN and ICT results. Future studies should incorporate PCR and genotyping approaches to accurately identify protozoan species and genotypes, which would allow more precise prevalence estimates and a better understanding of epidemiological patterns. Fourth, we faced a substantial amount of missing data for CD4 counts and HIV viral load, which limited the scope of our bivariate analyses and reduced the statistical power of the multivariable analysis. However, similar findings were obtained when this variable was excluded from the multivariable model, suggesting that the main associations observed are robust despite the reduced dataset. Finally, the cross-sectional design, which precludes causal inference, the exclusion of out-of-care PWH—which may have led to an underestimation of intestinal protozoa prevalence in the broader population—and potential recall or reporting bias for diarrhea and exposure history are additional limitations of our study. Our findings may not be generalizable to regions with different epidemiological profiles.

5. Conclusions

Our study demonstrates a higher-than-expected prevalence of *Cryptosporidium* spp. infection among PWH in Iquitos, affecting nearly one in four participants, whereas *Giardia* spp. and *Entamoeba* spp. were less common. Additionally, individuals reporting homosexual practices had an increased risk of acquiring pathogenic protozoa. These findings underscore the importance of implementing affordable laboratory techniques, such as Lugol's iodine staining and MZN, to enable accurate screening for intestinal protozoal infections, particularly in patients with poor immunovirological control of HIV.

Author Contributions: Conceptualization, S.O.-R., V.P.-C., M.C.-M. and J.-M.R.-R.; Data curation, S.O.-R. and J.-M.R.-R.; Formal analysis, S.O.-R. and J.-M.R.-R.; Funding acquisition, J.-M.R.-R.; Investigation, S.O.-R., V.-Y.V.-P., S.M.-C. and J.P.-d.-I.-C.; Methodology, S.O.-R., M.C.-M. and J.-M.R.-R.; Project administration, V.P.-C., M.C.-M., E.M., E.H.C. and J.-M.R.-R.; Resources, S.O.-R.; Software, S.O.-R.; Supervision, J.-M.R.-R.; Validation, S.O.-R., V.P.-C. and J.-M.R.-R.; Visualization, J.-M.R.-R.; Writing—original draft, S.O.-R. and J.-M.R.-R.; Writing—review and editing, V.P.-C., M.C.-M., V.-Y.V.-P., S.M.-C., J.P.-d.-I.-C., E.M., E.H.C. and J.-M.R.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Miguel Hernández University of Elche (UMH), grant number UMH-GVA 2022/0005; 11-134-4-2023-0133, Alicante Health and Biomedical Research Institute (ISABIAL), grant number 2024-0181, and Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), grant number CM23/00050.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Loreto Regional Hospital, Iquitos, Peru, protocol code ID-018-CIEI-2013, 11 May 2023.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The datasets used and/or analyzed during the current study are available in the Zenodo Repository, under the ORCID: 10.5281/zenodo.14864472.

Acknowledgments: We want to thank the medical staff of the Infectious Diseases Service in Loreto Regional Hospital and Iquitos Hospital, together with the laboratory staff of LIPNAA-CIRNA and Asociación Civil Selva Amazónica, for their support in the field.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

HIV	Human immunodeficiency virus
PWH	People with HIV
MZN	Modified Ziehl–Neelsen staining
ICT	Immunochromatography
CI	Confidence interval
AOR	Adjusted odds ratio
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
IQRs	Interquartile ranges
N/A	Not applicable
ART	Anti-retroviral therapy

References

1. Zorbozan, O.; Quliyeva, G.; Tunalı, V.; Ozbilgin, A.; Turgay, N.; Gokengin, A.D. Intestinal Protozoa in Hiv-Infected Patients: A Retrospective Analysis. *Turk. J. Parasitol.* **2018**, *42*, 187–190. [CrossRef]
2. Bednarska, M.; Jankowska, I.; Pawelas, A.; Piwczynska, K.; Bajer, A.; Wolska-Kuśnier, B.; Wielopolska, M.; Welc-Falęciak, R. Prevalence of *Cryptosporidium*, Blastocystis, and Other Opportunistic Infections in Patients with Primary and Acquired Immunodeficiency. *Parasitol. Res.* **2018**, *117*, 2869–2879. [CrossRef]
3. Bahmani, P.; Maleki, A.; Sadeghi, S.; Shahmoradi, B.; Ghahremani, E. Prevalence of Intestinal Protozoa Infections and Associated Risk Factors among Schoolchildren in Sanandaj City, Iran. *Iran. J. Parasitol.* **2017**, *12*, 108–116.
4. Darlan, D.M.; Rozi, M.F.; Nurangga, M.A.; Amsari, L.C. *Cryptosporidium* sp. and *Blastocystishominis* Findings: A Cross-Sectional Study among Healthy Versus Immunocompromised Individuals. *Int. J. Psychosoc. Rehabil.* **2020**, *24*, 2346–2351. [CrossRef]
5. Panel on Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in Adults and Adolescents with HIV; National Institutes of Health: Bethesda, MD, USA; HIV Medicine Association: Arlington, VA, USA; Infectious Diseases Society of America: Arlington, VA, USA. Available online: <https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/archive/adult-adolescent-oi-2025-07-14.pdf> (accessed on 20 May 2025).
6. Gerace, E.; Lo Presti, V.D.M.; Biondo, C. *Cryptosporidium* Infection: Epidemiology, Pathogenesis, and Differential Diagnosis. *Eur. J. Microbiol. Immunol.* **2019**, *9*, 119–123. [CrossRef] [PubMed]
7. Shirley, D.-A.T.; Moonah, S.N.; Kotloff, K.L. Burden of Disease from Cryptosporidiosis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2012**, *25*, 555–563. [CrossRef]
8. Aghamolaie, S.; Rostami, A.; Fallahi, S.; Biderouni, F.T.; Haghighi, A.; Salehi, N. Evaluation of Modified Ziehl–Neelsen, Direct Fluorescent-Antibody and PCR Assay for Detection of *Cryptosporidium* spp. in Children Faecal Specimens. *J. Parasit. Dis. Off. Organ. Indian Soc. Parasitol.* **2016**, *40*, 958–963. [CrossRef]
9. Nash, T.E.; Ohl, C.A.; Thomas, E.; Subramanian, G.; Keiser, P.; Moore, T.A. Treatment of Patients with Refractory Giardiasis. *Clin. Infect. Dis.* **2001**, *33*, 22–28. [CrossRef] [PubMed]
10. Chakrabarti, S. Multiple Amoebic Liver Abscess As Initial Manifestation in Hiv Sero-Positive Male. *J. Clin. Diagn. Res. JCDR* **2015**, *9*, OD04–OD05. [CrossRef]
11. Ocaña-Losada, C.; Cuenca-Gómez, J.; Cabezas-Fernández, M.; Vázquez-Villegas, J.; Soriano-Pérez, M.; Cabeza-Barrera, I.; Salas-Coronas, J. Características Clínicas y Epidemiológicas de La Parasitación Intestinal Por Blastocystis Hominis. *Rev. Clin. Esp.* **2018**, *218*, 115–120. [CrossRef]
12. Khorshidvand, Z.; Khazaei, S.; Amiri, M.; Taherkhani, H.; Mirzaei, A. Worldwide Prevalence of Emerging Parasite Blastocystis in Immunocompromised Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microb. Pathog.* **2021**, *152*, 104615. [CrossRef]
13. Wawrzyniak, I.; Poirier, P.; Viscogliosi, E.; Dionigia, M.; Texier, C.; Delbac, F.; Alaoui, H.E. *Blastocystis*, an Unrecognized Parasite: An Overview of Pathogenesis and Diagnosis. *Ther. Adv. Infect. Dis.* **2013**, *1*, 167–178. [CrossRef]

14. Espinosa Aranzales, A.F.; Radon, K.; Froeschl, G.; Rondón, Á.M.P.; Delius, M. Prevalence and Risk Factors for Intestinal Parasitic Infections in Pregnant Women Residing in Three Districts of Bogotá, Colombia. *BMC Public Health* **2018**, *18*, 1071. [CrossRef] [PubMed]
15. Marcos, L.A.; Gotuzzo, E. Intestinal Protozoan Infections in the Immunocompromised Host. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2013**, *26*, 295. [CrossRef] [PubMed]
16. Cárcamo, C.; Hooton, T.; Wener, M.H.; Weiss, N.S.; Gilman, R.; Arevalo, J.; Carrasco, J.; Seas, C.; Caballero, M.; Holmes, K.K. Etiologies and Manifestations of Persistent Diarrhea in Adults with HIV-1 Infection: A Case-Control Study in Lima, Peru. *J. Infect. Dis.* **2005**, *191*, 11–19. [CrossRef]
17. García, C.; Rodríguez, E.; Do, N.; López de Castilla, D.; Terashima, A.; Gotuzzo, E. Parasitosis Intestinal En El Paciente Con Infección VIH-SIDA [Intestinal Parasitosis in Patients with HIV-AIDS]. *Rev. Gastroenterol. Peru.* **2006**, *26*, 21–24. [PubMed]
18. Vergaray, S.; Paima-Olivari, R.; Runzer-Colmenares, F.M. Parasitosis intestinal y estado inmunológico en pacientes adultos con infección por VIH del Centro Médico Naval “Cirujano Mayor Santiago Távara”. *Horiz. Méd. Lima* **2019**, *19*, 32–36. [CrossRef]
19. Centro Nacional de Epidemiología; Prevención y Control de Enfermedades. Situación Epidemiológica Del VIH-Sida En El Perú. Boletín VIH, II Trimestre-2024. Available online: https://www.Dge.Gob.Pe/Epipublic/Uploads/Vih-Sida/Vih-sida_20246_16_153419.pdf. (accessed on 20 February 2025).
20. Wahdini, S.; Putra, V.P.; Sungkar, S. The Prevalence of Intestinal Protozoan Infections among Children in Southwest Sumba Based on the Type of Water Sources. *Infect. Chemother.* **2021**, *53*, 519. [CrossRef]
21. Calchi, M.; Acurero, E.; Villalobos, R.; Colina, M.; Di Toro, L.; Villalobos, C. Comparación de Técnicas de Laboratorio Para El Diagnóstico de Giardia Intestinalis. *Kasmera* **2014**, *42*, 32–40.
22. Botero, D.; Restrepo, M. *Parasitosis Humanas*, 5th ed.; Medellín, Corporación Para Investigaciones Biológicas: Medellín, Colombia, 2012; pp. 38–56.
23. Flórez, A.C.; García, D.A.; Moncada, L.; Beltrán, M. Prevalencia de microsporidiosis y otros parásitos intestinales en pacientes con infección por VIH, Bogotá, 2001. *Biomédica* **2003**, *23*, 274. [CrossRef]
24. Henriksen, S.A.; Pohlenz, J.F. Staining of Cryptosporidia by a Modified Ziehl-Neelsen Technique. *Acta Vet. Scand.* **1981**, *22*, 594–596. [CrossRef]
25. CerTest Biotec, S.L. *Crypto + Giardia + Entamoeba Rapid Test: One-Step Combo Card Test—Specifications*; CerTest Biotec: San Mateo de Gállego, Spain. Available online: <https://www.certest.es/products/crypto-giardia-entamoeba-3/> (accessed on 6 November 2025).
26. Tokyo Future Style Co., Ltd. *IVD Raw Material—Infectious Disease*; Tokyo Future Style: Tokyo, Japan, 2025. Available online: <https://En.Tokyofuturestyle.Com/Ivd-Raw-Material-Infectious-Disease> (accessed on 6 November 2025).
27. Newcombe, R.G. Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods. *Stat. Med.* **1998**, *17*, 857–872. [CrossRef]
28. Benson, C.A.; Kaplan, J.E.; Masur, H.; Pau, A.; Holmes, K.K.; CDC.; National Institutes of Health; Infectious Diseases Society of America. Treating Opportunistic Infections Among HIV-Infected Adults and Adolescents: Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association/Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm. Rep. Morb. Mortal. Wkly. Rep. Recomm. Rep.* **2004**, *53*, 1–112. [CrossRef]
29. Cama, V.A.; Bern, C.; Sulaiman, I.M.; Gilman, R.H.; Ticona, E.; Vivar, A.; Kawai, V.; Vargas, D.; Zhou, L.; Xiao, L. *Cryptosporidium* Species and Genotypes in HIV-Positive Patients in Lima, Peru. *J. Eukaryot. Microbiol.* **2003**, *50*, 531–533. [CrossRef] [PubMed]
30. Dankwa, K.; Nuvor, S.V.; Obiri-Yeboah, D.; Feglo, P.K.; Mutocheluh, M. Occurrence of *Cryptosporidium* Infection and Associated Risk Factors among HIV-Infected Patients Attending ART Clinics in the Central Region of Ghana. *Trop. Med. Infect. Dis.* **2021**, *6*, 210. [CrossRef] [PubMed]
31. Sánchez, A.; Muñoz, M.; Gómez, N.; Tabares, J.; Segura, L.; Salazar, Á.; Restrepo, C.; Ruíz, M.; Reyes, P.; Qian, Y.; et al. Molecular Epidemiology of *Giardia*, *Blastocystis* and *Cryptosporidium* among Indigenous Children from the Colombian Amazon Basin. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 248. [CrossRef]
32. Ahmed, S.A.A.; Quattrocchi, A.; Elzagawy, S.M.; Karanis, P.; Gad, S.E.M. Diagnostic Performance of Toluidine Blue Stain for Direct Wet Mount Detection of *Cryptosporidium* Oocysts: Qualitative and Quantitative Comparison to the Modified Ziehl-Neelsen Stain. *Diagn. Basel Switz.* **2023**, *13*, 2557. [CrossRef]
33. Centers for Disease Control and Prevention. *Stool Specimens—Staining Procedures*; Centers for Disease Control and Prevention: Atlanta, GA, USA, 2023. Available online: <https://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/stool/staining.html> (accessed on 30 September 2025).
34. Omoruyi, B.E.; Nwodo, U.U.; Udem, C.S.; Okonkwo, F.O. Comparative Diagnostic Techniques for *Cryptosporidium* Infection. *Molecules* **2014**, *19*, 2674–2683. [CrossRef] [PubMed]
35. CerTest Biotec, S.L. *Cryptosporidium Parvum (Crypto-2) Rapid Test*; CerTest Biotec: San Mateo de Gállego, Spain. Available online: <https://www.certest.es/products/cryptosporidium-parvum-crypto/> (accessed on 6 November 2025).

36. Manouana, G.P.; Lorenz, E.; Mbong Ngwese, M.; Nguema Moure, P.A.; Maiga Ascófaré, O.; Akenten, C.W.; Amuasi, J.; Rakotozandrindrainy, N.; Rakotozandrindrainy, R.; Mbwana, J.; et al. Performance of a Rapid Diagnostic Test for the Detection of *Cryptosporidium* spp. in African Children Admitted to Hospital with Diarrhea. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2020**, *14*, e0008448. [CrossRef]
37. Ghafari, R.; Rafiei, A.; Tavalla, M.; Moradi Choghakabodi, P.; Nashibi, R.; Rafiei, R. Prevalence of *Cryptosporidium* Species Isolated from HIV/AIDS Patients in Southwest of Iran. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **2018**, *56*, 39–44. [CrossRef]
38. Cama, V.A.; Bern, C.; Roberts, J.; Cabrera, L.; Sterling, C.R.; Ortega, Y.; Gilman, R.H.; Xiao, L. *Cryptosporidium* Species and Subtypes and Clinical Manifestations in Children, Peru. *Emerg. Infect. Dis.* **2008**, *14*, 1567–1574. [CrossRef] [PubMed]
39. Mahdavi, F.; Shams, M.; Sadrebazzaz, A.; Shamsi, L.; Omidian, M.; Asghari, A.; Hassanipour, S.; Salemi, A.M. Global Prevalence and Associated Risk Factors of Diarrheagenic *Giardia duodenalis* in HIV/AIDS Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microb. Pathog.* **2021**, *160*, 105202. [CrossRef]
40. Pérez Córdón, G.; Cordova Paz Soldan, O.; Vargas Vásquez, F.; Velasco Soto, J.R.; Sempere Bordes, L.; Sánchez Moreno, M.; Rosales, M.J. Prevalence of Enteroparasites and Genotyping of *Giardia lamblia* in Peruvian Children. *Parasitol. Res.* **2008**, *103*, 459–465. [CrossRef]
41. Chíncha, L.O.; Bernabé-Ortiz, A.; Samalvides, C.F.; Soto, A.L.; Gotuzzo, H.E.; Terashima, I.A. Parasite Intestinal Infection and Factors Associated with Coccidian Infection in Adults at Public Hospital in Lima, Peru. *Rev. Chil. Infectol.* **2009**, *26*, 440–444. [CrossRef]
42. Marcos, L.; Maco, V.; Machicado, A.; Samalvides, F.; Terashima, A.; Quijano, C.; Gotuzzo, E. Diferencias de Prevalencia de Parasitosis Intestinal Entre Los Hospitales Militar y Regional de Iquitos, Loreto-Perú. *Rev. Médica Hered.* **2002**, *41*, 4. Available online: <https://www.fihu.org.pe/revista/numeros/2002/julago02/185-187.html> (accessed on 6 November 2025).
43. Pascual, G.; Oliver, J.A.I.; Hernandez, A.; Salazar, N. Parasitos intestinales en pobladores de dos localidades de Yurimaguas, Alto Amazonas, Loreto, Perú. *Neotrop. Helminthol.* **2010**, *4*, 127–136. [CrossRef]
44. Ibáñez, H.N.; Jara, C.C.; Guerra, M.A.; Díaz, L.E. Prevalencia del enteroparasitismo en escolares de comunidades andinas nativas del Alto Marañón, Amazonas, Perú. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública* **2004**, *21*, 126–133.
45. Sannella, A.R.; Suputtamongkol, Y.; Wongsawat, E.; Cacciò, S.M. A Retrospective Molecular Study of *Cryptosporidium* Species and Genotypes in HIV-Infected Patients from Thailand. *Parasit. Vectors* **2019**, *12*, 91. [CrossRef] [PubMed]
46. Adeyemo, F.E.; Singh, G.; Reddy, P.; Bux, F.; Stenström, T.A. Efficiency of Chlorine and UV in the Inactivation of *Cryptosporidium* and *Giardia* in Wastewater. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0216040. [CrossRef]
47. Han, M.; Xiao, S.; An, W.; Sang, C.; Li, H.; Ma, J.; Yang, M. Co-Infection Risk Assessment of *Giardia* and *Cryptosporidium* with HIV Considering Synergistic Effects and Age Sensitivity Using Disability-Adjusted Life Years. *Water Res.* **2020**, *175*, 115698. [CrossRef]
48. García, C.; Chíncha, O.; Leon, M.; Iglesias, D.; Barletta, F.; Mercado, E.; Ochoa, T. High Frequency of Diarrheagenic *Escherichia coli* in Human Immunodeficiency Virus (HIV) Patients with and without Diarrhea in Lima, Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2010**, *82*, 1118–1120. [CrossRef] [PubMed]
49. Molina Recio, G.; Moreno Rojas, R.; García Rodríguez, M.; Vaquero Abellán, M. Valoración Nutricional de Los Platos Más Frecuentemente Consumidos En Un Barrio Marginal de Iquitos, Amazonía Peruana. *Nutr. Hosp.* **2016**, *33*, 70–79. [CrossRef]
50. Robles-Cabrera, M.X.; Maguiña, J.L.; Gonzales-Huerta, L.; Panduro-Correa, V.; Dámaso-Mata, B.; Pecho-Silva, S.; Navarro-Solsol, A.C.; Rabaan, A.A.; Rodríguez-Morales, A.J.; Arteaga-Livias, K. *Blastocystis* species and Gastrointestinal Symptoms in Peruvian Adults Attended in a Public Hospital. *Infect. Chemother.* **2021**, *53*, 374–380. [CrossRef]
51. Fontanelli Sulekova, L.; Gabrielli, S.; Furzi, F.; Milardi, G.L.; Biliotti, E.; De Angelis, M.; Iaiani, G.; Fimiani, C.; Maiorano, M.; Mattiucci, S.; et al. Molecular Characterization of *Blastocystis* Subtypes in HIV-Positive Patients and Evaluation of Risk Factors for Colonization. *BMC Infect. Dis.* **2019**, *19*, 876. [CrossRef]
52. Salazar-Sánchez, R.S.; Ascuña-Durand, K.; Ballón-Echegaray, J.; Vásquez-Huerta, V.; Martínez-Barrios, E.; Castillo-Neyra, R. Socio-Demographic Determinants Associated with *Blastocystis* Infection in Arequipa, Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2020**, *104*, 700–707. [CrossRef] [PubMed]
53. Ntonifor, N.H.; Tamufor, A.S.W.; Abongwa, L.E. Prevalence of Intestinal Parasites and Associated Risk Factors in HIV Positive and Negative Patients in Northwest Region, Cameroon. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 16747. [CrossRef] [PubMed]
54. Feleke, D.G.; Ali, A.; Bisetegn, H.; Andualem, M. Intestinal Parasitic Infections and Associated Factors among People Living with HIV Attending Dessie Referral Hospital, Dessie Town, North-East Ethiopia: A Cross-Sectional Study. *AIDS Res. Ther.* **2022**, *19*, 19. [CrossRef]
55. Nahn Junior, E.P.; de Oliveira, E.C.; Barbosa, M.J.; Mareco, T.C.d.S.; Brígido, H.A. Protocolo Brasileiro Para Infecções de Transmissão Sexual 2020: Infecções Entéricas de Transmissão Sexual. *Epidemiol. E Serviços Saúde* **2021**, *30*, e2020598. [CrossRef]
56. McNeil, C.J.; Kirkcaldy, R.D.; Workowski, K. Enteric Infections in Men Who Have Sex With Men. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **2022**, *74*, S169–S178. [CrossRef]
57. Ettinger, S.; Castle, J.C.; Robinson, J.; Pinto-Sander, N.; Richardson, D. The Characteristics of Men Who Have Sex with Men with *Blastocystis*: A Systematic Review. *Int. J. STD AIDS* **2025**, *36*, 841–848. [CrossRef]

58. Escolà-Vergé, L.; Arando, M.; Vall, M.; Rovira, R.; Espasa, M.; Sulleiro, E.; Armengol, P.; Zarzuela, F.; Barberá, M.-J. Outbreak of Intestinal Amoebiasis among Men Who Have Sex with Men, Barcelona (Spain), October 2016 and January 2017. *Eurosurveillance* **2017**, *22*, 30581. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Di Benedetto, M.A.; Di Piazza, F.; Amodio, E.; Taormina, S.; Romano, N.; Firenze, A. Prevalence of Sexually Transmitted Infections and Enteric Protozoa among Homosexual Men in Western Sicily (South Italy). *J. Prev. Med. Hyg.* **2012**, *53*, 181–185. [[PubMed](#)]
60. Chessell, C.; Rabuszko, L.; Richardson, D.; Llewellyn, C. Factors Associated with the Sexual Transmission of *Strongyloides stercoralis* in Men Who Have Sex with Men: A Systematic Review. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV* **2024**, *38*, 673–679. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. To, B.; Chai, N.; Fitzpatrick, C.; Richardson, D. Factors Associated with *Cryptosporidium* in Men Who Have Sex with Men: A Systematic Review. *Int. J. STD AIDS* **2024**, *35*, 668–674. [[CrossRef](#)]
62. Mohebbi, M.; Yimam, Y.; Woreta, A. *Cryptosporidium* Infection among People Living with HIV/AIDS in Ethiopia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathog. Glob. Health* **2020**, *114*, 183–193. [[CrossRef](#)]
63. Tian, L.-G.; Wang, T.-P.; Lv, S.; Wang, F.-F.; Guo, J.; Yin, X.-M.; Cai, Y.-C.; Dickey, M.K.; Steinmann, P.; Chen, J.-X. HIV and Intestinal Parasite Co-Infections among a Chinese Population: An Immunological Profile. *Infect. Dis. Poverty* **2013**, *2*, 18. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

4.3. Objetivo 3

4.3.1. Referencia del artículo

Otero-Rodriguez S, Casapia-Morales M, Pinedo-Ramirez LL, Merino E, Clark EH, Ramos-Rincón JM. Screening for *Trypanosoma cruzi* in patients living with the human immunodeficiency virus (PWH) in the Peruvian Amazon. *Travel Med Infect Dis.* 2025; 28;68:102927.

4.3.2. Abstract en español

Introducción: La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, en personas que viven con VIH, especialmente en aquellas con una disminución importante de linfocitos T CD4, puede provocar síndromes graves que afectan el sistema nervioso central y el corazón. **Métodos:** Realizamos un estudio transversal para detectar enfermedad de Chagas entre PVV en Iquitos, Perú, entre octubre de 2023 y mayo de 2024, con el objetivo de conocer la frecuencia de infección en esta población. Se incluyó a adultos con VIH confirmado que acudían a consulta ambulatoria en los dos hospitales regionales. Se utilizaron dos pruebas ELISA (lisado y recombinante), y los resultados discordantes se resolvieron mediante un inmunoensayo de quimioluminiscencia indirecta (CLIA). **Resultados:** De 534 PVV, la mediana de edad fue de 41 años (RIQ 32–49), el 66.1 % eran hombres, la mediana del recuento actual de CD4+ fue de 443/ μ L y el 75.8 % tenía carga viral indetectable. Hubo dos resultados serológicos discordantes, que se resolvieron con un CLIA negativo, sin casos confirmados de EC. **Conclusión:** La prevalencia de infección por *T. cruzi* es probablemente muy baja en áreas urbanas y periurbanas de Iquitos. La vigilancia epidemiológica continua es esencial para monitorear posibles cambios a lo largo del tiempo.

4.3.3. Artículo original



Contents lists available at ScienceDirect

Travel Medicine and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tmaid

Screening for *Trypanosoma cruzi* in patients living with the human immunodeficiency virus (PWH) in the Peruvian Amazon

Silvia Otero-Rodríguez^{a,b}, Martin Casapia-Morales^{c,d,e}, Lilia-Lorena Pinedo-Ramirez^f,
Esperanza Merino^{a,b,g}, Eva H. Clark^h, José-Manuel Ramos-Rincón^{g,i,j,*}

^a Infectious Diseases Unit, Dr Balmis General University Hospital, Alicante, Spain

^b Institute of Sanitary and Biomedical Research (ISABIAL), Alicante, Spain

^c Infectious Diseases and Tropical Medicine Service, Loreto Regional Hospital, Iquitos, Peru

^d Medical Department, Selva Amazónica Civil Association, Iquitos, Peru

^e Faculty of Medicine, National University of the Peruvian Amazon, Iquitos, Peru

^f Laboratory Department, Selva Amazónica Civil Association, Iquitos, Peru

^g Clinical Medicine Department, Miguel Hernández University of Elche, Spain

^h Department of Medicine (Infectious Diseases) and Department of Pediatrics (Tropical Medicine), Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA

ⁱ Internal Medicine Department, Dr Balmis General University Hospital, Alicante, Spain

^j Alicante Institute of Health and Biomedical Research (ISABIAL), Alicante, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Chagas disease
Trypanosoma cruzi
Human immunodeficiency virus
HIV
Peru

ABSTRACT

Introduction: Chagas disease (CD) - *Trypanosoma cruzi* infection - in people living with HIV (PWH), particularly those with advanced CD4 T cell depletion, can lead to severe syndromes affecting the central nervous system and the heart.

Methods: We performed a cross-sectional study to screen for CD among PWH in Iquitos, Peru, between October 2023 and May 2024, with the objective of understanding the frequency of infection in this population. Adults with confirmed HIV attending outpatient services at two regional hospitals were enrolled. Two ELISA tests (lysate and recombinant) were used, and discordant results were adjudicated by indirect chemiluminescence immunoassay (CLIA).

Result: Of 534 PWH, the median age was 41 years (IQR 32–49), 66.1 % were male, the median current CD4⁺ count was 443/μL, and 75.8 % had an undetectable viral load. Two discordant serologic results were resolved with a negative CLIA, resulting in no confirmed CD cases.

Conclusion: The prevalence of *T. cruzi* infection is likely very low in urban and peri-urban areas of Iquitos. Continued epidemiological surveillance is essential to monitor potential changes over time.

1. Introduction

Trypanosoma cruzi, the protozoan etiological agent of Chagas disease (CD), is responsible for the highest burden of parasitic disease in the Americas, affecting an estimated 6–8 million people [1]. It is primarily transmitted by infected hematophagous triatomine insects, although congenital exposure, blood transfusion, and ingestion of contaminated food or beverages are also possible routes of transmission [2].

An acute phase of circulating parasitemia develops 1–2 weeks after exposure to *T. cruzi* and can last up to 3 months. Most cases are asymptomatic or present as a non-specific, self-limiting febrile illness.

The acute phase ends when the host immune system suppresses parasite replication, causing parasitemia to disappear, however residual parasites often persist in deep muscle and nerve tissues. So begins the chronic phase, which is lifelong in most untreated individuals. Unfortunately, 20–30 % of those with chronic CD eventually develop irreversible and potentially fatal end-organ disease, famously manifested as Chagas cardiomyopathy and/or gastrointestinal megasyndromes [1,3]. These complications usually occur after decades of infection and are often associated with significant disability, loss of productivity, and elevated healthcare costs, making CD not only a medical but also a social and economic problem [2].

* Corresponding author. Clinical Medicine Department, Miguel Hernández University of Elche, Carretera N332, s/n, Sant Joan d'Alacant, 03550, Alicante, Spain.

E-mail addresses: o.silvia.r@gmail.com (S. Otero-Rodríguez), mcasapia@acsaperu.org (M. Casapia-Morales), lpinedo@acsaperu.org (L.-L. Pinedo-Ramirez), merino_luc@gva.es (E. Merino), eva.clark@bcm.edu (E.H. Clark), jose.ramosr@umh.es (J.-M. Ramos-Rincón).

<https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2025.102927>

Received 6 September 2025; Received in revised form 6 October 2025; Accepted 27 October 2025

Available online 28 October 2025

1477-8939/© 2025 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Immunocompromised individuals have a significantly higher risk of morbidity and mortality from CD. In people with chronic CD, advanced CD4 T cell depletion caused by HIV may permit *T. cruzi* reactivation, leading to high levels of circulating parasitemia and a wide range of clinical manifestations, with the most severe syndromes involving the central nervous system and heart [4,5]. The mortality rate of *T. cruzi* reactivation disease in people with HIV (PWH) is greater than 75 %. Beyond HIV, reactivation has also been described in patients undergoing chemotherapy, hematopoietic stem cell transplantation, and immunosuppressive therapies, highlighting the importance of monitoring diverse vulnerable populations [2].

PAHO as well as U.S. and Spanish guidelines recommend that all people with CD risk factors be screened particularly immunocompromised populations like PWH [6,7]. Several studies have evaluated *T. cruzi* epidemiology among PWH in non-endemic and endemic settings [8]. In the UK, Ahmed et al. [9] screened 86 PWH and found no positive cases. In Italy, Rodari et al. [10] evaluated 389 patients, reporting a prevalence of 0.5 %–1.29 % depending on the confirmatory technique. In Spain, Salvador et al. [11] identified a prevalence of 3.9 % among 141 Latin American patients, while Llenas-García et al. [12] reported 1.9 % in a cohort of 155 patients. In a U.S. study, Hayon et al. measured a CD frequency of 2/294 (0.68 %) in PWH screened for CD with serology and PCR [13]. In endemic areas, Stauffert et al. [14] screened 200 PWH in southern Brazil (Rio Grande do Sul) and found a coinfection prevalence of 5 %. In Bolivia, Reimer-McAtee et al. [15] evaluated 116 PWH, reporting a coinfection prevalence of 27.6 %. However, no studies to date have assessed the prevalence of *T. cruzi* infection among PWH in Perú.

In Perú, *T. cruzi* is endemic in several southwestern regions, with a prevalence of around 0.4 % in Arequipa, Moquegua, Tacna, Ayacucho, and Apurímac [16]. Although Loreto has traditionally been considered non-endemic, sporadic acute cases have been reported [17]. In Iquitos, isolated cases (1 of 300) were identified among pregnant women [18], but none in a general population study (n = 394) [19]. To date, no studies have assessed the risk of *T. cruzi* infection or reactivation in PWH, underscoring the need for region-specific research. The objective of study was to perform a serological screening of CD among PWH in the Peruvian Amazon.

2. Material and methods

This was a prospective, cross-sectional study of PWH receiving care between October 20, 2023, and May 20, 2024, at one of two hospitals in Iquitos, Peru: (1) the Regional Hospital of Loreto “Felipe Santiago Arriola Iglesias” and (2) Hospital de Iquitos. Adults aged ≥18 years with confirmed HIV attending outpatient care appointments at either hospital were eligible for enrollment. After providing informed consent, participants underwent an interview detailing their sociodemographic characteristics and awareness of CD. The questionnaire applied is in annex 1. They submitted blood samples for *T. cruzi* serological testing.

We used *T. cruzi* IgG antibody assays: Chagatest ELISA lysate (Wiener, Rosario, Argentina) and Chagatest ELISA recombinant v4.0 (Wiener, Rosario, Argentina). We performed the assays according to the manufacturer’s instructions, with the positivity threshold set at 0.200 OD units above the mean of two negative controls included per plate). For discordant results, we performed a third serological assay, an indirect chemiluminescence immunoassay (CLIA) for the qualitative detection of IgG antibodies against *T. cruzi* (MAGLUMI Chagas™, Snibe Diagnostics, Peru), following the manufacturer’s instructions. We defined a confirmed diagnosis of CD as positive results by two tests. We extracted CD4+ T cell counts and viral loads from medical records within approximately two months of the screening. This study was approved by the Ethics Committee of the Regional Hospital of Loreto (EXP: ID-018-CIEI-2023).

3. Results

We enrolled 534 PWH. The median age was 41 years (IQR: 32–49) and 66.1 % were male, 33.1 % lived in rural areas, 47.9 % lived in houses made of wood or leaves, and 20.4 % reported a history of blood transfusion. The median nadir CD4+ was 238/μL (IQR 117–375), the median CD4+ was 443/μL (IQR, 281–615), and the proportion with an undetectable HIV viral load (<20 copies/ml) was 75.8 % (Table 1). All but five participants were receiving antiretroviral therapy (ART), with more than 95 % adherence in 85.6 % of them. These sociodemographic data reflect the socioeconomic vulnerability of this population, where poor housing and limited access to healthcare may further increase their risk of neglected tropical infections.

Two patients tested positive by either Chagatest ELISA lysate or Chagatest ELISA recombinant; both had discordant results. CLIA was negative for both patients (Table 2), thus we identified no cases of *T. cruzi* infection. Although prevalence was zero in this sample, the possibility of false negatives cannot be excluded, and the findings should be interpreted with caution.

Table 1 Epidemiological characteristics of patients with human immunodeficiency virus (HIV) included in the study.

	Overall (N = 534)
Sex, Male, n (%)	353 (66.1 %)
Age	
Age, median (IQR), years	41 (32–49)
Age ≥50, n (%)	67 (12.5 %)
Hospital attended, n (%)	
Regional Hospital of Loreto	416 (77.9 %)
Hospital of Iquitos	118 (22.1 %)
Residence, n (%)	
Iquitos district	171 (32.0 %)
Punchana district	134 (25.1 %)
San Juan district	109 (20.4 %)
Belen district	87 (16.3 %)
Outside of Iquitos metropolitan area	33 (6.2 %)
Occupation, n (%)	
Unemployed or student	215 (40.3 %)
Self-employment	152 (28.5 %)
Cattle, agriculture or construction	97 (18.2 %)
Intellectual work	45 (8.4 %)
Craft work	25 (4.7 %)
Education, n (%)	
None and attended primary school	113 (21.2 %)
Attended secondary school or university	421 (78.8 %)
Epidemiological risk factors, n (%) *	
Resides in rural location	177 (33.1 %)
Lives in a house made of wood or leaves	256 (47.9 %)
Blood transfusion	109 (20.4 %)
Risk group, n (%)*	
Heterosexual	374 (75.4 %)
Non-heterosexual	97 (19.4 %)
HIV acquisition, n (%) *	
Sexual	463 (86.7 %)
Vertical	3 (0.6 %)
Parenteral	1 (0.2 %)
Unknown	62 (11.6 %)
Antiretroviral treatment	
Yes	529 (99 %)
Adherence ^a < 90 %	33 (7.6 %)
Adherence ^a 90–95 %	6.9 (6.9 %)
Adherence ^a >95 %	374 (85.6 %)
Immunology and virology, n (%)	
Nadir CD4+, median (IQR),/uL ^b , median (IQR)	238 (117–375)
Current CD4+, median (IQR),/uL ^b , median (IQR)	443 (281–615)
Current CD4+ < 200/ml ^b , n (%)	52 (13.9 %)
Current undetectable HIV viral load ^c , (<20 copies/mL), n (%)	330 (65.8 %)

IQR: interquartile range.
 * Epidemiological risk factors, Risk group, and HIV acquisition may include more than one response per participant.
 Data availability varies across variables: ^a information available for 437 participants, ^b for 303 participants; ^c for 374 participants; ^d for 501 participants.

Table 2
Clinical and serological findings in two patients with discordant serological tests.

Patient	Age/ Sex	CD4 cell/ μL	Chagatest ELISA lysate ^a (optical density)	Chagatest ELISA recombinant v4.0 ^a (optical density)	Indirect chemiluminescence immunoassay ^b
1	46 year/ female	928	0.320, positive	0.08, negative	0.024, negative
2	28 year/ male	444	0.087, negative	0.447, positive	0.179, negative

^a Results were considered positive when the optical density (OD) value exceeded that of the negative control by 0.200, in accordance with the manufacturer's instructions.

^b Results were considered positive when the value was ≥ 1.0 index/ml, in accordance with the manufacturer's instructions.

4. Discussion

Our study identified no cases of *T. cruzi* infection among 534 PWH enrolled in Iquitos, Peru. The prevalence of CD among PWH in Latin American countries varies widely by region, population, and diagnostic method, but is generally reported between 1 % and 28 % in endemic areas. In Bolivia, a cross-sectional study in Cochabamba found a prevalence of 27.6 % among PWH, reflecting the hyperendemic status of Chagas disease in that country [15]. In Brazil, studies using highly specific diagnostic methods report prevalence rates of 0.8 %–2 % among urban HIV cohorts, though older literature and less specific assays have reported rates up to 5 % [20,21]. In Argentina, a retrospective review of PWH in Buenos Aires found that 80 out of 1200 HIV patients (6.7 %) were coinfecting with *T. cruzi*, though this cohort was enriched for individuals with epidemiologic risk factors [22]. Studies of Latin American immigrants with HIV in non-endemic countries (e.g., Spain) report prevalence rates of 1.9 % overall, but much higher rates (up to 21.5 %) among Bolivian migrants [9].

The sensitivity of serological tests is lower in PWH. With very low CD4⁺ counts, B cells may not function properly, making the humoral response unreliable. Several publications have reported cases of PWH who tested seronegative but positive by PCR [15,23]. Therefore, if PCR had been used, a positive case might have been identified. However, as the average CD4 count of our study population was high (above 200) and with good adherence of treatment, their serologic response was likely intact. Another consideration is the use of rapid diagnostic tests, which, although less sensitive, could play a role in screening at primary care level in endemic areas [24].

This study has several limitations. First, the sample size was not powered to accurately estimate the prevalence of CD in this population; when the expected prevalence is low (e.g., around 1 %), at least 1000 participants would be needed for precise estimates. Second, we did not include a comparison group of HIV-seronegative individuals from the same area, which would have provided additional epidemiological context. Third, PWH with central nervous system manifestations such as meningoencephalitis or cerebral mass lesions were not included, although this population may be at higher risk of *T. cruzi* reactivation. Fourth, parasitological methods to assess parasitemia were not performed, as the protocol focused on serological screening.

Larger studies are therefore required to determine the true prevalence of CD among PWH living in Iquitos and surrounding areas. Future research should also explore the cost-effectiveness of routine screening in HIV programs, integration with existing laboratory infrastructure, and the development of targeted clinical algorithms for immunocompromised patients.

In conclusion, the prevalence of CD is likely very low in urban and peri-urban areas of Iquitos. However, given the high mortality of *T. cruzi*

reactivation disease, continued epidemiological surveillance among PWH is essential to detect potential changes over time and to prevent future severe reactivation cases in this region, rather than recommending systematic screening at entry-to-care.

CRedit authorship contribution statement

Silvia Otero-Rodríguez: Writing – review & editing, Methodology, Investigation, Data curation, Conceptualization. **Martin Casapia-Morales:** Writing – review & editing, Methodology, Investigation. **Lilia-Lorena Pinedo-Ramírez:** Writing – review & editing, Investigation, Data curation. **Esperanza Merino:** Writing – review & editing, Methodology. **Eva H. Clark:** Writing – review & editing, Supervision. **José-Manuel Ramos-Rincón:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Data curation, Conceptualization.

Availability of data and materials

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

Funding

This work was supported by:

Development Cooperation Program, Miguel Hernández University of Elche and Generalitat Valenciana (Grant UMH-GVA 2022/0005, 11-134-4-2023-0133) to J.-M.R.R.

Alicante Health and Biomedical Research Institute (ISABIAL) Xth call to promote research (Grant 2024-0181) to S.O.-R.

Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) and European Social Fund Plus (Grant CM23/00050) to S.O.-R.

Declaration of competing interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: Jose Manuel Ramos Rincon reports article publishing charges and equipment, drugs, or supplies were provided by Miguel Hernandez University of Elche Faculty of Medicine. If there are other authors, they declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors would like to thank María Flores, from the Department of Parasitology, National Center of Microbiology, Madrid, Spain, for her valuable support and collaboration.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2025.102927>.

References

- [1] Schofield CJ, Jannin J, Salvatella R. The future of chagas disease control. *Trends Parasitol* 2006;22(12):583–8. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.09.011>.
- [2] de Sousa AS, Vermeij D, Ramos Jr AN, Luquetti AO. Chagas disease. *Lancet* 2024; 403(10422):203–18. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01787-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01787-7).
- [3] Nunes MCP, Bern C, Clark EH, Teixeira AL, Molina I. Clinical features of chagas disease progression and severity. *Lancet Reg Health Am* 2024;37:100832. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2024.100832>.
- [4] Clark EH, Bern C. Chagas disease in people with HIV: a narrative review. *Trop Med Infect Dis* 2021;6:198. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6040198>.

S. Otero-Rodríguez et al.

Travel Medicine and Infectious Disease 68 (2025) 102927

- [5] Fernández Plaza J, Guzmán J, Chamorro-Tojeiro S, Pérez-Molina JA. HIV and chagas disease coinfection. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)* 2025;43:117–9. <https://doi.org/10.1016/j.eimce.2024.09.010>.
- [6] Forsyth CJ, Manne-Goehler J, Bern C, Whitman J, Hochberg NS, Edwards M, et al. Recommendations for screening and diagnosis of chagas disease in the United States. *J Infect Dis* 2022;225:1601–10. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab513>.
- [7] Pérez-Molina JA, Rodríguez-Guardado A, Soriano A, Pinazo MJ, Carrilero B, García-Rodríguez M, et al., Chagas Study Group Of The SEMTSI (Sociedad Española de Medicina Tropical Y Salud Internacional [Spanish Society Of Tropical Medicine And International Health]). Guidelines on the treatment of chronic coinfection by *Trypanosoma cruzi* and HIV outside endemic areas. *HIV Clin Trials* 2011;12(6): 287–98. <https://doi.org/10.1310/hct1206-287>.
- [8] Clark EH, Bern C. Chagas disease in the immunocompromised host. *Curr Opin Infect Dis* 2024;37(5):333–41. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000001035>.
- [9] Ahmed N, Herbert S, Arenas-Pinto A, Rickman H, Benn P, Edwards SG, Chiodini PL, Grant AD. *Trypanosoma cruzi* screening in people living with HIV in the UK. *Int J STD AIDS* 2024 Jan;35(1):71–3. <https://doi.org/10.1177/09564624231202292>.
- [10] Rodari P, Tamarozzi F, Tais S, Degani M, Perandin F, Buonfrate D, et al. Prevalence of chagas disease and strongyloidiasis among HIV-infected Latin American immigrants in Italy - the CHILLI study. *Trav Med Infect Dis* 2022;48:102324. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2022.102324>.
- [11] Salvador F, Molina I, Sulleiro E, Burgos J, Curran A, Van den Eynde E, Villar del Saz S, Navarro J, Crespo M, Ocaña I, Ribera E, Falcó V, Pahisa A. Tropical diseases screening in immigrant patients with human immunodeficiency virus infection in Spain. *Am J Trop Med Hyg* 2013;88(6):1196–202. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0714>.
- [12] Llenas-García J, Hernando A, Fiorante S, Maseda D, Matarranz M, Salto E, Rubio R, Pulido F. Chagas disease screening among HIV-positive Latin American immigrants: an emerging problem. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(8): 1991–7. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1531-4>.
- [13] Hayon J, Lupo S, Poveda C, Jones KM, Qian Q, Wu H, et al. Adaptation of chagas disease screening recommendations for a community of At-risk HIV in the United States. *Clin Infect Dis* 2024;78(2):453–6. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad616>.
- [14] Stauffert D, Silveira MF, Mesenburg MA, Manta AB, Dutra AD, Bicca GL, et al. Prevalence of *Trypanosoma cruzi*/HIV coinfection in southern Brazil. *Braz J Infect Dis* 2017 Mar-Apr;21(2):180–4. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.10.006>.
- [15] Reimer-McAtee MJ, Mejia C, Clark T, Terle J, Pajuelo MJ, Cabeza J, et al. HIV and chagas disease: an evaluation of the use of real-time quantitative polymerase chain reaction to measure levels of *Trypanosoma cruzi* parasitemia in HIV patients in Cochabamba, Bolivia. *Am J Trop Med Hyg* 2021;105:643–50. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1141>.
- [16] Bowman NM, Kawai V, Levy MZ, Cornejo del Carpio JG, Cabrera L, Delgado F, et al. Chagas disease transmission in periurban communities of Arequipa, Peru. *Clin Infect Dis* 2008;46:1822–8.
- [17] Vega S, Cabrera R, Álvarez CA, Uribe-Vilca I, Guerrero-Quincho S, Ancca-Juárez J, et al. Clinical and epidemiological characteristics of cases of acute Chagas disease in the Peruvian Amazon basin, 2009–2016. Características clínicas y epidemiológicas de casos de enfermedad de Chagas aguda en la cuenca amazónica peruana, 2009–2016. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2021;38:70–6. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6286>.
- [18] Ramos-Rincón JM, Ortiz-Martínez S, Vásquez-Chasnamote ME, Gamboa-Paredes ON, Pinedo-Cancino VV, Ramal-Asayag C, et al. Chagas disease in pregnant women in the Peruvian Amazon Basin. Cross-Sectional Study. *Front Vet Sci* 2020;7:556. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00556>.
- [19] Casapía-Morales M, Casanova-Rojas WS, Vázquez-Ascate J, Carey-Angeles CA, Alvarez-Antonio C, Alava-Arévalo FF, et al. Seroprevalence of *Strongyloides stercoralis*, human T-lymphotropic virus, and Chagas disease in the Peruvian Amazon: a cross-sectional study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2024;16:66:e73. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202466073>.
- [20] Kesper N, Ignacio Junior JC, Rocci RA, Cunha MA, Lindoso JAL. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in a cohort of people living with HIV/AIDS from an urban area. *Epidemiol Infect* 2023;151:e72. <https://doi.org/10.1017/S095026882200187X>.
- [21] Almeida EA, Lima JN, Lages-Silva E, Guariento ME, Aoki FH, Torres-Morales AE, et al. Chagas' disease and HIV co-infection in patients without effective antiretroviral therapy: prevalence, clinical presentation and natural history. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010;104(7):447–52.
- [22] Benchetrit AG, Fernández M, Bava AJ, Corti M, Porteiro N, Martínez Peralta L. Clinical and epidemiological features of chronic *Trypanosoma cruzi* infection in patients with HIV/AIDS in Buenos Aires, Argentina. *Int J Infect Dis* 2018;67: 118–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.11.027>.
- [23] Clark EH, Messenger LA, Whitman JD, Bern C. Chagas disease in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* 2024;37:e0009923. <https://doi.org/10.1128/cmr.00099-23>.
- [24] Lozano D, Rojas L, Méndez S, Casellas A, Sanz S, Ortiz L, Pinazo MJ, et al. Use of rapid diagnostic tests (RDTs) for conclusive diagnosis of chronic Chagas disease - field implementation in the Bolivian Chaco region. *PLoS Neglected Trop Dis* 2019; 13:e0007877. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007877>.

4.4. Objetivo 4

4.4.1. Referencia del artículo

Otero-Rodriguez S, Casapia-Morales M, de Mendoza C, Pinedo-Cancino V, Mego-Campos S, Soriano V, Merino E, Ramos-Rincón JM. High Rate of Human T-Cell Lymphotropic Virus-2 in Patients with HIV in the Peruvian Amazon. *Trop Med Infect Dis.* 2025;17;10(9):267.

4.4.2. Abstract en español

La coinfección por HTLV-1/2 en personas con VIH ha sido poco estudiada en la Amazonia peruana, una zona endémica para ambos virus. Nuestro objetivo fue estimar su prevalencia y describir las principales características clínicas y epidemiológicas de los individuos con coinfección HTLV-VIH. Realizamos un estudio transversal (octubre–diciembre de 2023) en el Servicio de Enfermedades Infecciosas y Medicina Tropical del Hospital Regional de Loreto, en Iquitos. Se realizó una prueba de tamizaje (ELISA recombinante HTLV I+II) y los resultados se confirmaron mediante INNO-LIA. Entre 293 PVV analizados, 14 (4.8 %) fueron HTLV-positivos: 1/293 fue positivo para HTLV-1 (0.3 %; IC 95 %: 0.06–0.9), 11/293 positivos para HTLV-2 (3.8 %; IC 95 %: 2.1–6.8) y 2/293 no tipificables (0.7 %; IC 95 %: 0.1–2.7). En comparación con los individuos mono infectados por VIH, los pacientes superinfectados eran de mayor edad (55 vs. 39 años; $p=0.001$). Un bajo nivel educativo fue más frecuente en el análisis univariado (35.7 % vs. 15.4 %; $p=0.05$), pero no se mantuvo en el modelo multivariable. En conclusión, la coexistencia VIH-HTLV-2 es relativamente común (~4 %) en la Amazonia peruana, especialmente entre personas de mayor edad, lo que subraya la necesidad de estrategias de tamizaje y prevención dirigidas. Integrar la prueba de HTLV en los flujos rutinarios de atención en clínicas de VIH, junto con un asesoramiento breve y específico para pacientes superinfectados, podría ayudar a optimizar su seguimiento y atención.

4.4.3. Artículo original



Article

High Rate of Human T-Cell Lymphotropic Virus-2 in Patients with HIV in the Peruvian Amazon

Silvia Otero-Rodriguez ^{1,2,*}, Martin Casapia-Morales ^{3,4,5}, Carmen de Mendoza ⁶, Viviana Pinedo-Cancino ^{5,7}, Seyer Mego-Campos ⁷, Vicente Soriano ⁸, Esperanza Merino ^{1,2,9} and José-Manuel Ramos-Rincón ^{1,2,9}

- ¹ Infectious Diseases Unit, Doctor Balmis University General Hospital, 03010 Alicante, Spain; merino_luc@gva.es (E.M.); jose.ramosr@umh.es (J.-M.R.-R.)
 - ² Institute of Sanitary and Biomedical Research (ISABIAL), 03010 Alicante, Spain
 - ³ Infectious Diseases and Tropical Medicine Service, Loreto Regional Hospital, Iquitos 16001, Peru; mcasapia@acsaperu.org
 - ⁴ Medical Department, Asociación Civil Selva Amazónica, Iquitos 16001, Peru
 - ⁵ Faculty of Human Medicine, National University of the Peruvian Amazon, Iquitos 496, Peru; viviana.pinedo@unapiquitos.edu.pe
 - ⁶ Puerta de Hierro University Hospital & Research Foundation-IDIPHISA, 28222 Madrid, Spain; cmendoza.cdm@gmail.com
 - ⁷ Laboratory for Research on Natural Antiparasitic Products of the Amazon (LIPNAA-CIRNA), National University of the Peruvian Amazon, Iquitos 496, Peru; megoseyer@gmail.com
 - ⁸ UNIR Health Sciences School and Medical Center, 28224 Madrid, Spain; vicente.soriano@unir.net
 - ⁹ Clinical Medicine Department, Miguel Hernández University of Elche, 03202 Elche, Spain
- * Correspondence: o.silvia.r@gmail.com

Abstract

HTLV-1/2 in people with HIV (PWH) has been little studied in the Peruvian Amazon, an endemic area for both viruses. We aimed to estimate its prevalence and describe the main clinical and epidemiological features of individuals with HTLV-HIV co-existence. We conducted a cross-sectional study (October–December 2023) at the Division of Infectious Diseases and Tropical Medicine at the Regional Hospital of Loreto in Iquitos. We performed a screening test (recombinant HTLV I+II ELISA) and confirmed the results with INNO-LIA. Among 293 PWH analyzed, 14 (4.8%) were HTLV-positive: 1/293 was HTLV-1-positive (0.3%; 95% CI 0.06–0.9), 11/293 were HTLV-2-positive (3.8%; 95% CI 2.1–6.8), and 2/293 were non-typeable (0.7%; 95% CI 0.1–2.7). Compared with HIV-monoinfected individuals, superinfected patients were older (55 vs. 39 years; $p = 0.001$). Low education was more frequent in the univariate analysis (35.7% vs. 15.4%; $p = 0.05$) but was not retained in the multivariable model. In conclusion, HIV–HTLV-2 co-existence is relatively common (~4%) in the Peruvian Amazon, particularly among older individuals, highlighting the need for targeted screening and prevention strategies. Integrating HTLV testing into routine HIV clinic workflows, along with brief and focused counseling for superinfected patients, may help optimize follow-up and care.

Keywords: HTLV; HTLV-2; human T-cell lymphotropic virus; human immunodeficiency virus; HIV; Peru; Amazon



Academic Editors: Ricardo Izurieta and Enrique Terán

Received: 12 August 2025
Revised: 3 September 2025
Accepted: 15 September 2025
Published: 17 September 2025

Citation: Otero-Rodriguez, S.; Casapia-Morales, M.; de Mendoza, C.; Pinedo-Cancino, V.; Mego-Campos, S.; Soriano, V.; Merino, E.; Ramos-Rincón, J.-M. High Rate of Human T-Cell Lymphotropic Virus-2 in Patients with HIV in the Peruvian Amazon. *Trop. Med. Infect. Dis.* **2025**, *10*, 267. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed10090267>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Infection with Human T-Cell Lymphotropic Virus Types I and II (HTLV-1/2) represents an underestimated public health issue, with a heterogeneous geographic distribution and a significant burden in endemic areas of Latin America, particularly in Brazil and Peru. HTLV-1 affects more than 10 million people worldwide [1] and is associated with severe

conditions such as adult T-cell leukemia/lymphoma and HTLV-1-associated myelopathy. In contrast, HTLV-2, which is considered less pathogenic, predominates among Indigenous populations and people who inject drugs [2–8].

HTLV-1/2 is primarily transmitted through sexual contact, vertical transmission (particularly via breastfeeding), blood transfusions, and, in certain regions, through exposure to contaminated blood through unsterile practices, such as scarification rituals or poorly hygienic procedures. These transmission routes are shared with the human immunodeficiency virus (HIV) [2].

The presence of both HIV and HTLV-1 in an individual's immune system promotes immune dysregulation, characterized by paradoxical expansion of dysfunctional CD4⁺ and CD8⁺ T cells and chronic immune activation, ultimately leading to immune exhaustion despite elevated lymphocyte counts [9]. While some reports suggest that HIV-HTLV-2 coinfection may be linked to a 'long-term non-progressor' phenotype, evidence remains inconclusive and clinically controversial [1]. These interactions may influence HIV progression and outcomes, underscoring the importance of HTLV testing in HIV-positive patients—particularly those with compatible ethnic backgrounds and unexpectedly high CD4 counts—and the need for vigilance regarding HTLV-associated conditions such as HAM/TSP, adult T-cell leukemia/lymphoma, and *Strongyloides* hyperinfection [10,11].

In Brazil, the prevalence of HTLV/HIV co-existence is heterogeneous, ranging from 1.3% to 7%. HTLV-1a is the predominant subtype in the Amazon region, while a high endemicity of HTLV-2 has been observed among Indigenous populations and drug users. In Peru, although data are more limited, HTLV-1/2 infection has been documented in both urban and rural populations, with transmission hotspots in the Amazon region and evidence of circulation among Indigenous communities and individuals with similar risk factors to those reported in Brazil [5–7,10,12–14].

The Peruvian Amazon is a key area for HIV transmission, with the second-highest cohort of patients in the country receiving antiretroviral treatment after Lima [15]. Some studies have also revealed very high HIV rates in isolated indigenous populations, mainly due to sexual exposure without protection (including polygamy and homosexual practices), as there is little knowledge about the infection [16,17]. The absence of systematic screening programs for HIV and limited clinical awareness hinder detection and control of the infection, highlighting the urgent need to strengthen epidemiological surveillance and research efforts in the region [2–5].

The aim of this study is to assess the prevalence of HTLV-1/2 infection in a pilot sample of PWH in the Peruvian Amazon, describe the clinical and epidemiological characteristics of superinfected individuals, and analyze differences compared to HIV-monoinfected patients.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Setting

A cross-sectional study was conducted among PWH who were receiving care at the Division of Infectious Diseases and Tropical Medicine of the Regional Hospital of Loreto "Felipe Santiago Arriola Iglesias" in Iquitos, Peru. The study period was from 20 October 2023 to 31 December 2023.

2.2. Study Population and Enrollment Criteria

Adults aged 18 years and older with confirmed HIV infection who were receiving outpatient care at the Regional Hospital of Loreto were eligible for inclusion. After providing informed consent, participants completed a semi-structured oral interview that collected

data on demographics, clinical history and potential epidemiological risk factors. After that, a blood sample was obtained.

We planned to estimate the prevalence of HTLV coinfection among ~1000 PWH in care. Using an expected prevalence of 10% according to a previous meta-analysis in Peru [18], 95% confidence, and $\pm 3\%$ absolute precision, the required sample for a single proportion was 384. After applying the finite-population correction for $N = 1000$, this became 278. Allowing 6% for non-evaluable/losses, the final target sample was ≈ 295 participants.

Separated serum samples were aliquoted and frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. When 96 samples were obtained, an ELISA kit was used, never exceeding four weeks. The presence of antibodies against HTLV-1/2 was initially screened using a single ELISA assay (HTLV I+II ELISA recombinant v.4.0 96-well kit, Wiener Lab, Rosario, Argentina; catalog number 1671096). A result was considered positive when the optical density value exceeded the negative control by 0.200, according to the manufacturer's instructions. Due to the lack of local confirmatory testing, the 15 serum samples that were positive for HTLV at screening were sent to a HTLV reference laboratory in Puerta de Hierro University Hospital, Madrid, Spain. To facilitate safe transport from Iquitos without a cold chain, aliquots of frozen serum were applied to Whatman filter paper to create dried serum spots (DSS), which were air-dried, sealed with desiccant, and shipped using standard triple packaging. Upon arrival, DSS were eluted and tested with INNO-LIA HTLV I/II Score (Fujirebio, Tokyo, Japan; catalog number 80540), following standard laboratory procedures. While serum/plasma are the manufacturer's validated matrices, DSS were used exclusively for transport. Molecular assays, including HTLV typing and proviral load, could not be performed, as DNA extracted from cellular fractions (whole blood/PBMCs) was not collected.

We performed serologic testing for *Strongyloides stercoralis* because of its epidemiologic overlap with HTLV in the Amazon and evidence that HTLV-1 coinfection increases the risk of severe/disseminated strongyloidiasis and treatment failure [19,20]. Accordingly, we assessed *Strongyloides*–HTLV coinfection among PWH to inform clinical follow-up in endemic settings. Serology for *S. stercoralis* was performed using a commercial IgG ELISA (Strongyloides IgG IVD ELISA, DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany; catalog number EIA-4208), following the manufacturer's instructions; results were interpreted using kit-specified cutoffs.

Those who were positive for HTLV 1/2 were contacted again to conduct a more comprehensive interview on risk factors for transmission, including the origin of their parents.

2.3. Statistical Data Analysis

Categorical variables were summarized as frequencies and percentages, while continuous variables were expressed as medians and interquartile ranges (IQRs). Ninety-five percent confidence intervals (95% CIs) were calculated using the Newcombe method. Comparisons between categorical variables were performed using the Chi-square test or Fisher's exact test when any expected cell count was <5 , while continuous variables were analyzed using the Mann–Whitney U test, given the non-normal distribution. Age was analyzed as a continuous variable and, for specific comparisons, dichotomized at the 75th percentile ($P_{75} = 49$ years) into <50 vs. ≥ 50 years. Risk factors associated with HTLV positivity were explored using bivariate analysis, with odds ratios (ORs) used to quantify associations. Subsequently, we fitted a multivariable logistic regression model using a forward stepwise procedure to identify independent risk factors for HTLV positivity. Age and sex were included a priori, and additional covariates with $p < 0.10$ in the univariable analyses were considered eligible for inclusion in the model. Statistical analyses were performed via IBM SPSS Statistics, version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

2.4. Ethical Considerations

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Regional Hospital of Loreto in Iquitos, Peru (EXP: ID-018-CIEI-2023) and by the Ethics and Research Integrity Committee of Miguel Hernández University of Elche, Spain (DMC.JMRR.230908). Written informed consent was obtained from all participants. Confidentiality of data was strictly maintained, and results were only disclosed to each participant’s HIV care provider, who ensured appropriate follow-up and treatment.

3. Results

3.1. Overview of the Study Population

A total of 293 PWH were included in the study, of whom 66.9% were male, with a median age of 40 years (IQR 30–49). Of the participants, 16.7% had no formal education or had only attended primary school, 21.8% had received a blood transfusion, 94.5% had been breastfed, and 89.9% acquired HIV through sexual transmission. This overview serves as a reference for subsequent subgroup comparisons between HTLV-positive and HTLV-negative participants, described in Table 1.

Table 1. Epidemiological characteristics of study participants (N = 293) and results of HTLV screening.

Variables	Overall (N = 293)	HTLV Positive (N = 14)	HTLV Negative (N = 279)	p Value
Epidemiology				
Sex, male, n (%)	196 (66.9%)	9 (64.3)	187 (66.9)	0.789
Age, median (IQR), years	40 (30–49)	55 (52–61)	39 (29–47)	<0.001
Age ≥ 50 years, n (%)	72 (24.6)	12 (85.7)	60 (21.5)	<0.001
Residence, n (%)				
Iquitos district	97 (33.1)	7 (50.0)	90 (32.3)	0.932
Punchana district	84 (28.7)	4 (28.6)	80 (28.7)	
San Juan district	64 (21.8)	1 (7.1)	63 (22.6)	
Belen district	33 (11.3)	2 (14.3)	31 (11.1)	
Outside of Iquitos city	15 (5.1)	0 (0.0)	15 (5.3)	
Occupation, n (%)				
Unemployed or student	111 (37.9)	5 (35.7)	106 (38.0)	0.54
Self-employment	100 (34.1)	5 (35.7)	95 (34.1)	
Cattle, agriculture or construction	47 (16.0)	3 (21.4)	44 (15.8)	
Intellectual work	28 (9.8)	0 (0.0)	28 (10.7)	
Craft work	7 (2.4)	1 (7.1)	6 (2.2)	
Education, n (%)				
None or only attended primary school	49 (16.7)	5 (35.7)	44 (15.8)	0.05
Attended secondary school or university	244 (83.3)	9 (64.3)	235 (84.2)	
Epidemiological risk factors, n (%)				
Breastfeeding	277 (94.5)	13 (92.9)	264 (94.6)	0.55
Blood transfusion	64 (21.8)	3 (21.4)	61 (21.9)	1.0
Comorbidity, n (%)				
Diabetes or high blood pressure	21 (7.2)	2 (14.3)	19 (6.8)	0.26
Digestive disease	12 (4.1)	2 (14.3)	10 (3.6)	0.10
Other cardiovascular disease	10 (3.49)	1 (7.1)	9 (3.2)	0.39

Table 1. Cont.

Variables	Overall (N = 293)	HTLV Positive (N = 14)	HTLV Negative (N = 279)	p Value
Previous infections, n (%)				
Strongyloides serology positive	167 (57.0)	6 (42.9)	161 (57.7)	0.29
Tuberculosis test positive	55 (18.8)	4 (28.6)	51 (18.3)	0.30
Prior gonorrhea	33 (11.3)	3 (21.4)	30 (10.8)	0.20
Prior syphilis	41 (14.0)	3 (21.3)	38 (13.6)	0.42
Chronic hepatitis	19 (6.5)	2 (14.3)	17 (6.7)	0.23
Prior cerebral toxoplasmosis	13 (4.4)	0 (0.0)	13 (4.7)	0.41
HIV acquisition, n (%)				
Sexual	263 (89.9)	12 (85.7)	251 (90.0)	0.71
Vertical	2 (1.0)	0 (0.0)	3 (1.1)	
Unknown	27 (9.2)	2 (14.39)	25 (9.0)	
Virology, Immunology and Adherence of Treatment				
Nadir CD4 ⁺ /uL, median (IQR)	228 (109–363)	213 (123–360)	230 (109–363)	0.91
Current CD4 ⁺ , median (IQR)	446 (303–597)	455 (385–613)	441 (299–593)	0.47
Current CD4 ⁺ < 200/mL n (%)	22 (10.7)	0 (0.0)	22 (11.3)	0.61
Current undetectable HIV viral load (<20 copies/mL), n (%)	216 (76.3)	12 (92.39)	204 (75.6)	0.31
Poor ART adherence, ≤95%, n (%)	22 (13.4)	2 (15.4)	30 (13.3)	0.89

Values with *p* value ≤ 0.05, which were subsequently included in the multivariate analysis, appear in bold. Percentages may not total 100 due to rounding.

3.2. HTLV Subtypes

15/293 patients tested positive for HTLV during screening. Of them, 14/293 (4.8%) were definitively confirmed: 1/293 was HTLV-1 (0.3% 95% CI 0.06–0.9), 11/293 were HTLV-2 (3.8%, 95% CI 2.1–6.8) and 2/293 (0.7%, 95% CI 0.1–2.7) were non-typeable by INNO-LIA HTLV I/II score (Figure 1).

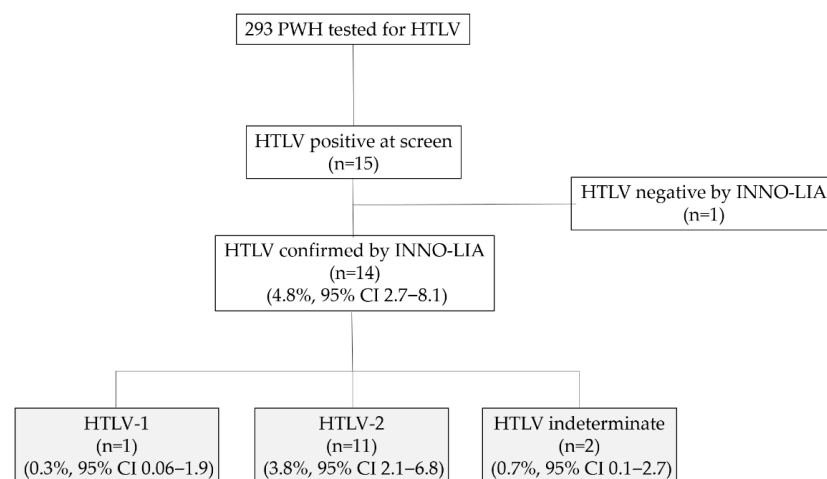


Figure 1. Flow chart of patients with HIV (PWH) who participated in the study and HTLV subtypes by INNO-LIA HTLV I/II score (number of cases, percentage and 95% confidence interval).

3.3. Description of HTLV-HIV Co-Existence

Of the 14 patients confirmed positive for HTLV, the median age was 55 years (IQR 52–61), and >85% were older than 50 years. All but one were Mestizos (92.9%), while one patient was of the Kukuma race, a tribe that lives on the Marañón River inside Pacaya Samiria National Reserve (Figure 2). The parents of 6 of 12 patients with information available (50%) came from the tributaries of the Amazon River, in southern Iquitos, while the origin of one family was Pebas, in the part of the Amazon River that heads towards the border with Brazil, in northern Iquitos. 4 of the patients had parents from Iquitos, and 2 had no recorded data on their origin due to loss to follow-up. These findings may indicate that HTLV is not confined to river basins bordering Brazil, but circulating along the Marañón and Ucayali Rivers, involving both native communities and mestizo populations in Iquitos with family ties to endemic riverside areas.

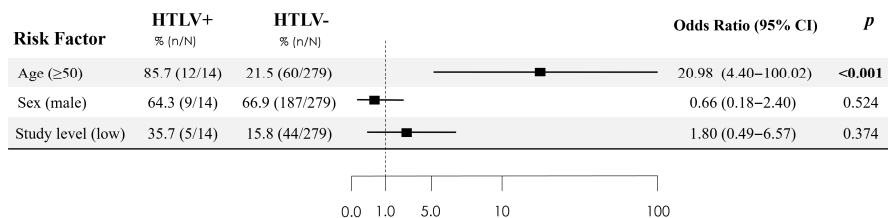


Figure 2. Independent predictors of HTLV infection from multivariable logistic regression analysis. Statistically significant differences (*p* value < 0.05) are shown in bold.

All but 1 (92.9%) had been breastfed; 3 (21.8%) had received a blood transfusion, and only 1 (7.1%) referred to scarification practices. Four (28.6%) patients had non-heterosexual sexual practices or more than five sexual partners. The characteristics of HIV-HTLV co-existence are presented in Table 2.

3.4. HTLV-Positive vs. HTLV-Negative Patients

Table 1 presents the differences between PWH with positive and negative HTLV-1/2 serology. In the univariate analysis, the risk factors associated with HTLV-1/2 positivity in the screening were age ≥ 50 years (85.7% vs. 21.5%) (*p* = 0.001) (OR 21.9; 95% CI 4.77–100) and lack of formal education or only graduated from primary school (35.7% vs. 15.4%) (*p* = 0.05) (OR 2.96 95% CI 0.95–9.27). In the multivariable logistic regression—adjusting for sex and all covariates with *p* < 0.10 in univariable screening—age was the only independent predictor. Using a dichotomous cut-off, age ≥ 50 years was associated with the outcome (aOR 22.29; 95% CI 4.66–106). Modeled as a continuous variable, each additional year increased the odds by 1.1% (aOR 1.11; 95% CI 1.05–1.17) (Figure 2).

Table 2. Characteristics of patients with HIV-HTLV co-existence.

N	Type of HTLV	Age	Sex	Ethnicity	Origin of Parents	Breast-Feeding	Sexual Behavior/ Number of Sexual Partners	Non-Sterilized Procedures ^a	Transfusion	Living in Rural Area ^b	Chronic Hepatitis	STI ^c	CD4 Count Nadi/ ^o Last	HIV Viral Load
1	HTLV-1	62	M	Mestizo	Tarapoto	Yes	Transgender/<5	No	Yes	No	No	No	479/677	<20
2	HTLV-2	52	M	Mestizo	Iquitos	Yes	Homosexual/<5	No	No	No	No	No	218/674	<20
3	HTLV-2	56	M	Kukuma	Marañón River	Yes	Homosexual/<5	No	No	No	No	No	287/684	<20
4	HTLV-2	60	F	Mestizo	Nauta	Yes	Heterosexual/≥5	No	No	No	No	No	113/113	<20
5	HTLV-2	61	M	Mestizo	Requena	Yes	Heterosexual/≥5	No	Yes	No	No	No	134/322	<20
6	HTLV-2	53	M	Mestizo	Cuzco	Yes	Bisexual/≥5	No	Yes	No	Yes	Gonorrhea Syphilis	52/371	<20
7	HTLV-2	60	M	Mestizo	LOF	Yes	Heterosexual/LOF	LOF	No	No	Yes	No	NA	<20
8	Non-typable HTLV	43	F	Mestizo	Pebas	Yes	Heterosexual/<5	No	No	No	No	No	261/261	<20
9	Non-typable HTLV	55	M	Mestizo	Iquitos	Yes	Heterosexual/<5	No	No	No	No	Gonorrhea Syphilis	455/455	<20
10	HTLV-2	54	F	Mestizo	Marañón River	Yes	Heterosexual/≥5	Scarification	No	No	No	Syphilis	76/525	<20
11	HTLV-2	64	M	Mestizo	LOF	Yes	Heterosexual/LOF	LOF	No	No	No	No	171/399	<20
12	HTLV-2	66	F	Mestizo	Ucayali River	Yes	Heterosexual/<5	No	No	No	No	No	519/519	<20
13	HTLV-2	45	M	Mestizo	Iquitos	Yes	Heterosexual/<5	No	No	No	No	No	434/434	<20
14	HTLV-2	50	M	Mestizo	Iquitos	No	Heterosexual/<5	No	No	No	No	Gonorrhea	344/344	<20

^a Non-sterilized procedures: injection, scarification, tattoos, dental procedures, intravenous drugs. ^b Defined as the absence of paved streets. ^c Sexually transmitted infections. LOF: not available due to loss to follow-up. NA: not available in the clinical history.

4. Discussion

This study confirms the relevance of HTLV-HIV coexistence in patients from the Peruvian Amazon, where HTLV-2 predominates over HTLV-1, in contrast to other regions of South America and the world where HTLV-1 is by far more frequent. Two distinct epidemiological patterns of HTLV-2/HIV superinfection have been described: one in Europe, largely associated with people who inject drugs [21], and another in Latin America, particularly in Brazil and Peru. In this region, the prevalence of HTLV-2 among people with HIV is variable and may exceed 3% in certain cohorts [2,8,9,11–14,22,23], with especially high rates reported in indigenous populations of the Amazon, although HIV/HTLV-2 cases have also been documented in urban settings.

In Peru, the Shipibo-Konibo ethnic group in the Amazonian region exhibits a high prevalence of HTLV-1 (5.7%) and HTLV-2 (3.8%) [24]. In other indigenous communities of the Peruvian Amazon, seroprevalence rates of 4.54% for HTLV-1 and 2.38% for HTLV-2 have been documented [25]. Similarly, cross-sectional studies in the Brazilian Amazon have shown a higher prevalence of HTLV-2 than HTLV-1, with seroprevalence rates ranging from 0% to 40% [8]. In general, the overall prevalence of HTLV-2 infection in the indigenous communities of the Amazonian Brazil ranges from 5.7% [26] to 8.1% [6]. Abreu et al. reported a prevalence for HTLV-2 of 18.5% and HTLV-1 of 0.13% in 1452 individuals from the Kayapó ethnic group, and found evidence of intrafamilial transmission in 42.7% of cases [6]. The variability in reported prevalence rates in the literature reflects differences in diagnostic methods, inclusion criteria, and the representativeness of the studied populations. In the Peruvian Amazon, the high proportion of indeterminate INNO-LIA HTLV I/II results underscores the need for confirmatory molecular testing and cautious interpretation of serological results, in line with the recommendations of the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology [25,26]. Additionally, underreporting and the lack of systematic screening hinder the precise estimation of disease burden and the identification of emerging risk factors [8,23,27].

The older age observed in patients with HTLV-HIV co-existence has been observed in previous studies [28]. This may be due to the transmission pattern of HTLV-2, which may be favored by certain practices that were more frequently practiced in indigenous or marginal urban communities some decades ago [29]. In addition, HTLV-2 has lower rates of sexual transmission than HTLV-1 and HIV, with a lower potential for spreading in highly mobile populations with risky sexual behavior, but greater for spreading in those with longer periods of exposure to cumulative risk factors [28]. Although the best-documented risk factors for HTLV-2 infection in Amazonian indigenous populations are age and intravenous drug use, some cultural and socioeconomic factors have been previously associated with HTLV-1 infection. In a cohort of Peruvian women, low educational level (primary education or less) was significantly associated with HTLV-1 infection [30]. In a 10-year analysis from Brazil, an increasing trend in HTLV-1/2 seropositivity was associated with the lowest educational level, which is consistent with our trend [31] and may reflect disparities in access to health information and preventive practices, influencing transmission dynamics [32].

Although at least half of the patients' relatives resided in rural communities along the tributaries and the main course of the Amazon River. The most frequent origin was rural settlements south of Iquitos along the Marañón and Ucayali Rivers, whereas communities along the Amazon River en route to Brazil were less common, which may support the existence of a persistent transmission niche in the Peruvian Amazon [2,5,25].

The clinical course of HTLV-2/HIV co-existence is heterogeneous. Although HTLV-2 is associated with lower pathogenicity than HTLV-1, some studies suggest that it may modulate HIV progression, with reports of “long-term non-progressor” phenotypes and lower

HIV proviral load in individuals with HTLV-2, possibly mediated by increased CD8⁺ T cell cytotoxic activity. However, the evidence regarding the clinical impact of superinfection remains controversial and is limited by study heterogeneity and the lack of longitudinal follow-up [9,25].

One of the main strengths of this study is its focus on epidemiological surveillance strategies for HTLV and HIV, particularly in a region where such data are scarce. By addressing this neglected area, the study contributes valuable information for public health decision-making and future research planning in the Amazon region. However, the study has several limitations. First, the small sample size limits the generalizability of the findings. Second, confirmatory testing was performed on eluates from dried serum spots applied to Whatman paper, a transport method not formally validated by the INNO-LIA manufacturer and which may slightly reduce sensitivity in low-titer samples. However, previous studies using dried-spot matrices for HTLV serology report high specificity and variable sensitivity (≈ 81 –100%), supporting their feasibility in field settings. The results should therefore be interpreted cautiously and confirmed with serum or plasma when possible [33]. Another limitation is the inability to perform molecular characterization (HTLV-1/2 typing by PCR and proviral-load quantification), because cellular specimens (whole blood/PBMCs) were not collected. Reliance on serology alone may leave a small proportion of cases untyped and precludes analyses relating proviral burden to clinical outcomes. Additionally, given the cross-sectional design, it was not possible to assess the longitudinal clinical impact, particularly the role of HTLV in HIV disease progression and related complications.

In conclusion, our screening study in the Peruvian Amazon highlights a significant prevalence of HIV–HTLV co-existence, particularly with HTLV-2. Risk factors include age over 50 years. However, awareness and identification of HTLV co-existence remain important, as they can guide appropriate patient follow-up and care strategies. Future multicenter studies with larger cohorts and long-term follow-up are needed to better define the clinical relevance of both HTLV-1 and HTLV-2 in people living with HIV, especially in endemic areas such as the Amazon region. From a public-health perspective, the $\sim 4\%$ HIV–HTLV coinfection burden supports integrating HTLV testing into HIV clinic workflows, linking positive cases to counseling and *Strongyloides* assessment, and strengthening referral networks. Programs should prioritize older PWH in endemic regions, include partner testing, and capture cases in surveillance systems to guide resource allocation and cost-effective screening strategies.

Author Contributions: Conceptualization, S.O.-R., J.-M.R.-R. and M.C.-M.; methodology, S.O.-R., M.C.-M., C.d.M., V.S. and J.-M.R.-R.; software, S.O.-R.; validation, S.O.-R., J.-M.R.-R. and M.C.-M.; formal analysis, S.O.-R. and J.-M.R.-R.; investigation, S.O.-R., S.M.-C. and C.d.M.; resources, S.O.-R.; data curation, S.O.-R. and J.-M.R.-R.; writing—original draft preparation, S.O.-R. and J.-M.R.-R.; writing—review and editing, S.O.-R., M.C.-M., C.d.M., V.P.-C., S.M.-C., V.S., E.M. and J.-M.R.-R.; visualization, J.-M.R.-R.; supervision, M.C.-M., C.d.M., V.S. and J.-M.R.-R.; project administration, S.O.-R., M.C.-M., V.P.-C., E.M. and J.-M.R.-R.; funding acquisition, J.-M.R.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Miguel Hernández University of Elche (UMH), under grant UMH-GVA 2022/0005-11-134-4-2023-0133, Alicante Health and Biomedical Research Institute (IS-ABIAL), under grant 2024-0181, and Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), under grant CM23/00050.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Loreto Regional Hospital, Iquitos, Peru, protocol code ID-018-CIEI-2013, 11 May 2023.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The dataset used and/or analyzed during the current study are available in the Zenodo Repository, under the ORCID: 10.5281/zenodo.14864472.

Acknowledgments: We want to thank the medical staff of the Infectious Diseases Service at Loreto Regional Hospital and Iquitos Hospital, together with the laboratory staff of LIPNAA-CIRNA and Asociación Civil Selva Amazónica, for their support in the field.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

HTLV	Human T-cell lymphotropic virus
HIV	Human immunodeficiency virus
PWH	People with HIV
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
IQRs	Interquartile ranges
CI	Confidence intervals
ART	Anti-retroviral therapy

References

1. Rockwood, N.; Cook, L.; Kagdi, H.; Basnayake, S.; Bangham, C.R.M.; Pozniak, A.L.; Taylor, G.P. Immune Compromise in HIV-1/HTLV-1 Coinfection With Paradoxical Resolution of CD4 Lymphocytosis During Antiretroviral Therapy: A Case Report. *Medicine* **2015**, *94*, e2275. [[CrossRef](#)]
2. Branda, F.; Romano, C.; Pavia, G.; Bilotta, V.; Locci, C.; Azzena, I.; Deplano, I.; Pascale, N.; Perra, M.; Giovanetti, M.; et al. Human T-Lymphotropic Virus (HTLV): Epidemiology, Genetic, Pathogenesis, and Future Challenges. *Viruses* **2025**, *17*, 664. [[CrossRef](#)]
3. Legrand, N.; McGregor, S.; Bull, R.; Bajis, S.; Valencia, B.M.; Ronnachit, A.; Einsiedel, L.; Gessain, A.; Kaldor, J.; Martinello, M. Clinical and Public Health Implications of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Infection. *Clin. Microbiol. Rev.* **2022**, *35*, e00078-21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Solorzano-Salazar, D.M.; Hernández-Vásquez, A.; Visconti-Lopez, F.J.; Azañedo, D. Research on HTLV-1 and HTLV-2 in Latin America and the Caribbean over the Last Ten Years. *Heliyon* **2023**, *9*, e13800. [[CrossRef](#)]
5. Carneiro-Proietti, A.B.F.; Catalan-Soares, B.; Proietti, F.A.; GIPH (Interdisciplinary HTLV-1/II Research Group). Human T Cell Lymphotropic Viruses (HTLV-I/II) in South America: Should It Be a Public Health Concern? *J. Biomed. Sci.* **2002**, *9*, 587–595. [[CrossRef](#)]
6. Abreu, I.N.; Lima, C.N.C.; Sacuena, E.R.P.; Lopes, F.T.; Da Silva Torres, M.K.; Santos, B.C.D.; De Oliveira Freitas, V.; De Figueiredo, L.G.C.P.; Pereira, K.A.S.; De Lima, A.C.R.; et al. HTLV-1/2 in Indigenous Peoples of the Brazilian Amazon: Seroprevalence, Molecular Characterization and Sociobehavioral Factors Related to Risk of Infection. *Viruses* **2022**, *15*, 22. [[CrossRef](#)]
7. Oliveira-Filho, A.B.; Araújo, A.P.S.; Souza, A.P.C.; Gomes, C.M.; Silva-Oliveira, G.C.; Martins, L.C.; Fischer, B.; Machado, L.F.A.; Vallinoto, A.C.R.; Ishak, R.; et al. Human T-Lymphotropic Virus 1 and 2 among People Who Used Illicit Drugs in the State of Pará, Northern Brazil. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 14750. [[CrossRef](#)]
8. Ishak, R.; Guimarães Ishak, M.D.O.; Azevedo, V.N.; Machado, L.F.A.; Vallinoto, I.M.C.; Queiroz, M.A.F.; Costa, G.D.L.C.; Guerreiro, J.F.; Vallinoto, A.C.R. HTLV in South America: Origins of a Silent Ancient Human Infection. *Virus Evol.* **2020**, *6*, veaa053. [[CrossRef](#)]
9. Islam, M.N.; Mili, M.A.; Jahan, I.; Chakma, C.; Munalisa, R. Immunological and Neurological Signatures of the Co-Infection of HIV and HTLV: Current Insights and Future Perspectives. *Viruses* **2025**, *17*, 545. [[CrossRef](#)]
10. Vieira, B.A.; Bidinotto, A.B.; Dartora, W.J.; Pedrotti, L.G.; de Oliveira, V.M.; Wendland, E.M. Prevalence of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 and 2 (HTLV-1/-2) Infection in Pregnant Women in Brazil: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 15367. [[CrossRef](#)]
11. Galetto, L.R.; Lunge, V.R.; Béria, J.U.; Tietzmann, D.C.; Stein, A.T.; Simon, D. Short Communication: Prevalence and Risk Factors for Human T Cell Lymphotropic Virus Infection in Southern Brazilian HIV-Positive Patients. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **2014**, *30*, 907–911. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

12. Alencar, S.P.; de Carvalho Souza, M.; de Souza Fonseca, R.R.; Menezes, C.R.; Azevedo, V.N.; Ribeiro, A.L.R.; Lima, S.S.; Laurentino, R.V.; de Abreu Pina Barbosa, M.D.A.; Freitas, F.B.; et al. Prevalence and Molecular Epidemiology of Human T-Lymphotropic Virus (HTLV) Infection in People Living With HIV/AIDS in the Pará State, Amazon Region of Brazil. *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 572381. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Etzel, A.; Shibata, G.Y.; Rozman, M.; Jorge, M.L.; Damas, C.D.; Segurado, A.A. HTLV-1 and HTLV-2 Infections in HIV-Infected Individuals from Santos, Brazil: Seroprevalence and Risk Factors. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2001**, *26*, 185–190. [[CrossRef](#)]
14. Caterino-de-Araujo, A.; Sacchi, C.T.; Gonçalves, M.G.; Campos, K.R.; Magri, M.C.; Alencar, W.K.; Group of Surveillance and Diagnosis of HTLV of São Paulo (GSuDiHTLV-SP) Short Communication. Current Prevalence and Risk Factors Associated with Human T Lymphotropic Virus Type 1 and Human T Lymphotropic Virus Type 2 Infections Among HIV/AIDS Patients in São Paulo, Brazil. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **2015**, *31*, 543–549. [[CrossRef](#)]
15. Tattsbridge, J.; Wiskin, C.; de Wildt, G.; Clavé Llavall, A.; Ramal-Asayag, C. HIV Understanding, Experiences and Perceptions of HIV-Positive Men Who Have Sex with Men in Amazonian Peru: A Qualitative Study. *BMC Public Health* **2020**, *20*, 728. [[CrossRef](#)]
16. Zavaleta, C.; Fernández, C.; Konda, K.; Valderrama, Y.; Vermund, S.H.; Gotuzzo, E. Short Report: High Prevalence of HIV and Syphilis in a Remote Native Community of the Peruvian Amazon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2007**, *76*, 703–705. [[CrossRef](#)]
17. Bartlett, E.C.; Zavaleta, C.; Fernández, C.; Razuri, H.; Vilcarromero, S.; Vermund, S.H.; Gotuzzo, E. Expansion of HIV and Syphilis into the Peruvian Amazon: A Survey of Four Communities of an Indigenous Amazonian Ethnic Group. *Int. J. Infect. Dis.* **2008**, *12*, e89–e94. [[CrossRef](#)]
18. Ramos-Rincón, J.-M.; Ortiz-Martínez, S.; Vásquez-Chasnamote, M.-E.; de-Miguel-Balsa, E.; Gamboa-Paredes, O.-N.; Talledo-Albujar, M.-J.; López-Campana, G.; Celis-Salinas, J.C.; Prieto-Pérez, L.; Górgolas-Hernández, M.; et al. Screening for Human T-Cell Lymphotropic Virus (HTLV) in Pregnant Women in the Peruvian Amazon and Systematic Review with Meta-Analysis of HTLV Infection in Peru. *Pathogens* **2021**, *10*, 260. [[CrossRef](#)]
19. Gotuzzo, E.; Terashima, A.; Alvarez, H.; Tello, R.; Infante, R.; Watts, D.M.; Freedman, D.O. Strongyloides Stercoralis Hyperinfection Associated with Human T Cell Lymphotropic Virus Type-1 Infection in Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1999**, *60*, 146–149. [[CrossRef](#)]
20. Ye, L.; Taylor, G.P.; Rosadas, C. Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 and Strongyloides Stercoralis Co-Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Med.* **2022**, *9*, 832430. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Quiros-Roldan, E.; Moretti, F.; Torti, C.; Casari, S.; Castelli, F.; Beltrame, A.; Carosi, G. HIV/HTLV Co-Infection: Frequency and Epidemiological Characteristics among Patients Admitted to an Italian Hospital. *Infection* **2003**, *31*, 172–173. [[CrossRef](#)]
22. Pereira, F.M.; Santos, F.L.N.; Silva, Â.A.O.; Nascimento, N.M.; da Conceição Chagas Almeida, M.; Carreiro, R.P.; Galvão-Castro, B.; Rios Grassi, M.F. Distribution of Human Immunodeficiency Virus and Human T-Leukemia Virus Co-Infection in Bahia, Brazil. *Front. Med.* **2021**, *8*, 788176. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. La Rosa, A.M.; Zunt, J.R.; Peinado, J.; Lama, J.R.; Ton, T.G.N.; Suarez, L.; Pun, M.; Cabezas, C.; Sanchez, J. Retroviral Infection in Peruvian Men Who Have Sex with Men. *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *49*, 112–117. [[CrossRef](#)]
24. Blas, M.M.; Alva, I.E.; García, P.J.; Cárcamo, C.; Montano, S.M.; Mori, N.; Muñante, R.; Zunt, J.R. High Prevalence of Human T-Lymphotropic Virus Infection in Indigenous Women from the Peruvian Amazon. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e73978. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Medeot, S.; Nates, S.; Recalde, A.; Gallego, S.; Maturano, E.; Giordano, M.; Serra, H.; Reategui, J.; Cabezas, C. Prevalence of Antibody to Human T Cell Lymphotropic Virus Types 1/2 among Aboriginal Groups Inhabiting Northern Argentina and the Amazon Region of Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1999**, *60*, 623–629. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Maloney, E.M.; Biggar, R.J.; Neel, J.V.; Taylor, M.E.; Hahn, B.H.; Shaw, G.M.; Blattner, W.A. Endemic Human T Cell Lymphotropic Virus Type II Infection among Isolated Brazilian Amerindians. *J. Infect. Dis.* **1992**, *166*, 100–107. [[CrossRef](#)]
27. Fani, M.; Rezayi, M.; Meshkat, Z.; Rezaee, S.A.; Makvandi, M.; Abouzari-Lotf, E.; Ferns, G.A. Current Approaches for Detection of Human T-Lymphotropic Virus Type 1: A Systematic Review. *J. Cell Physiol.* **2019**, *234*, 12433–12441. [[CrossRef](#)]
28. Campos, K.R.; Gonçalves, M.G.; Caterino-de-Araujo, A. Short Communication: Failures in Detecting HTLV-1 and HTLV-2 in Patients Infected with HIV-1. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **2017**, *33*, 382–385. [[CrossRef](#)]
29. Hall, W.W.; Ishak, R.; Zhu, S.W.; Novoa, P.; Eiraku, N.; Takahashi, H.; da Costa Ferreira, M.; Azevedo, V.; Ishak, M.O.; da Costa Ferreira, O.; et al. Human T Lymphotropic Virus Type II (HTLV-II): Epidemiology, Molecular Properties, and Clinical Features of Infection. *JAIDS J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **1996**, *13* (Suppl. S1), S204–S214. [[CrossRef](#)]
30. Sanchez-Palacios, C. Seroprevalence and Risk Factors for Human T-Cell Lymphotropic Virus (HTLV-I) Infection among Ethnically and Geographically Diverse Peruvian Women. *Int. J. Infect. Dis.* **2003**, *7*, 132–137. [[CrossRef](#)]
31. Miranda, C.; Utsch-Gonçalves, D.; Piassi, F.C.C.; Loureiro, P.; Gomes, I.; Ribeiro, M.A.; de Almeida-Neto, C.; Blatyta, P.; Amorim, L.; Garcia Mateos, S.O.; et al. Prevalence and Risk Factors for Human T-Cell Lymphotropic Virus (HTLV) in Blood Donors in Brazil—A 10-Year Study (2007–2016). *Front. Med.* **2022**, *9*, 844265. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

32. Valcarcel, B.; Enriquez-Vera, D.; De-la-Cruz-Ku, G.; Chambergó-Michilot, D.; Calderón-Huaycochea, H.; Malpica, L. Epidemiological Features and Outcomes of HTLV-1 Carriers Diagnosed With Cancer: A Retrospective Cohort Study in an Endemic Country. *JCO Glob. Oncol.* **2023**, *9*, e2200369. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Cholette, F.; Périnet, S.; Neufeld, B.; Bryson, M.; Macri, J.; Sibley, K.M.; Kim, J.; Driedger, S.M.; Becker, M.L.; Sandstrom, P.; et al. Validity of Dried Blood Spot Testing for Sexually Transmitted and Blood-Borne Infections: A Narrative Systematic Review. *PLoS Glob. Public Health* **2024**, *4*, e0003320. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

5

DISCUSIÓN

La discusión individual de cada publicación se presenta en los artículos originales incluidos en el apartado de resultados. Por ello, en este capítulo se llevará a cabo una discusión global integrando los artículos con las hipótesis y los objetivos planteados.

5.1. Discusión global

Las enfermedades tropicales desatendidas se caracterizan por su alta prevalencia en regiones cálidas, como la Amazonia peruana, y en personas con condiciones socioeconómicas de pobreza o vulnerabilidad. Provocan una carga elevada de enfermedad, evitable si se implantan los tratamientos y/o medidas de prevención disponibles. Además, afectan en gran medida a población activa, provocando incapacidad e impactando a nivel económico en la familia y el departamento.

La presente investigación se centró en evaluar la prevalencia de la infección por *Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales, *Trypanosoma cruzi* y HTLV en PVV en la Amazonia peruana, específicamente en Iquitos, con el objetivo de determinar su relevancia como problema de salud pública, dada la baja evidencia científica al respecto en la región, y compararlo con los datos de la literatura publicados en personas sin infección por VIH. Los hallazgos obtenidos permiten confirmar parcialmente nuestra hipótesis inicial de que esta población podría sufrir una mayor tasa de infección que la población general.

Strongyloides stercoralis es altamente prevalente en PVV de la región, constituyendo un desafío crítico de salud pública. Los datos de la literatura hablan de una seroprevalencia media del 6-7% en el Perú [53,55], mayores en la Amazonía, donde suele situarse entre el 20-30% [39,59,62,65], inferiores a nuestros resultados. En Iquitos se ha reportado una presencia del parásito en heces del 10-15% en la mayoría de los estudios [62-64], también inferior a la presencia obtenida en nuestro análisis.

La combinación de métodos serológicos y parasitológicos permitió identificar de forma más eficaz las infecciones activas y las pasadas. El valor predictivo negativo del ELISA para *S. stercoralis* fue similar a un estudio en población general de la Amazonía [39], a pesar de que al menos el 14% de nuestra cohorte estaba severamente inmunodeprimido, y superior a otro reciente realizado en embarazadas [59]. Además, no se observaron reacciones cruzadas significativas

con otros parásitos en las pruebas serológicas para *Strongyloides stercoralis*, descritas en la literatura [79], lo que podría explicarse por una predominancia de este geohelminto en la población estudiada. La confirmación de una relación estrecha entre esta helmintiasis y la infección por uncinarias podría facilitar el diagnóstico de la primera, y mejorar las intervenciones antiparasitarias dirigidas, tal y como se ha hipotetizado en otros estudios publicados [39,42,45].

De manera complementaria, la infección por protozoos intestinales se presentó en más de la mitad de los pacientes del estudio, con amplia presencia de microorganismos comensales, que indican una exposición feco-oral frecuente, relacionada con condiciones de saneamiento limitado y prácticas de higiene inadecuadas. Destaca la alta frecuencia de *Cryptosporidium spp.*, también descrita como una de las especies más prevalentes en series de pacientes en Lima, aunque con prevalencias menores al 20% [134–136], y de solo el 2% en una cohorte de la Amazonia [247]. En cuanto a *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.*, la prevalencia de ambas ha sido baja, a pesar de que en algunos estudios previos *Giardia duodenalis* era aislada con frecuencia [148]. Una posible explicación es que otros microorganismos oportunistas, como *Cryptosporidium*, podrían competir con *Giardia* y desplazarla, especialmente en personas con inmunosupresión [248]. Además, los ooquistes de *Cryptosporidium* son más resistentes a la limpieza convencional y se adquieren más fácilmente en lugares recreativos como piscinas y ríos, comunes en Iquitos [249]. Por último, los niños, no incluidos en nuestro estudio, parecen más susceptibles a la infección por *Giardia duodenalis* [148,250]. *Entamoeba histolytica* es habitualmente menos frecuente que *Giardia duodenalis*, aunque su prevalencia puede sobreestimarse por la dificultad de diferenciarla de la no patógena *Entamoeba dispar*. En Iquitos, estudios en personas sin VIH reportan prevalencias entre el 5-13%.

La elevada concordancia entre métodos diagnósticos para *Giardia* y *Entamoeba* confirma la validez de las técnicas utilizadas, mientras que la discordancia observada entre técnicas para *Cryptosporidium spp.* precisaría de nuevos estudios confirmatorios con técnicas moleculares para llegar a una conclusión definitiva, ya que la predominancia de *Cryptosporidium hominis* versus *parvum* en el Perú podría ser una causa de falsos negativos del test [251]. De hecho, una validación externa del CerTest Crypto Card en África Subsahariana mostró una baja sensibilidad (49,6%) y valor predictivo positivo (61,3%) frente a PCR, a pesar de una especificidad >92%. Por otro lado, la tinción ZNM, a pesar de haber sido revisada por dos microbiólogos, podría haber dado lugar a falsos positivos debido a la tinción de otras estructuras como hongos o esporas [143].

La prevalencia de HTLV también fue mayor en PVV que lo registrado en la población sin VIH en la Amazonia peruana [226]. Al realizar la tipificación, se comprobó que la mayoría de los pacientes estaban infectados por HTLV-2, concordante con el hecho de que su adquisición se asocia a prácticas que también favorecen el contagio del VIH, como las relaciones sexuales sin protección. Este mecanismo de transmisión es asimismo coherente con una mayor edad de aquellos pacientes infectados, por exposición prolongada y acumulativa al factor de riesgo [233]. En la zona fronteriza entre Brasil y Perú ya se había descrito una circulación endémica de este virus, sobre todo en tribus nativas. No obstante, la prevalencia de HTLV-2 no solía ser mayor a la de HTLV-1, algo que sí sucede en nuestro estudio [217,220].

Como excepción a lo previo, y aunque *Trypanosoma cruzi* ha sido mencionado en reportes de casos agudos en la Amazonia peruana [188,189], no se han encontrado casos de enfermedad de Chagas en pacientes con VIH en Iquitos. Las publicaciones previas también hablan de prevalencias bajas, entre 0% y 1.2% [60,185]. Aunque actualmente no parece ser una infección relevante en nuestra población, la zona es considerada endémica para el vector y el parásito [183,184], por lo que se debería seguir realizando una vigilancia epidemiológica activa para detectar posibles repuntes de la enfermedad.

Los factores de riesgo identificados reflejan un patrón claro: vulnerabilidad estructural que favorece la exposición ambiental a parásitos: vivir en zona rural o en casa de material pobre, estar coinfectado con otros parásitos o tener un nivel educativo bajo, que puede llevar al desconocimiento de ciertas exposiciones de riesgo (por ejemplo, a nivel sexual). Esto anima a incidir en medidas de educación en salud pública y prevención de infecciones, a fin de mejorar el saneamiento público, la calidad del agua y los alimentos, además de las condiciones de habitabilidad en ciertos barrios y asentamientos humanos de la ciudad. Aunque se analizó, el estadio clínico de la infección por VIH no se presentó como un factor de riesgo independiente, no obstante, y como se comentará en el apartado de limitaciones, la ausencia de estos datos en gran parte de los pacientes por el elevado coste de su análisis hace que no se puedan extraer conclusiones válidas al respecto.

De este modo, nuestros hallazgos confirman en gran medida la hipótesis inicial, al demostrar que la interacción entre los factores ambientales propios de la Amazonia y determinados factores sociales de la salud que afectan de forma más importante a pacientes con VIH, favorecen que este grupo tenga una mayor prevalencia de infecciones desatendidas en comparación con la población

general. Por tanto, es necesario intensificar el cribado de *Strongyloides stercoralis*, protozoos intestinales y HTLV en PVV, además de instaurar tratamiento cuando esté indicado.

5.2. Fortalezas del estudio

Este trabajo constituye una de las primeras evaluaciones epidemiológicas exhaustivas de la prevalencia y los factores de riesgo de cuatro infecciones desatendidas en personas que viven con el VIH en una zona endémica, aportando información relevante sobre la transmisibilidad y contribuyendo a la mejora en los protocolos de atención al PVV y a la implantación de medidas de salud pública y prevención en Iquitos.

En el ámbito diagnóstico, se empleó un enfoque metodológico amplio y adaptado al contexto local, combinando diversas técnicas para maximizar la sensibilidad y especificidad. En el caso de *S. stercoralis*, la integración de métodos parasitológicos en heces con pruebas serológicas permitió identificar tanto infecciones activas como pasadas y descartar la infección de manera fiable. Para los protozoos intestinales se añadió, además del diagnóstico convencional, el uso de una prueba inmunocromatográfica y de una tinción específica para *Cryptosporidium spp.*, incrementando la capacidad de detección de esta especie. Asimismo, las serologías para *Trypanosoma cruzi* y HTLV fueron confirmadas mediante pruebas adicionales, y se realizó la tipificación de HTLV con el fin de identificar el genotipo predominante en la región, dado que cada uno presenta implicaciones clínicas diferenciadas.

El empleo de técnicas diagnósticas económicas y accesibles, junto con una rigurosa capacitación del personal de laboratorio en el procesamiento de muestras y en la microscopía, representa un valor añadido de este trabajo. Pretendemos que esto sea un impulso potencial para la incorporación de estos métodos diagnósticos en la rutina asistencial de los hospitales de la ciudad, especialmente en el cribado de las poblaciones vulnerables.

La inclusión de participantes procedentes de los dos principales centros de atención a personas con VIH en la ciudad durante un periodo superior a seis meses —el intervalo habitual entre consultas de seguimiento con TARV—, permitió reclutar aproximadamente al 50% de los pacientes en seguimiento

activo, lo que contribuye a la representatividad de la muestra y la solidez de los resultados.

Además, la búsqueda exhaustiva de las heces, con una transportista local contratada exclusivamente para este fin, que conocía, contactaba y localizaba a cada uno de los pacientes que no habían entregado todavía la muestra de heces, organizando la recogida para llegar a las zonas más lejanas con el mínimo retraso posible, hizo que se pudiera recoger la mayor cantidad de muestras posibles con los recursos disponibles.

Dado que la mayoría de estas técnicas microbiológicas empleadas no se utilizan en Iquitos de manera rutinaria, de este estudio se deriva un beneficio adicional, dado que cada paciente positivo fue notificado y tratado siguiendo los protocolos del Ministerio de Salud del Perú.

En conjunto, la amplitud metodológica, la calidad técnica del trabajo de campo en una zona con bajos recursos técnicos y humanos y la inclusión de una cohorte amplia y representativa de pacientes refuerzan la validez interna y externa de los resultados obtenidos con nuestra investigación.

5.3. Limitaciones del estudio

Esta tesis presenta diversas limitaciones que deben considerarse al interpretar sus resultados. En primer lugar, existen restricciones metodológicas relacionadas con los procedimientos diagnósticos empleados, debido a las limitaciones estructurales y de personal de laboratorio. Solo se analizó una muestra fecal por participante, lo que pudo haber infraestimado la prevalencia real de parasitosis intestinales, especialmente en el caso de *Strongyloides stercoralis*, donde la sensibilidad diagnóstica aumenta con el análisis de múltiples muestras. Asimismo, la ausencia de técnicas de concentración de heces ha podido limitar la capacidad de detección de infecciones de baja intensidad. A pesar de estas limitaciones, se recurrió al uso de técnicas parasitológicas y serológicas complementarias y a personal capacitado en microscopía con el fin de mitigar estos déficits. Hay que destacar la ausencia de métodos moleculares en nuestro algoritmo diagnóstico debido a la escasa capacitación del personal local, que habrían incrementado la sensibilidad y especificidad de los resultados, permitiendo diferenciar especies como *Entamoeba histolytica* y *dispar* o detectar parasitemia en enfermedad de Chagas, entre otras. También se debe señalar

la presencia de posibles sesgos de clasificación debidos a discrepancias entre técnicas diagnósticas, como la observada entre ZNM e ICT en el estudio de protozoos, así como limitaciones derivadas del uso de gotas de suero secas para la confirmación serológica de HTLV, un método no validado formalmente por el fabricante y cuya sensibilidad podría verse reducida en muestras con títulos bajos. Sin embargo, estudios previos que emplean matrices de muestras secas para la serología de HTLV han demostrado una alta especificidad y una sensibilidad variable ($\approx 81\text{--}100\%$), lo que respalda su viabilidad en entornos de campo.

En segundo lugar, debido al coste de la realización y logística (necesidad de envío a Lima) de ciertas pruebas específicas para el VIH, hubo gran cantidad de datos faltantes en relación con el recuento de CD4 y la carga viral de VIH. Esta ausencia de información reduce la potencia estadística de los análisis multivariados, limitando la evaluación de la asociación entre el estado inmunoviroológico y la susceptibilidad a las infecciones estudiadas. No obstante, se obtuvieron resultados similares al excluir esta variable del modelo multivariable, lo que sugiere que las asociaciones principales son sólidas pese al conjunto reducido de datos. Además, la falta de un grupo comparativo seronegativo para VIH limita asimismo la interpretación epidemiológica en términos de exceso de riesgo atribuible.

En tercer lugar, nuestra cohorte incluyó principalmente a personas con VIH activamente vinculadas al sistema de salud, lo que podría infrarrepresentar a quienes no acceden al cuidado médico y que, potencialmente, presentan un mayor riesgo de infección, contribuyendo a un posible sesgo de selección. Además, los pacientes incluidos fueron pacientes ambulatorios, lo que excluye a aquellos con manifestaciones graves por las infecciones a estudio.

En cuarto lugar, algunos estudios adolecieron de tamaños muestrales insuficientes, particularmente en el caso de la enfermedad de Chagas, donde la baja prevalencia esperada podría requerir de muestras más amplias para generar estimaciones precisas. No se obtuvo muestra de heces en 175 de los pacientes incluidos, debido a la dificultad para el contacto con ellos (cambio frecuente de número de móvil, ausencia de vivienda estable, miedo al estigma, mudanzas fuera de la ciudad, domicilio en comunidades rurales del Amazonas, a varias horas de camino en barca o fallecimiento).

Finalmente, el diseño transversal común a los estudios impide establecer relaciones causales y evaluar la evolución longitudinal de coinfecciones como

HTLV y VIH o la progresión clínica asociada a las parasitosis intestinales. Esta ausencia de seguimiento impide, asimismo, evaluar la rentabilidad de las técnicas serológicas para la confirmación de cura de la enfermedad. A nivel de la recogida de variables, algunos factores de riesgo relevantes para la adquisición de geohelminos y protozoos intestinales no fueron incluidos en la entrevista (fuente de recogida de agua, baños en el río, consumo de productos procedentes de mercados o presencia de alcantarillado cerca de la vivienda). También existe la posibilidad de sesgos de recuerdo e información en las variables autorreportadas, como los antecedentes de diarrea o las exposiciones ambientales.

En conjunto, estas limitaciones reflejan los desafíos inherentes a la investigación en entornos de recursos limitados, pero no invalidan los hallazgos; por el contrario, subrayan la necesidad de estudios futuros de mayor envergadura, con metodologías más sensibles, mayor representatividad poblacional y diseño longitudinal, que permitan profundizar en los determinantes y consecuencias clínicas de las infecciones desatendidas en personas que viven con VIH en la Amazonia. Futuras investigaciones deberían incorporar PCR y técnicas de genotipificación para identificar de manera precisa las especies y genotipos de protozoos, lo que permitiría estimaciones más exactas y una mejor comprensión de los patrones epidemiológicos. Además, se debería explorar la relación coste-efectividad del cribado rutinario de parasitosis en los programas de VIH, su integración con la infraestructura de laboratorio existente y el desarrollo de algoritmos clínicos dirigidos a pacientes inmunocomprometidos.



Figura 5.1: Búsqueda exhaustiva de muestras de heces en los distintos distritos y asentamientos humanos de Iquitos. Fuente: propia

6

**IMPLICACIONES EN SALUD
PÚBLICA Y PERSPECTIVAS
FUTURAS**

Los resultados de esta tesis ponen de manifiesto que las infecciones endémicas desatendidas continúan representando un desafío sanitario relevante en la Amazonia peruana.

Implicaciones diagnósticas

La elevada prevalencia de *Strongyloides stercoralis* y protozoos intestinales, así como la tasa no despreciable de HTLV—especialmente HTLV-2— subraya la necesidad de incorporar de forma sistemática estas tres infecciones a los cribados sistemáticos de la población con VIH. Para *S. stercoralis*, sería útil el cribado con serología ELISA y al menos una de las dos pruebas de rescate de larvas en heces. Para *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.* se podría implantar un test rápido de antígenos, según los recursos disponibles, pero *Cryptosporidium spp.* necesitaría la inclusión de tinción ZNM tras una evaluación previa de correlación de los resultados de ésta con la PCR. A este nivel destaca la importancia del entrenamiento de técnicos y microbiólogos para la visualización de larvas/huevos de geohelminos y quistes/trofozoítos de protozoos en las heces, en caso de no contar con técnicas automatizadas.

Aunque no se identificaron casos de enfermedad de Chagas, resulta aconsejable mantener la vigilancia epidemiológica de la infección en esta región, dado el riesgo potencial de incremento de casos debido a la presencia del vector y de tripanosoma en la región y el riesgo de reactivación grave de la infección latente en casos de inmunosupresión celular.

Implicaciones terapéuticas

La elevada carga de *S. stercoralis* y la identificación de factores de riesgo relacionados con la infección hacen necesaria la implantación de tratamiento dirigido en caso de no poder garantizar un cribado efectivo, a fin de intentar frenar la transmisión. Dada la buena tolerancia, disponibilidad y bajo coste, se sugiere el tratamiento con ivermectina en aquellos pacientes que vivan en zonas rurales o con condiciones socioeconómicas pobres, añadiendo asimismo este antiparasitario al albendazol en pacientes diagnosticados de infección por uncinarias, más fácil de detectar que *Strongyloides*. Otra opción es el tratamiento “en masa” a toda la cohorte de pacientes con VIH con cierta periodicidad. Para saber qué opción es más coste-efectiva, habría que llevar a cabo nuevos estudios.

Implicaciones en prevención

Por último, es necesario fortalecer las estrategias de prevención para disminuir el contacto de las personas con productos contaminados. Esto incluiría el saneamiento y la pavimentación de las calles, la mejora de los materiales de las viviendas en los barrios desfavorecidos, el control de la calidad de los productos en venta en los mercados públicos, asegurando la cadena de frío en las carnes y pescados, y la vigilancia de las condiciones químico-biológicas de las fuentes de agua.

Por otro lado, la educación a la ciudadanía sobre prácticas sexuales seguras podría ayudar a disminuir aquellos protozoos relacionados con prácticas homosexuales y a prevenir la transmisión de HTLV-2.



Figura 6.1: Mercados populares en el distrito de Belén. Casa de madera y hojas (abajo a la izquierda). Fuente: propia

Futuras líneas de investigación

Hay múltiples líneas de investigación abiertas para proseguir el estudio de estas infecciones en el futuro. Algunas de las más relevantes se plasman a continuación:

- Estudios longitudinales que permitan evaluar la evolución clínica de las coinfecciones, su impacto en el control virológico del VIH y en la respuesta inmunológica y la utilidad de los test para definir “curación”.
- Investigaciones operativas orientadas a valorar la costo-efectividad de estrategias de cribado/tratamiento mencionadas para *S. stercoralis*, protozoos intestinales y HTLV en PVV.
- Estudios que incorporen métodos moleculares para mejorar la precisión diagnóstica y comprender la dinámica de transmisión de los patógenos estudiados, ayudando a validar test *point of care* accesibles para la población rural, especialmente para *S. stercoralis* y *Cryptosporidium spp.*
- Evaluaciones de intervención de salud pública, como mejoras en saneamiento, acceso a agua segura, educación sanitaria y programas de adherencia al tratamiento antiparasitario, en la adquisición de infecciones.

En suma, este estudio aporta evidencia sobre las infecciones desatendidas en PVV en la Amazonía peruana, identifica brechas en su prevención y diagnóstico, y sienta las bases para futuras intervenciones de salud pública que podrían mejorar la calidad de vida y reducir la carga de enfermedad en esta población vulnerable.

7

CONCLUSIONES

Conclusiones

1. En pacientes que viven con el VIH de la Amazonia peruana, la seroprevalencia de *S. stercoralis* fue del 42.5 % y la prevalencia de larvas en heces del 24.2 %. Los principales factores de riesgo para su adquisición fueron vivir en un área rural/sin pavimentar, en una casa de material pobre (madera u hojas), pertenecer al área del Hospital Regional de Loreto, estar infectado por uncinarias y tener un nivel bajo de estudios (analfabetismo o estudios primarios).
2. La correlación entre la técnica de Baermann y el cultivo de carbón fue buena, y la técnica ELISA mostró una sensibilidad del 92.6 % y un valor predictivo negativo del 96.9 %.
3. En pacientes que viven con el VIH en la Amazonia peruana, la infección por *Cryptosporidium spp.* fue del 25.7 %, de *Giardia spp.* del 2.9 % y de *Entamoeba spp.* del 1.9 %. Las prácticas sexuales de riesgo entre hombres constituyeron el único factor de riesgo significativamente asociado a la adquisición de alguno de estos protozoos.
4. La correlación entre el test parasitológico y el inmunocromatográfico para *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.* fue casi perfecta, pero solo ligera para *Cryptosporidium spp.*
5. No se encontraron casos de enfermedad de Chagas en pacientes que viven con el VIH en la Amazonia peruana.
6. La seroprevalencia de HTLV fue del 4.8 % en pacientes que viven con el VIH en la Amazonia peruana (0.3 % HTLV-1, 3.8 % HTLV-2 y 0.7 % indeterminado). La edad mayor de 50 años se asoció con un mayor riesgo de adquisición de la infección.

Conclusions

1. In people living with HIV from the Peruvian Amazon, the seroprevalence of *S. stercoralis* was 42.5 % and the prevalence of larvae in stool samples was 24.2 %. The main risk factors for infection were living in a rural/unpaved area, living in a house built with poor-quality materials (wood or leaves), belonging to the jurisdiction of the Regional Hospital of Loreto, being infected with hookworms, and having a low level of education (illiteracy or primary education).
2. The correlation between the Baermann technique and the charcoal culture was good, and the ELISA technique showed a sensitivity of 92.6 % and a negative predictive value of 96.9 %.
3. In people living with HIV from the Peruvian Amazon, infection by *Cryptosporidium spp.* was 25.7 %, by *Giardia spp.* 2.9 %, and by *Entamoeba spp.* 1.9 %. Sexual practices between men were the only risk factor significantly associated with acquiring any of these protozoa.
4. The correlation between the parasitological test and the immunochromatographic test for *Giardia spp.* and *Entamoeba spp.* was almost perfect, but only slight for *Cryptosporidium spp.*
5. No cases of Chagas disease were found among people living with HIV from the Peruvian Amazon.
6. The seroprevalence of HTLV was 4.8 % among people living with HIV in the Peruvian Amazon (0.3 % HTLV-1, 3.8 % HTLV-2, and 0.7 % indeterminate). Being over 50 years old was significantly associated with an increased risk of infection.

8

BIBLIOGRAFÍA

- [1] World Population Review. Iquitos, Peru Population. 2025. Disponible en: <http://worldpopulationreview.com/cities/peru/iquitos>
- [2] Flores H, León F, García V, et al. Evaluación físico, químico y microbiológico de las aguas del río Nanay a orillas de la comunidad de Nina Rumi. *Sciéndo Ingenium*. 2019;15:113–122
- [3] UNAIDS. Fact sheet – Latest global and regional statistics on the status of the AIDS epidemic. 2025. Disponible en: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
- [4] UNAIDS. Latin America — 2024 Global AIDS update: The Urgency of Now: AIDS at a Crossroads. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. 2024. Disponible en: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2024/2024-unaidsglobalaidsupdatelatinamerica>
- [5] Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. Situación epidemiológica del VIH. Sida en el Perú. *Boletín VIH, II Trimestre*. 2024. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/vih-sida/vih-sida_20246_16_153419.pdf
- [6] UNAIDS. Peru – UNAIDS country fact sheet. 2025. Disponible en: <https://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/peru>
- [7] Tattsbridge J, Wisikin C, de Wildt G, et al. HIV understanding, experiences and perceptions of HIV-positive men who have sex with men in Amazonian Peru: a qualitative study. *BMC Public Health*. 2020;20:728. doi:10.1186/s12889-020-08745-y
- [8] Zavaleta C, Fernández C, Konda K, et al. Short report: high prevalence of HIV and syphilis in a remote native community of the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76:703–705
- [9] Ministerio de Salud del Perú. Norma técnica de salud de atención integral del adulto con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). 2018. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/nts/nts_097-2018_v03.pdf
- [10] World Health Organization. Water, sanitation and hygiene for accelerating and sustaining progress on neglected tropical diseases. Geneva: World Health Organization. 2020. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-FWC-WSH-15.12>

- [11] Strunz EC, Addiss DG, Stocks ME, et al. Water, sanitation, hygiene, and soil-transmitted helminth infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2014;11:e1001620. doi:10.1371/journal.pmed.1001620
- [12] Mahajan AP, Sayles JN, Patel VA, et al. Stigma in the HIV/AIDS epidemic: a review of the literature and recommendations for the way forward. *AIDS Lond Engl.* 2008;22 Suppl 2:S67-79. doi:10.1097/01.aids.0000327438.13291.62
- [13] Nahn Junior EP, Oliveira EC de, Barbosa MJ, et al. Protocolo brasileiro para infecciones de transmisión sexual 2020: infecciones entéricas de transmisión sexual. *Epidemiol Serv Saude.* 2021;30. doi:10.1590/s1679-4974202100012.esp1
- [14] Sorvillo F, Mori K, Sewake W, et al. Sexual transmission of *Strongyloides stercoralis* among homosexual men. *Sex Transm Infect.* 1983;59:342. doi:10.1136/sti.59.5.342
- [15] Keiser PB, Nutman TB. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17
- [16] Fauci AS, Pantaleo G, Stanley S, et al. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. *Ann Intern Med.* 1996;124:654-663. doi:10.7326/0003-4819-124-7-199604010-00006
- [17] Alcamí J, Coiras M. Inmunopatogenia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:216-226. doi:10.1016/j.eimc.2011.01.006
- [18] Clark EH, Bern C. Chagas disease in people with HIV: a narrative review. *Trop Med Infect Dis.* 2021;6:198. doi:10.3390/tropicalmed6040198
- [19] Moreno Camacho A, López Vélez R, Muñoz Sanz A, et al. Infecciones parasitarias intestinales y leishmaniasis en pacientes con infección por VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1998;16 Suppl 1:52-60
- [20] Bachur TPR, Vale JM, Coêlho ICB, et al. Enteric parasitic infections in HIV/AIDS patients before and after highly active antiretroviral therapy. *Braz J Infect Dis.* 2008;12. doi:10.1590/S1413-86702008000200004
- [21] Miressa R, Dufera M. Prevalence and predisposing factors of intestinal parasitic infections among HIV positive patients visiting Nekemte specialized hospital, Western Ethiopia. *HIV/AIDS. Res Palliat Care.* 2021;13:505-512. doi:10.2147/HIV.S304294

- [22] Feitosa G, Bandeira AC, Sampaio DP, et al. High prevalence of giardiasis and stronglyloidiasis among HIV infected patients in Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2001;5:339–344. doi:10.1590/s1413-86702001000600008
- [23] Montaña Castellón I, Marconi CSC, Saffe C, et al. Clinical and laboratory outcomes in HIV 1 and HTLV 1/2 coinfection: a systematic review. *Front Public Health.* 2022;10:820727. doi:10.3389/fpubh.2022.820727
- [24] Brenchley JM, Price DA, Douek DC, et al. HIV disease: fallout from a mucosal catastrophe? *Nat Immunol.* 2006;7:235–239. doi:10.1038/ni1316
- [25] Walson JL, John Stewart G. Treatment of helminth co-infection in individuals with HIV 1: a systematic review of the literature. *PLoS Negl Trop Dis.* 2007;1:e102. doi:10.1371/journal.pntd.0000102
- [26] Cáceres CF, Mendoza W. The national response to the HIV/AIDS epidemic in Peru: accomplishments and gaps — a review. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51 Suppl 1:S60–66. doi:10.1097/QAI.0b013e3181a66208
- [27] Eyayu T, Kiros T, Workineh L, et al. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated factors among patients attending Sanja Primary Hospital, Northwest Ethiopia: an institutional-based cross-sectional study. *PLoS One.* 2021;16:e0247075. doi:10.1371/journal.pone.0247075
- [28] Mekonnen HS, Ekubagewargies DT. Prevalence and factors associated with intestinal parasites among under-five children attending Woreta Health Center, Northwest Ethiopia. *BMC Infect Dis.* 2019;19:256. doi:10.1186/s12879-019-3884-8
- [29] Jourdan PM, Lamberton PHL, Fenwick A, et al. Soil-transmitted helminth infections. *Lancet.* 2018;391:252–265. doi:10.1016/S0140-6736(17)31930-X
- [30] Montresor A, Mupfasoni D, Mikhailov A, et al. The global progress of soil transmitted helminthiasis control in 2020 and World Health Organization targets for 2030. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14:e0008505. doi:10.1371/journal.pntd.0008505
- [31] Wong LW, Ong KS, Khoo JR, et al. Human intestinal parasitic infection: a narrative review on global prevalence and epidemiological insights on preventive, therapeutic and diagnostic strategies for future perspectives. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020;14:1093–1105. doi:10.1080/17474124.2020.1806711

- [32] Buonfrate D, Bisanzio D, Giorli G, et al. The global prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection. *Pathogens*. 2020;9:468. doi:10.3390/pathogens9060468
- [33] Nutman TB. Human infection with *Strongyloides stercoralis* and other related *Strongyloides* species. *Parasitology*. 2017;144:263–273. doi:10.1017/S0031182016000834
- [34] Zhao H, Gordon C, Bradbury RS, et al. *Strongyloides fuelleborni*. *Trends Parasitol*. 2025. doi:10.1016/j.pt.2025.08.002
- [35] Pullan RL, Smith JL, Jasrasaria R, et al. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasit Vectors*. 2014;7:37. doi:10.1186/1756-3305-7-37
- [36] Dacal E, Saugar JM, De Lucio A, et al. Prevalence and molecular characterization of *Strongyloides stercoralis*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp. and *Blastocystis* spp. isolates in school children in Cubal, Western Angola. *Parasit Vectors*. 2018;11. doi:10.1186/S13071-018-2640-Z
- [37] Khuroo MS. Ascariasis. *Gastroenterol Clin North Am*. 1996;25:553–577. doi:10.1016/S0889-8553(05)70263-6
- [38] Asundi A, Beliavsky A, Liu XJ, et al. Prevalence of strongyloidiasis and schistosomiasis among migrants: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2019;7:e236–e248. doi:10.1016/S2214-109X(18)30490-X
- [39] Bern C, Chavez CB, Leung F, et al. Seroepidemiology of strongyloidiasis in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;74:97–102. doi:10.4269/ajtmh.2006.74.97
- [40] Greaves D, Coggle S, Pollard C, et al. *Strongyloides stercoralis* infection. *BMJ*. 2013;30:f4610. doi:10.1136/bmj.f4610
- [41] Czachor JS, Jonas AP. Transmission of *Strongyloides stercoralis* person to person. *J Travel Med*. 2000;7:211–212. doi:10.2310/7060.2000.00063
- [42] Krolewiecki A, Nutman TB. Strongyloidiasis: a neglected tropical disease. *Infect Dis Clin North Am*. 2019;33:135–151. doi:10.1016/j.idc.2018.10.006
- [43] Hamilton KW, Abt PL, Rosenbach MA, et al. Donor-derived *Strongyloides stercoralis* infections in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2011;91:1019–1024. doi:10.1097/TP.0b013e3182115b7b

- [44] Czeresnia JM, Weiss LM. *Strongyloides stercoralis*. *Lung*. 2022;200:141–148. doi:10.1007/s00408-022-00528-z
- [45] Fleitas PE, Travacio M, Martí Soler H, et al. The *Strongyloides stercoralis*-hookworms association as a path to the estimation of the global burden of strongyloidiasis: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14:e0008184. doi:10.1371/journal.pntd.0008184
- [46] Schär F, Trostorf U, Giardina F, et al. *Strongyloides stercoralis*: global distribution and risk factors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7:e2288. doi:10.1371/journal.pntd.0002288
- [47] Toledo R, Muñoz Antoli C, Esteban J G. Strongyloidiasis with emphasis on human infections and its different clinical forms. In: *Advances in Parasitology*. Elsevier; 2015. p. 165–241. doi:10.1016/bs.apar.2015.02.005
- [48] Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, et al. *Mandell, Douglas Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Elsevier; 2020. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9781455748013/mandell-douglas-and-bennetts-principles-and-practice-of-infectious-diseases>.
- [49] Mokhlesi B, Shulzhenko O, Garimella PS, et al. Pulmonary strongyloidiasis: the varied clinical presentations. *Clin Pulm Med*. 2004;11:6–13. doi:10.1097/01.cpm.0000107609.50629.69
- [50] Mejia R, Nutman TB. Screening, prevention and treatment for hyperinfection syndrome and disseminated infections caused by *Strongyloides stercoralis*. *Curr Opin Infect Dis*. 2012;25:458–463. doi:10.1097/QCO.0b013e3283551dbd
- [51] Suputtamongkol Y, Premasathian N, Bhumimuang K, et al. Efficacy and safety of single and double doses of ivermectin versus 7 day high-dose albendazole for chronic strongyloidiasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5:e1044. doi:10.1371/journal.pntd.0001044
- [52] Marcos LA, Cabrera R, Machicado JD, et al. Distribution of prevalence of *Strongyloides stercoralis* in Peru (1981–2010): an exploratory study. *Rev Peru Parasitol*. 2010;18(2):e39–e40
- [53] Vidal Anzardo M, Moscoso MY, Fabian MB. Parasitosis intestinal: helmintos. Prevalencia y análisis de la tendencia 2010–2017 en Perú. *An Fac med*. 2020;81(1):26–32. Disponible en: <https://doi.org/10.15381/anales.v81i1.17784>

- [54] Buonfrate D, Mena MA, Angheben A, et al. Prevalence of strongyloidiasis in Latin America: a systematic review. *Epidemiol Infect.* 2015;143:452–460. doi:10.1017/S0950268814001563
- [55] Ortiz Martínez S, Ramos Rincón JM, Vásquez Chasnamote, et al. Prevalence of strongyloidiasis in Peru: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2021;21:755. doi:10.1186/s12879-021-06441-9
- [56] Carpio IN, Díaz JR, de Belaunde MT, et al. Presencia de *Strongyloides stercoralis* en un estudio sobre enteroparasitosis en escolares del asentamiento humano “La Candelaria”, distrito de Chancay, provincia de Huaral, Lima, Perú. *Acta Médica Peruana.* 2007;24(3), 177-180
- [57] Garaycochea MC, Beltrán M. Parasitosis intestinales en zonas rurales de cuatro provincias del departamento de Lima. *Bol Inst Nac Salud.* 2018;24(7–8):89–95
- [58] Morales ML, Lopez M, Ly P, Anjum S, et al. *Strongyloides stercoralis* infection at different altitudes of the Cusco region in Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 2019;101:422–427. doi:10.4269/ajtmh.18-0568
- [59] Ortiz Martínez S, Ramos Rincón JM, Vásquez Chasnamote ME, et al. Seroprevalence of strongyloidiasis in pregnant women (Peruvian Amazon Basin): a cross sectional study. *Pathogens.* 2020;9:348. doi:10.3390/pathogens9050348
- [60] Casapía Morales M, Casanova Rojas WS, Vázquez Ascate J, et al. Seroprevalence of *Strongyloides stercoralis*, human T lymphotropic virus and Chagas disease in the Peruvian Amazon: a cross sectional study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2024;66:e73. doi:10.1590/S1678-9946202466073
- [61] Anselmi M, Guevara A, Vicuña Y, et al. Community epidemiology approach to parasitic infection screening in a remote community in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.* 2019;101:650–653. doi:10.4269/ajtmh.19-0187
- [62] Errea RA, Vasquez Rios G, Calderon ML, et al. Soil-transmitted helminthiasis in children from a rural community participating in a periodic deworming program in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 2019;101:636–640. doi:10.4269/ajtmh.18-1011
- [63] Rodríguez J, Calderón J. Parasitosis intestinal en preescolares de Tarapoto, Perú. *Rev Gastroenterol Peru.* 1991;11:153–160

- [64] Egido JM, De Diego JA, Penin P. Prevalence of enteropathy due to strongyloidiasis in Puerto Maldonado (Peruvian Amazon). *Braz J Infect Dis.* 2001;5:119–123. doi:10.1590/s1413-86702001000300003
- [65] Gallardo MS, Marilha Cornejo R, Rios GV, et al. High prevalence of intestinal parasites among soldiers in Peru: another population at risk. *Peru J Parasitol.* 2015;19(2):e60–e67. doi:10.13140/RG.2.1.4836.0169
- [66] Ahmadpour E, Ghanizadegan MA, Razavi A, et al. Strongyloides stercoralis infection in HIV infected patients and related risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Transbound Emerg Dis.* 2019;66:2233–2243. doi:10.1111/tbed.13310
- [67] Akanksha K, Kumari A, Dutta O, et al. Prevalence of soil-transmitted helminth infections in HIV patients: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2023;13:11055. doi:10.1038/s41598-023-38030-y
- [68] Barcelos NB, Silva LDFE, Dias RFG, et al. Opportunistic and non opportunistic intestinal parasites in HIV/AIDS patients in relation to their clinical and epidemiological status in a specialized medical service in Goiás, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2018;60. doi:10.1590/s1678-9946201860013
- [69] Marcos LA, Terashima A, DuPont HL, et al. Strongyloides hyperinfection syndrome: an emerging global infectious disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102:314–318. doi:10.1016/j.trstmh.2008.01.020
- [70] Khieu V, Schär F, Marti H, et al. Prevalence and risk factors of Strongyloides stercoralis in Takeo Province, Cambodia. *Parasit Vectors.* 2014;7:221. doi:10.1186/1756-3305-7-221
- [71] Schär F, Giardina F, Khieu V, et al. Occurrence of and risk factors for Strongyloides stercoralis infection in South East Asia. *Acta Trop.* 2016;159:227–238. doi:10.1016/j.actatropica.2015.03.008
- [72] Gotuzzo E, Arango C, De Queiroz Campos A, et al. Human T cell lymphotropic virus I in Latin America. *Infect Dis Clin North Am.* 2000;14:211–239. doi:10.1016/S0891-5520(05)70225-7
- [73] Mascarello M, Gobbi F, Angheben A, et al. Prevalence of Strongyloides stercoralis infection among HIV positive immigrants attending two Italian hospitals, 2000–2009. *Ann Trop Med Parasitol.* 2011;105:617–623. doi:10.1179/2047773211Y.0000000006

- [74] Brown M, Cartledge JD, Miller RF. Dissemination of *Strongyloides stercoralis* as an immune restoration phenomenon in an HIV 1-infected man on antiretroviral therapy. *Int J STD AIDS*. 2006;17:560–561. doi:10.1258/095646206778145712
- [75] Chan AHE, Thaenkham U. From past to present: opportunities and trends in the molecular detection and diagnosis of *Strongyloides stercoralis*. *Parasit Vectors*. 2023;16:123. doi:10.1186/s13071-023-05763-8
- [76] Dacal E, Köster PC, Carmena D. Diagnóstico molecular de parasitosis intestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin Engl Ed*. 2020;38 Suppl 1:24–31. doi:10.1016/j.eimc.2020.02.005
- [77] Nielsen PB, Mojon M. Improved diagnosis of *Strongyloides stercoralis* by seven consecutive stool specimens. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg Ser Med Microbiol Infect Dis Virol Parasitol*. 1987;263:616–618. doi:10.1016/S0176-6724(87)80207-9
- [78] Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1040–1047. doi:10.1086/322707
- [79] Luvira V, Siripoon T, Phiboonbanakit D, Somsri K, Watthanakulpanich D, Dekumyoy P, et al. *Strongyloides stercoralis*: a neglected but fatal parasite. *Trop Med Infect Dis*. 2022;7:310. doi:10.3390/tropicalmed7100310
- [80] Arifin N, Hanafiah KM, Ahmad H, et al. Serodiagnosis and early detection of *Strongyloides stercoralis* infection. *J Microbiol Immunol Infect*. 2019;52:371–378. doi:10.1016/j.jmii.2018.10.001
- [81] Weitzel T, Dittrich S, Mockenhaupt FP, et al. Serological diagnosis of strongyloidiasis: evaluation of three commercial assays. *PLoS Negl Trop Dis*. 2024;18:e0012319. doi:10.1371/journal.pntd.0012319
- [82] Buonfrate D, Formenti F, Perandin F, et al. Novel approaches to the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21:543–552. doi:10.1016/j.cmi.2015.04.001
- [83] Gam AA, Neva FA, Krotoski WA, et al. Comparative sensitivity and specificity of ELISA and IHA for serodiagnosis of strongyloidiasis with larval antigens. *Am J Trop Med Hyg*. 1987;37:157–161. doi:10.4269/ajtmh.1987.37.157

- [84] Land KJ, Boeras DI, Chen X S, et al. REASSURED diagnostics to inform disease control strategies, strengthen health systems and improve patient outcomes. *Nat Microbiol.* 2018;4:46–54. doi:10.1038/s41564-018-0295-3
- [85] Sears WJ, Nutman TB. Strongy Detect: preliminary validation of a prototype recombinant Ss NIE/Ss IR based ELISA to detect *Strongyloides stercoralis* infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 2022;16:e0010126. doi:10.1371/journal.pntd.0010126
- [86] Lontuo Fogang R, Nutman TB. Recombinant antigen-based lateral flow tests for detection of *Strongyloides stercoralis* infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 2025;19:e0013018. doi:10.1371/journal.pntd.0013018
- [87] Carnino L, Schwob J M, Nickel B, et al. A practical approach to screening for *Strongyloides stercoralis*. *Trop Med Infect Dis.* 2021;6:203. doi:10.3390/tropicalmed6040203
- [88] Noordin R, Osman E, Kalantari N, et al. A point-of-care cassette test for detection of *Strongyloides stercoralis*. *Acta Trop.* 2022;226:106251. doi:10.1016/j.actatropica.2021.106251
- [89] Mwebaza S, Senyonga B, Atuhairwe C, et al. Prevalence and associated factors of intestinal parasitic infections among HIV clients attending Masaka Regional Referral Hospital, Uganda. *Pan Afr Med J.* 2022;43. doi:10.11604/pamj.2022.43.122.15957
- [90] Swan C, Phan T, McKew G. Clinical performance of real time polymerase chain reaction for *Strongyloides stercoralis* compared with serology in a nonendemic setting. *Am J Trop Med Hyg.* 2022;107:355–358. doi:10.4269/ajtmh.21-1289
- [91] Wammes LJ, van Asten SAV, van Lieshout L, et al. Real time PCR for diagnosing and monitoring treatment effect of *Strongyloides stercoralis* infection in a non endemic setting. *Front Parasitol.* 2023;2. doi:10.3389/fpara.2023.1277372
- [92] de Paula FM, Malta FM, Marques PD, et al. Molecular diagnosis of strongyloidiasis in tropical areas: comparison of conventional and real-time PCR with parasitological methods. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110:272–274. doi:10.1590/0074-02760140371
- [93] Zautner AE, Frickmann H, Hahn A, et al. Evaluation of three *Entamoeba histolytica* –and *Strongyloides stercoralis*– specific real-time PCR assays applying

test comparisons without reference standards. *Microorganisms*. 2025;13:1976. doi:10.3390/microorganisms13091976

[94] de Paula FM, Malta FM, Corral MA, et al. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection in immunocompromised patients by serological and molecular methods. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2016;58:63. doi:10.1590/S1678-9946201658063

[95] Polpitiya K, Hewadikaram M. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a promising tool for rapid, point-of-care diagnosis of parasitic diseases in low-income countries. *Mol Biochem Parasitol*. 2025;264:111704. doi:10.1016/j.molbiopara.2025.111704

[96] Blatt JM, Cantos GA. Evaluation of techniques for diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in HIV positive and HIV negative individuals in Itajaí, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2003;7. doi:10.1590/S1413-86702003000600008

[97] Hailegebriel T, Petros B, Endeshaw T. Evaluation of parasitological methods for detection of *Strongyloides stercoralis* among individuals in selected health institutions in Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiop J Health Sci*. 2017;27:515. doi:10.4314/ejhs.v27i5.10

[98] Campo Polanco L, Gutiérrez LA, Cardona Arias J. Infección por *Strongyloides stercoralis*: metanálisis sobre evaluación de métodos diagnósticos convencionales (1980–2013). *Rev Esp Salud Publica*. 2014;88:581–600. doi:10.4321/S1135-57272014000500004

[99] Tamarozzi F, Guevara ÁG, Anselmi M, et al. Accuracy, acceptability and feasibility of diagnostic tests for screening of *Strongyloides stercoralis* in the field (ESTRELLA): a cross-sectional study in Ecuador. *Lancet Glob Health*. 2023;11:e740–e748. doi:10.1016/S2214-109X(23)00108-0

[100] Buonfrate D, Requena Mendez A, Angheben A, et al. Accuracy of molecular biology techniques for diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection—a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12:e0006229. doi:10.1371/journal.pntd.0006229

[101] Bethony J, Brooker S, Albonico M, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet Lond Engl*. 2006;367:1521–1532. doi:10.1016/S0140-6736(06)68653-4

- [102] Cook GC. *Enterobius vermicularis* infection. *Gut*. 1994;35:1159–1162. doi:10.1136/gut.35.9.1159
- [103] Stephenson LS, Latham MC, Ottesen EA. Malnutrition and parasitic helminth infections. *Parasitology*. 2000;121 Suppl:S23–38. doi:10.1017/s0031182000006491
- [104] Briones-Chávez C, Torres-Zevallos H, Canales M, et al. Differences in prevalence of geohelminth infections between indigenous and settler populations in a remote Amazonian region of Peru. *Trop Med Int Health*. 2013;18:615–618. doi:10.1111/tmi.12077
- [105] Barda B, Cajal P, Villagran E, et al. Mini-FLOTAC, Kato-Katz and McMaster: three methods, one goal; highlights from north Argentina. *Parasit Vectors*. 2014;7:271. doi:10.1186/1756-3305-7-271
- [106] Nikolay B, Brooker SJ, Pullan RL, et al. Sensitivity of diagnostic tests for human soil-transmitted helminth infections: a meta-analysis in the absence of a true gold standard. *Int J Parasitol*. 2014;44:765–774. doi:10.1016/j.ijpara.2014.05.009
- [107] Speich B, Utzinger J, Marti H, et al. Comparison of the Kato-Katz method and ether-concentration technique for the diagnosis of soil-transmitted helminth infections in the framework of a randomised controlled trial. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33:815–822. doi:10.1007/s10096-013-2019-1
- [108] Mejia R, Vicuña Y, Broncano N, et al. A novel, multi-parallel, real-time polymerase chain reaction approach for eight gastrointestinal parasites provides improved diagnostic capabilities to resource-limited at-risk populations. *Am J Trop Med Hyg*. 2013;88:1041–1047. doi:10.4269/ajtmh.12-0726
- [109] Keiser J, Utzinger J. Efficacy of current drugs against soil-transmitted helminth infections: systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2008;299:1937–1948. doi:10.1001/jama.299.16.1937
- [110] Iannacone J, Osorio-Chumpitaz M, Utia-Yataco R, et al. Enteroparasitosis en Perú y su relación con el índice de desarrollo humano. *Rev Médica Inst Mex Seguro Soc*. 2021;59. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/4577/457769670004/html>
- [111] Avilés J, Yombi JC, Erostequi C, et al. Prevalence of Opportunistic and Non-Opportunistic Intestinal Parasites in HIV/AIDS Patients in Cochabamba,

Bolivia. *Curr Res HIVAIDS*. 2020. Disponible en: <https://www.gavinpublishers.com/article/view/prevalence-of-opportunistic-and-non-opportunistic-intestinal-parasites-in-hiv-aids-patients-in-cochabamba-bolivia>

[112] Fletcher SM, Stark D, Harkness J, et al. Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25:420–449. doi:10.1128/CMR.05038-11

[113] Bahmani P, Maleki A, Sadeghi S, et al. Prevalence of Intestinal Protozoa Infections and Associated Risk Factors among Schoolchildren in Sanandaj City, Iran. *Iran J Parasitol*. 2017;12:108–116

[114] Stark D, Fotedar R, van Hal S, et al. Prevalence of enteric protozoa in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men from Sydney, Australia. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76:549–552

[115] Otieno BIA, Matey EJ, Bi X, et al. Intestinal parasitic infections and risk factors for infection in Kenyan children with and without HIV infection. *Parasitol Int*. 2023;94:102717. doi:10.1016/j.parint.2022.102717

[116] Ntonifor NH, Tamufor ASW, Abongwa LE. Prevalence of intestinal parasites and associated risk factors in HIV positive and negative patients in Northwest Region, Cameroon. *Sci Rep*. 2022;12:16747. doi:10.1038/s41598-022-20570-4

[117] Marcos LA, Gotuzzo E. Intestinal protozoan infections in the immunocompromised host. *Curr Opin Infect Dis*. 2013;26:295–301. doi:10.1097/QCO.0b013e3283630be3

[118] Hajare ST, Chekol Y, Chauhan NM. Assessment of prevalence of *Giardia lamblia* infection and its associated factors among government elementary school children from Sidama zone, SNNPR, Ethiopia. *PloS One*. 2022;17:e0264812. doi:10.1371/journal.pone.0264812

[119] Roro GB, Eriso F, Al-Hazimi AM, et al. Prevalence and associated risk factors of *Entamoeba histolytica* infection among school children from three primary schools in Arsi Town, West Zone, Ethiopia. *J Parasit Dis*. 2022;46:776–784. doi:10.1007/s12639-022-01495-1

[120] Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, et al. Blastocystis, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. *Ther Adv Infect Dis*. 2013;1:167–178. doi:10.1177/2049936113504754

- [121] Amaya S AM, Trejos S J, Morales R E, et al. Blastocystis spp.: revisión literaria de un parásito intestinal altamente prevalente. *Rev Univ Ind Santander Salud*. 2015;47:199–208
- [122] Organisation mondiale de la santé. Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites. 2nd ed. Genève: World Health Organization; 2019. Disponible en: <https://iris.who.int/items/5a1640e9-237c-4bff-bd1a-63712e89a48b>
- [123] CerTest Biotec S.L., et al. Crypto + Giardia + Entamoeba rapid test: one step combo card test – specifications. San Mateo de Gállego (Spain): CerTest Biotec. 2025. Disponible en: <https://www.certest.es/products/crypto-giardia-entamoeba-3/>
- [124] Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ, et al. Evaluation of three commercial assays for detection of Giardia and Cryptosporidium organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol*. 2003;41:623–626. doi:10.1128/JCM.41.2.623-626.2003
- [125] Rojo-Marcos G, Cuadros-González J. Malaria y protozoos intestinales. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2016;34:191–204. doi:10.1016/j.eimc.2015.12.009
- [126] Xiao L, Feng Y. Molecular epidemiologic tools for waterborne pathogens *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. *Food Waterborne Parasitol*. 2017;8–9:14–32. doi:10.1016/j.fawpar.2017.09.002
- [127] Verweij JJ, Stensvold CR. Molecular Testing for Clinical Diagnosis and Epidemiological Investigations of Intestinal Parasitic Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:371–418. doi:10.1128/CMR.00122-13
- [128] Ryan U, Fayer R, Xiao L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology*. 2014;141:1667–1685. doi:10.1017/S0031182014001085
- [129] Chalmers RM, Davies AP. Minireview: clinical cryptosporidiosis. *Exp Parasitol*. 2010;124:138–146. doi:10.1016/j.exppara.2009.02.003
- [130] Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. *Water Res*. 2011;45:6603–6614. doi:10.1016/j.watres.2011.10.013
- [131] Shrivastava AK, Kumar S, Smith WA, et al. Revisiting the global problem of cryptosporidiosis and recommendations. *Trop Parasitol*. 2017;7:8–17. doi:10.4103/2229-5070.202290

- [132] Campos CAJ. Prevalencia de infección por *Blastocystis* y protozoarios intestinales en niños de “Alto Trujillo”, La Libertad, Perú. *Sciéndo*. 2011;14. Disponible en: <https://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/SCIENDO/article/view/542>
- [133] Korpe PS, Valencia C, Haque R, et al. Epidemiology and risk factors for cryptosporidiosis in children from 8 low-income sites: results from the MAL-ED study. *Clin Infect Dis*. 2018;67:1660–1669. doi:10.1093/cid/ciy355
- [134] C, Rodríguez E, Do N, et al. Parasitosis intestinal en el paciente con infección VIH-SIDA. *Rev Gastroenterol Peru*. 2006;26:21–24
- [135] Vergaray S, Paima-Olivari R, Runzer-Colmenares FM. Parasitosis intestinal y estado inmunológico en pacientes adultos con infección por VIH del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara". *Horiz Med Lima*. 2019;19:32–36. doi:10.24265/horizmed.2019.v19n1.06
- [136] Cárcamo C, Hooton T, Wener MH, et al. Etiologies and manifestations of persistent diarrhea in adults with HIV-1 infection: a case-control study in Lima, Peru. *J Infect Dis*. 2005;191:11–19. doi:10.1086/426508
- [137] Hunter PR, Nichols G. Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:145–154. doi:10.1128/CMR.15.1.145-154.2002
- [138] Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*. 2013;382:209–222. doi:10.1016/S0140-6736(13)60844-2
- [139] Cacciò SM, Chalmers RM. Human cryptosporidiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:471–480. doi:10.1016/j.cmi.2016.04.021
- [140] Bourli P, Eslahi AV, Tzoraki O, et al. Waterborne transmission of protozoan parasites: a review of worldwide outbreaks – an update 2017–2022. *J Water Health*. 2023;21:1421–1447. doi:10.2166/wh.2023.094
- [141] Rossignol JF. *Cryptosporidium* and *Giardia*: treatment options and prospects for new drugs. *Exp Parasitol*. 2010;124:45–53. doi:10.1016/j.exppara.2009.07.005
- [142] Aghamolaie S, Rostami A, Fallahi S, et al. Evaluation of modified Ziehl-Neelsen, direct fluorescent-antibody and PCR assay for detection

of *Cryptosporidium* spp. in children faecal specimens. *J Parasit Dis*. 2016;40:958–963. doi:10.1007/s12639-014-0614-4

[143] Omoruyi BE, Nwodo UU, Udem CS, et al. Comparative diagnostic techniques for *Cryptosporidium* infection. *Molecules*. 2014;19:2674–2683. doi:10.3390/molecules19022674

[144] Chalmers RM, Katzer F. Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends Parasitol*. 2013;29:237–251. doi:10.1016/j.pt.2013.03.001

[145] Mor SM, Tzipori S. Cryptosporidiosis in children in sub-Saharan Africa: a lingering challenge. *Clin Infect Dis*. 2008;47:915–921. doi:10.1086/591539

[146] Vicente B, Freitas AD, Freitas M, et al. Systematic review of diagnostic approaches for human giardiasis: unveiling optimal strategies. *Diagnostics (Basel)*. 2024;14:364. doi:10.3390/diagnostics14040364

[147] Gutiérrez L, Bartelt L. Current understanding of *Giardia lamblia* and pathogenesis of stunting and cognitive deficits in children from low- and middle-income countries. *Curr Trop Med Rep*. 2024;11:28–39. doi:10.1007/s40475-024-00314-2

[148] Marcos L, Maco V, Machicado A, et al. Diferencias de prevalencia de parasitosis intestinal entre los hospitales Militar y Regional de Iquitos, Loreto-Perú. *Rev Med Herediana*. 2002;41:4. Disponible en: <https://www.fihu.org.pe/revista/numeros/2002/julago02/185-187.html>

[149] Pascual G, Oliver JAI, Hernandez A, et al. Parasitos intestinales en pobladores de dos localidades de Yurimaguas, Alto Amazonas, Loreto, Perú. *Neotrop Helminthol*. 2010;4:127–136. doi:10.24039/rnh2010421098

[150] Ibáñez H N, Jara C C, Guerra M A, et al. Prevalencia del enteroparasitismo en escolares de comunidades andinas nativas del Alto Marañón, Amazonas, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2004;21(3). doi:10.17843/rpmesp.2004.213.948

[151] Mahdavi F, Shams M, Sadrebazzaz A, et al. Global prevalence and associated risk factors of diarrheagenic *Giardia duodenalis* in HIV/AIDS patients: a systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog*. 2021;160:105202. doi:10.1016/j.micpath.2021.105202

- [152] Escobedo AA, Almirall P, Robertson LJ, et al. Giardiasis: the ever-present threat of a neglected disease. *Infect Disord Drug Targets*. 2010;10:329–348. doi:10.2174/187152610793180821
- [153] Vivancos V, González-Alvarez I, Bermejo M, et al. Giardiasis: characteristics, pathogenesis and new insights about treatment. *Curr Top Med Chem*. 2018;18:1287–1303. doi:10.2174/1568026618666181002095314
- [154] Delgado-Huancas D, Martínez-Sovero G, Iglesias-Osores S, et al. Prevalencia de parasitosis y anemia en niños y adultos en una zona altoandina de Perú. *Rev Científica Cienc Med*. 2021;24:90–94
- [155] Carrasco Reátegui YV, Rosales Acho LD. Factores relacionados a la prevalencia del complejo *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* en niños de 6 a 12 años de la comunidad de Llanhama - distrito de San Juan, Loreto. *Univ Nac Amaz Peru*. 2011. Disponible en: <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/3608>
- [156] Fotedar R, Stark D, Beebe N, et al. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:511–532. doi:10.1128/CMR.00004-07
- [157] Shirley DT, Farr L, Watanabe K, et al. A review of the global burden, new diagnostics, and current therapeutics for amebiasis. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5:ofy161. doi:10.1093/ofid/ofy161
- [158] Ocaña Losada C, Cuenca Gómez JA, Cabezas Fernández MT, et al. Características clínicas y epidemiológicas de la parasitación intestinal por *Blastocystis hominis*. *Rev Clin Esp*. 2018;218:115–120
- [159] Khorshidvand Z, Khazaei S, Amiri M, et al. Worldwide prevalence of emerging parasite *Blastocystis* in immunocompromised patients: a systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog*. 2021;152:104615. doi:10.1016/j.micpath.2020.104615
- [160] Piubelli C, Soleymanpoor H, Giorli G, et al. *Blastocystis* prevalence and subtypes in autochthonous and immigrant patients in a referral centre for parasitic infections in Italy. *PLoS One*. 2019;14:e0210171. doi:10.1371/journal.pone.0210171
- [161] Asghari A, Sadeghipour Z, Hassanipour S, et al. Association between *Blastocystis* sp. infection and immunocompromised patients: a systematic

review and meta-analysis. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021;28:60308–60328. doi:10.1007/s11356-021-16187-1

[162] Bednarska M, Jankowska I, Pawelas A, et al. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Blastocystis*, and other opportunistic infections in patients with primary and acquired immunodeficiency. *Parasitol Res.* 2018;117:2869–2879. doi:10.1007/s00436-018-5976-6

[163] Chinchá O, Bernabé-Ortiz A, Samalvides F, et al. Infecciones parasitarias intestinales y factores asociados a la infección por coccidias en pacientes adultos de un hospital público de Lima, Perú. *Rev Chil Infectol.* 2009;26:440–444

[164] Robles-Cabrera MX, Maguiña JL, Gonzales-Huerta L, et al. *Blastocystis* species and gastrointestinal symptoms in Peruvian adults attended in a public hospital. *Infect Chemother.* 2021;53:374–380. doi:10.3947/ic.2021.0004

[165] Fonte Galindo L, Fong González A, Méndez S, et al. Patogenicidad de *Blastocystis* sp. Evidencias y mecanismos. *Rev Cubana Med Trop.* 2014;66(3):312–321.

[166] Zhang SX, Wang JC, Li ZW, et al. Impact factors of *Blastocystis hominis* infection in persons living with HIV: a large-scale, multi-center observational study from China. *Infect Dis Poverty.* 2023;12:82. doi:10.1186/s40249-023-01137-5

[167] Coyle CM, Varughese J, Weiss LM, et al. *Blastocystis*: to treat or not to treat. *Clin Infect Dis.* 2012;54:105–110. doi:10.1093/cid/cir810

[168] Fontanelli Sulekova L, Gabrielli S, Furzi F, et al. Molecular characterization of *Blastocystis* subtypes in HIV-positive patients and evaluation of risk factors for colonization. *BMC Infect Dis.* 2019;19:876. doi:10.1186/s12879-019-4537-7

[169] del Coco VF, Molina NB, Basualdo JA, et al. *Blastocystis* spp.: avances, controversias y desafíos futuros. *Rev Argent Microbiol.* 2017;49:110–118. doi:10.1016/j.ram.2016.08.004

[170] Salehi Sangani G, Hosseini-Safa A, Hosseini Farash BR, et al. Detection and subtyping of *Blastocystis* sp. in human and animal stool samples using high-resolution melting analysis. *BMC Infect Dis.* 2025;25:171. doi:10.1186/s12879-024-10423-y

[171] Graczyk TK, Shiff CK, Tamang L, et al. The association of *Blastocystis hominis* and *Endolimax nana* with diarrheal stools in Zambian school-age children. *Parasitol Res.* 2005;98:38–43. doi:10.1007/s00436-005-0003-0

- [172] Shah M, Tan CB, Rajan D, et al. Blastocystis hominis and Endolimax nana co-infection resulting in chronic diarrhea in an immunocompetent male. *Case Rep Gastroenterol*. 2012;6:358–364. doi:10.1159/000339205
- [173] Sard BG, Navarro RT, Esteban Sanchis JG. Amebas intestinales no patógenas: una visión clinicoanalítica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29:20–28. doi:10.1016/S0213-005X(11)70023-4
- [174] Pan American Health Organization, World Health Organization. Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas disease. Washington, DC: PAHO. 2019. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/49653>
- [175] Swett MC, Rayes DL, Campos SV, Kumar RN. Chagas disease: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Curr Cardiol Rep*. 2024;26:1105–1112. doi:10.1007/s11886-024-02113-7
- [176] Bern C, Messenger LA, Whitman JD, et al. Chagas disease in the United States: a public health approach. *Clin Microbiol Rev*. 2019;33:e00023-19. doi:10.1128/CMR.00023-19
- [177] Rassi A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet*. 2010;375:1388–1402. doi:10.1016/S0140-6736(10)60061-X
- [178] Malik LH, Singh GD, Amsterdam EA. The epidemiology, clinical manifestations, and management of Chagas heart disease. *Clin Cardiol*. 2015;38:565–569. doi:10.1002/clc.22421
- [179] Pérez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. *Lancet*. 2018;391:82–94. doi:10.1016/S0140-6736(17)31612-4
- [180] Náquira C, Cabrera R. Breve reseña histórica de la enfermedad de Chagas, a cien años de su descubrimiento y situación actual en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2009;26:494–504
- [181] Moya-Salazar J, Ubidia-Incio R, Incio-Grande M, et al. Seroprevalence, cost per donation and reduction in blood supply due to positive and indeterminate results for infectious markers in a blood bank in Lima, Peru. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2017;39:102–107. doi:10.1016/j.bjhh.2016.11.007
- [182] Uyema N, Montalván E, Huapaya JM. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en la población humana de Nazca, Departamento de Ica-Perú. *Horiz Med Lima*. 2006;6:84–88. doi:10.24265/horizmed.2006.v6n2.04

- [183] Miles MA, Arias JR, de Souza AA. Chagas' disease in the Amazon basin: V. Periurban palms as habitats of *Rhodnius robustus* and *Rhodnius pictipes*—triatomine vectors of Chagas' disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1983;78:391–398. doi:10.1590/s0074-02761983000400002
- [184] Díaz-Soria F, Zevallos K, Cabrera-Campos B, et al. Detection of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in Iquitos: possible incipient colonisation in the largest metropolis of the Peruvian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2025;120: e240257
- [185] Ramos-Rincón JM, Ortiz-Martínez S, Vásquez-Chasnamote ME, et al. Chagas disease in pregnant women in the Peruvian Amazon Basin: cross-sectional study. *Front Vet Sci*. 2020;7:556. doi:10.3389/fvets.2020.00556
- [186] Ríos Soria MJ. Seroprevalencia de marcadores infecciosos en donantes del banco de sangre del Hospital Regional de Loreto, 2008–2016. 2017. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/4435>
- [187] Escobar Valencia I. Seroprevalencia del *Trypanosoma cruzi* en postulantes a donantes de sangre del centro de hemoterapia banco de sangre tipo II del Hospital III Iquitos EsSalud. 2022. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.14503/2156>
- [188] Cabrera R, Vega S, Valderrama Y, et al. New focus of active transmission of Chagas disease in indigenous populations in the Peruvian Amazon basin. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013;46:367–372. doi:10.1590/0037-8682-1195-2013
- [189] Asayag CR, Garay CR, Sanchez GM, et al. Eight year old with fever, hepatomegaly, and positive thick smear. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;79:473.
- [190] Vega S, Mendoza A, Cabrera R, et al. Primer caso de enfermedad de Chagas aguda en la selva central del Perú: investigación de colaterales, vectores y reservorios. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2006;23(4). Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/view/1061/0>
- [191] Otero-Rodríguez S, Celis-Salinas JC, Ramal-Asayag C, et al. Cribaje de la enfermedad de Chagas en la Amazonia peruana. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2023;40:490–492. doi:10.17843/rpmesp.2023.404.13009
- [192] Almeida EA, Lima JN, Lages-Silva E, et al. Chagas' disease and HIV co-infection in patients without effective antiretroviral therapy: prevalence,

clinical presentation and natural history. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010;104:447–452. doi:10.1016/j.trstmh.2010.02.004

[193] Dolcini G, Ambrosioni J, Andreani G, et al. Prevalencia de la coinfección virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)–*Trypanosoma cruzi* e impacto del abuso de drogas inyectables en un centro de salud de la ciudad de Buenos Aires. *Rev Argent Microbiol.* 2008;40:164–166

[194] Torrico F, Castro Soto MR. Co-infección por *Trypanosoma cruzi* y VIH: reporte de un caso de meningoencefalitis chagásica en Cochabamba, Bolivia. *Gac Med Bol.* 2013;36:96–99

[195] Sartori AM, Ibrahim KY, Nunes Westphalen EV, et al. Manifestations of Chagas disease (American trypanosomiasis) in patients with HIV/AIDS. *Ann Trop Med Parasitol.* 2007;101(1):31–50. doi:10.1179/136485907x154629

[196] Angheben A, Buonfrate D, Cruciani M, et al. Rapid immunochromatographic tests for the diagnosis of chronic Chagas disease in at-risk populations: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13:e0007271. doi:10.1371/journal.pntd.0007271

[197] Organización Panamericana de la Salud. Uso de pruebas de diagnóstico rápido de la enfermedad para Chagas en las Américas: protocolo genérico para garantizar su evaluación. Washington, DC: OPS. 2025. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/63547>

[198] Reimer-McAtee MJ, Mejia C, Clark T, et al. HIV and Chagas disease: an evaluation of the use of real-time quantitative polymerase chain reaction to measure levels of *Trypanosoma cruzi* parasitemia in HIV patients in Cochabamba, Bolivia. *Am J Trop Med Hyg.* 2021;105:643–650. doi:10.4269/ajtmh.20-1141

[199] Romanelli MG, Diani E, Bergamo E, et al. Highlights on distinctive structural and functional properties of HTLV Tax proteins. *Front Microbiol.* 2013;4:271. doi:10.3389/fmicb.2013.00271

[200] Miranda-Ulloa E, Romero-Ruiz S, Montalvo-Otivo R, et al. Distribución geográfica y tipo de infección del virus linfotrópico T humano en pacientes peruanos 2019–2021. *Rev Chil Infectol.* 2023;40:193–196. doi:10.4067/S0716-10182023000200193

- [201] Paiva A, Casseb J. Origin and prevalence of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and type 2 (HTLV-2) among indigenous populations in the Americas. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2015;57:1–14. doi:10.1590/S0036-46652015000100001
- [202] Gessain A, Cassar O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. *Front Microbiol*. 2012;3:388. doi:10.3389/fmicb.2012.00388
- [203] Quiros-Roldan E, Moretti F, Torti C, et al. HIV/HTLV co-infection: frequency and epidemiological characteristics among patients admitted to an Italian hospital. *Infection*. 2003;31:172–173. doi:10.1007/s15010-003-3122-5
- [204] Abreu IN, Lopes FT, Lima CNC, et al. HTLV-1 and HTLV-2 infection among Warao indigenous refugees in the Brazilian Amazon: challenges for public health in times of increasing migration. *Front Public Health*. 2022;10:833169. doi:10.3389/fpubh.2022.833169
- [205] Pereira FM, Santos FLN, Silva AAO, et al. Distribution of human immunodeficiency virus and human T-leukemia virus co-infection in Bahia, Brazil. *Front Med*. 2022;8:788176. doi:10.3389/fmed.2021.788176
- [206] Ramos JM, Milla A, Sánchez V, et al. Prenatal screening for *Trypanosoma cruzi* and human T lymphotropic virus types 1 and 2 in pregnant Latin American women. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27:165–167. doi:10.1016/j.eimc.2008.04.006
- [207] Rosadas C, Brites C, Arakaki-Sanchez D, et al. Brazilian protocol for sexually transmitted infections 2020: human T-cell lymphotropic virus (HTLV) infection. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2021;54:e2020605. doi:10.1590/0037-8682-605-2020
- [208] Cunha MS, Zhang W, Mansky LM, et al. Editorial: HTLV-1: addressing unmet research needs, volume II. *Front Microbiol*. 2023;14:1306416. doi:10.3389/fmicb.2023.1306416
- [209] Gotuzzo E, Terashima A, Alvarez H, et al. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection associated with human T cell lymphotropic virus type-1 infection in Peru. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60:146–149. doi:10.4269/ajtmh.1999.60.146
- [210] Murphy EL, Wang B, Sacher RA, et al. Respiratory and urinary tract infections, arthritis, and asthma associated with HTLV-I and HTLV-II infection. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:109–116. doi:10.3201/eid1001.020714

- [211] Modahl LE, Young KC, Varney KF, et al. Are HTLV-II-seropositive injection drug users at increased risk of bacterial pneumonia, abscess, and lymphadenopathy? *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1997;16:169–175. doi:10.1097/00042560-199711010-00005
- [212] Alencar SP, Souza MDC, Fonseca RRDS, et al. Prevalence and molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus (HTLV) infection in people living with HIV/AIDS in the Pará State, Amazon region of Brazil. *Front Microbiol.* 2020;11:572381. doi:10.3389/fmicb.2020.572381
- [213] Thorstensson R, Albert J, Andersson S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. *Transfusion.* 2002;42:780–791. doi:10.1046/j.1537-2995.2002.00114.x
- [214] Romaní F. Revisión sistemática de estudios epidemiológicos sobre la infección por el virus linfotrópico de células T humanas I/II en el Perú. *Rev Peru Epidemiol.* 2010;14:1–9
- [215] Gotuzzo HE, Verdonck BK, González LE, et al. Virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV-1): una infección endémica en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2004;21:253–260
- [216] Miranda-Ulloa E, Romero-Ruiz S, Montalvo-Otivo R, et al. Distribución geográfica y tipo de infección del virus linfotrópico T humano en pacientes peruanos 2019–2021. *Rev Chil Infectol.* 2023;40:193–196. doi:10.4067/S0716-10182023000200193
- [217] Blas MM, Alva IE, Garcia PJ, et al. High prevalence of human T-lymphotropic virus infection in indigenous women from the Peruvian Amazon. *PLoS ONE.* 2013;8:e73978
- [218] Gotuzzo HE, Verdonck BK, González LE, et al. Virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV-1): una infección endémica en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2004;21:253–260
- [219] La Rosa AM, Zunt JR, Peinado J, et al. Retroviral infection in Peruvian men who have sex with men. *Clin Infect Dis.* 2009;49:112–117
- [220] Medeot S, Nates S, Recalde A, et al. Prevalence of antibody to human T cell lymphotropic virus types 1/2 among aboriginal groups inhabiting northern Argentina and the Amazon region of Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60:623–629. doi:10.4269/ajtmh.1999.60.623

- [221] Galetto LR, Lunge VR, Béria JU, et al. Short communication: prevalence and risk factors for human T cell lymphotropic virus infection in Southern Brazilian HIV-positive patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2014;30:907–911. doi:10.1089/AID.2013.0210
- [222] Caterino-de-Araujo A, Sacchi CT, Gonçalves MG, et al. Short communication: current prevalence and risk factors associated with human T lymphotropic virus type 1 and type 2 infections among HIV/AIDS patients in São Paulo, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2015;31:543–549. doi:10.1089/AID.2014.0287
- [223] Maloney EM, Biggar RJ, Neel JV, et al. Endemic human T cell lymphotropic virus type II infection among isolated Brazilian Amerindians. *J Infect Dis*. 1992;166:100–107. doi:10.1093/infdis/166.1.100
- [224] Abreu IN, Lima CNC, Sacuena ERP, et al. HTLV-1/2 in indigenous peoples of the Brazilian Amazon: seroprevalence, molecular characterization and sociobehavioral factors related to risk of infection. *Viruses*. 2022;15:22. doi:10.3390/v15010022
- [225] Amianti C, Bandeira LM, Cesar GA, et al. HTLV infection in Brazil's second-largest indigenous reserve. *Sci Rep*. 2022;12:16701. doi:10.1038/s41598-022-21086-7
- [226] Ramos-Rincón JM, Ortiz-Martínez S, Vásquez-Chasnamote ME, et al. Screening for human T-cell lymphotropic virus (HTLV) in pregnant women in the Peruvian Amazon and systematic review with meta-analysis of HTLV infection in Peru. *Pathog*. 2021;10:260. doi:10.3390/pathogens10030260
- [227] Romaní F. Revisión sistemática de estudios epidemiológicos sobre la infección por el virus linfotrópico de células T humanas I/II en el Perú. *Rev Peru Epidemiol*. 2010;14:1–9
- [228] Alarcón Villaverde J, Romaní F, Montano Torres S, et al. Transmisión vertical de HTLV-1 en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2011;28:101–108
- [229] Zunt JR, La Rosa AM, Peinado J, et al. Risk factors for HTLV-II infection in Peruvian men who have sex with men. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;74:922–925. doi:10.4269/ajtmh.2006.74.922
- [230] Alencar SP, Souza MDC, Fonseca RRDS, et al. Prevalence and molecular epidemiology of human T-lymphotropic virus (HTLV) infection in people living

with HIV/AIDS in the Pará State, Amazon region of Brazil. *Front Microbiol.* 2020;11:572381. doi:10.3389/fmicb.2020.572381

[231] Brites C, Tonto PB, Vallinoto AC, et al. Multicenter cross-sectional study of HTLV-1 prevalence and associated risk factors in epidemiologically relevant groups across Brazil. *Front Public Health.* 2025;13:1511374. doi:10.3389/fpubh.2025.1511374

[232] Ribeiro ML, Gonçalves JP, Morais VMS de, et al. HTLV 1/2 prevalence and risk factors in individuals with HIV/AIDS in Pernambuco, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2019;52:e20180244. doi:10.1590/0037-8682-0244-2018

[233] Campos KR, Gonçalves MG, Caterino-de-Araujo A. Short communication: failures in detecting HTLV-1 and HTLV-2 in patients infected with HIV-1. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2017;33:382–385. doi:10.1089/AID.2016.0191

[234] Bradshaw D, Taylor GP. HTLV-1 transmission and HIV pre-exposure prophylaxis: a scoping review. *Front Med.* 2022;9:881547. doi:10.3389/fmed.2022.881547

[235] Ticona E, Huaman MA, Yanque O, et al. HIV and HTLV-1 coinfection: the need to initiate antiretroviral therapy. *J Int Assoc Provid AIDS Care.* 2013;12:373–374. doi:10.1177/2325957413500988

[236] Edwards RJ, Julien-Serrette K, Edwards J, et al. HTLV-1 coinfection among patients attending a large HIV treatment centre in Trinidad. *Microorganisms.* 2022;10:2207. doi:10.3390/microorganisms10112207

[237] Beilke MA, Theall KP, O'Brien M, et al. Clinical outcomes and disease progression among patients coinfecting with HIV and human T lymphotropic virus types 1 and 2. *Clin Infect Dis.* 2004;39:256–263. doi:10.1086/422146

[238] Brites C, Sampalo J, Oliveira A. HIV/human T-cell lymphotropic virus coinfection revisited: impact on AIDS progression. *AIDS Rev.* 2009;11:8–16

[239] Montaña-Castellón I, Marconi CSC, Saffe C, et al. Clinical and laboratory outcomes in HIV-1 and HTLV-1/2 coinfection: a systematic review. *Front Public Health.* 2022;10:820727. doi:10.3389/fpubh.2022.820727

[240] Wahdini S, Putra VP, Sungkar S. The prevalence of intestinal protozoan infections among children in Southwest Sumba based on the type of water sources. *Infect Chemother.* 2021;53:519–527. doi:10.3947/ic.2021.0067

- [241] Mbong Ngwese M, Prince Manouana G, Nguema Moure PA, et al. Diagnostic techniques of soil-transmitted helminths: impact on control measures. 2025. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2414-6366/5/2/93>
- [242] Marcos LA, Canales M, Terashima A. Métodos de diagnóstico para *Strongyloides stercoralis* en el Perú. *Rev Peru Parasitol.* 2010;18:8
- [243] Mbong Ngwese M, Prince Manouana G, Nguema Moure PA, et al. Diagnostic techniques of soil-transmitted helminths: impact on control measures. *Trop Med Infect Dis.* 2020;5:93. doi:10.3390/tropicalmed5020093
- [244] Henriksen SA, Pohlenz JF. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand.* 1981;22:594–596. doi:10.1186/BF03548684
- [245] Velasco Benítez CA. Infección por *Cryptosporidium* spp. en pediatría. 2013. Disponible en: <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/entities/publication/244f3093-06a9-46cb-814b-81c3e2cdefc6>
- [246] Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med.* 1998;17:857–872. doi:10.1002/(SICI)1097-0258(19980430)17:8<857::AID-SIM777>3.0.CO;2-E
- [247] Sánchez A, Munoz M, Gómez N, et al. Molecular epidemiology of *Giardia*, *Blastocystis* and *Cryptosporidium* among indigenous children from the Colombian Amazon Basin. *Front Microbiol.* 2017;8:248. doi:10.3389/fmicb.2017.00248
- [248] Sannella AR, Suputtamongkol Y, Wongsawat E, et al. A retrospective molecular study of *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-infected patients from Thailand. *Parasit Vectors.* 2019;12:3348. doi:10.1186/s13071-019-3348-4
- [249] Adeyemo FE, Singh G, Reddy P, et al. Efficiency of chlorine and UV in the inactivation of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater. *PLoS ONE.* 2019;14:e0216040. doi:10.1371/journal.pone.0216040
- [250] Ibáñez HN, Jara CC, Guerra MA, et al. Prevalencia del enteroparasitismo en escolares de comunidades nativas del Alto Marañón, Amazonas, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2004;21:126–133.

[251] CerTest Biotec S.L. Cryptosporidium parvum (Crypto-2) rapid test. San Mateo de Gállego (Spain): CerTest Biotec. 2025. Disponible en: <https://www.certest.es/es/products/cryptosporidium-parvum-crypto-2/>

A

**HOJA DE INFORMACIÓN AL
PACIENTE Y CONSENTIMIENTO
INFORMADO**

A.1. Hoja de información al paciente (HIP) y consentimiento informado

Consentimiento para la participación en el estudio

Número Expediente:	TP-
Título del proyecto:	Tamizaje de la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> , HTLV y <i>Strongyloides stercoralis</i> y parásitos intestinales en pacientes con infección por VIH en la Amazonia peruana (TrypPeru3) Versión del protocolo: 1.0 (27 de enero de 2023)
Investigador principal en Perú	Dr. Martín Casapia. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Regional de Loreto, Iquitos, Perú
Investigador principal en España:	Dr. José Manuel Ramos Rincón, Servicio de Medicina Interna, Hospital General Universitario Dr. Balmis de Alicante
Fuente de Financiamiento	CONVOCATORIA INTERNA PARA LA ASIGNACIÓN DE CRÉDITO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DE CARÁCTER INTERNACIONAL PARA LA CONSECUCCIÓN DE LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030 DE LAS NACIONES UNIDAS. CONV. UMH- GVA REF. SOLCIF 2021/0005. (Cód. 11-134-4-2022-0081),
Información de contacto	Dr. Martín Casapia. Servicio de Enfermedades Infecciosas Silvia Otero Rodríguez, Hospital General Universitario Dr. Balmis de Alicante

Nos dirigimos a usted para solicitar su consentimiento para participar en un proyecto de investigación. Este proyecto ha sido aprobado por el Comité de Ética del Hospital Regional de Loreto (Iquitos, Perú). Se llevará a cabo de acuerdo a las normas de Buena Práctica Clínica y a los principios éticos internacionales aplicables a la investigación médica en humanos (Declaración de Helsinki y su última revisión). Con el fin de que pueda decidir si desea participar en este proyecto, es importante que entienda por qué es necesaria esta investigación, lo que va a implicar su participación, cómo se va a utilizar su información y sus posibles beneficios, riesgos y molestias. En este documento podrá encontrar

información detallada sobre el proyecto. Por favor, tómese el tiempo necesario para leer atentamente la información proporcionada a continuación y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir. Cuando haya comprendido el proyecto se le solicitará que firme el consentimiento informado si desea participar en él. Si decide participar en este estudio debe saber que lo hace voluntariamente y que podrá, así mismo, abandonarlo en cualquier momento. En el caso en que decida suspender su participación, ello no va a suponer ningún tipo de penalización ni pérdida o perjuicio en sus derechos y cuidados médicos. El proyecto se llevará a cabo en el Hospital Regional de Loreto, Iquitos, Perú, y el Hospital de Apoyo de Iquitos, Perú.

¿POR QUÉ SE REALIZA ESTE PROYECTO?

La enfermedad de Chagas, causada por el *Trypanosoma cruzi* a través de la picadura de la chinche, la enfermedad por virus linfotrópico humano de células T de tipo 1 (HTLV-1), virus transmitido predominantemente vía lactancia materna o sexual, y la infección por *Strongyloides stercoralis*, adquirida por vía cutánea, pueden originar infecciones de mayor relevancia y gravedad en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que viven en regiones tropicales, pudiendo provocar casos fatales por reactivación aguda enfermedad de Chagas o mayor gravedad de infecciones concomitantes (HTLV-1, *S. stercoralis*). Para su diagnóstico, existen pruebas analíticas rápidas y efectivas que permiten saber si un individuo ha generado inmunidad (defensas) frente a *Trypanosoma cruzi*, HTLV-1 o *Strongyloides*. La frecuencia de estas infecciones (proporción de individuos que presentan la enfermedad en una población) ha sido estudiada en varias áreas de Perú, pero se desconoce en gran medida la frecuencia en la Amazonia peruana y sobre todo se carecen de datos sobre éstas en población VIH. Conocerla, ayudaría a comprender mejor su situación real, y a mejorar el control y manejo de esta enfermedad en estos pacientes especialmente vulnerables.

¿CUÁL ES EL OBJETIVO DEL PROYECTO?

Conocer la prevalencia de la enfermedad de Chagas, del virus HTLV, de la estrongiloidiasis y de otras parasitosis intestinales en pacientes con infección por VIH. A su vez, se pretende determinar los factores de riesgo de presentar dichas en pacientes con infección por VIH.

¿CÓMO SE VA A REALIZAR EL ESTUDIO?

La duración del estudio se prolongará durante un periodo de tiempo de 12 meses, pero este periodo podrá ser mayor o menor (en función de las circunstancias de desarrollo del mismo). Si decide participar, es probable que únicamente necesite permanecer en consulta alrededor de 15-30 minutos, y que no necesite acudir a la consulta del médico de forma extraordinaria. Antes que nada, será informado y a continuación se solicitará su consentimiento informado de participación en el estudio; a continuación, se recogerán los datos epidemiológicos mediante una entrevista semi-estructurada y oral, siendo los datos registrados, bien en plataforma digital (Tablet) o papel, según el contexto lo permita; después se realizará un pinchazo en el dedo para la toma de sangre venosa (para enfermedad de Chagas, *S. stercoralis* y HTLV-1). Los resultados de este test serán asimismo registrados; finalmente, a los pacientes con resultado positivo se les realizará PCR para enfermedad de Chagas). Además, se le solicitará una muestra de heces, que podrá ser entregada desde casa a una transportista, para facilitar la entrega. Nos gustaría almacenar durante al menos 5 años cualesquiera de sus muestras sobrantes

¿QUÉ BENEFICIOS PUEDO OBTENER POR PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Usted recibirá el mismo tratamiento y atención médica participe o no en el proyecto. En consecuencia, no obtendrá ningún beneficio directo con su participación. No obstante, en caso de un resultado positivo en el/los test de diagnóstico, el estudio podría favorecer una detección temprana y por lo tanto un manejo clínico posiblemente más favorable. Asimismo, la información que nos facilite, así como la que se obtenga de los análisis que se realicen, pueden ser de gran utilidad para mejorar el conocimiento que tenemos hoy día de estas enfermedades y ello permitirá idear formas de prevención, manejo y tratamiento mejores que las que poseemos en la actualidad. Por su participación en el estudio no obtendrá compensación económica.

¿QUÉ RIESGOS PUEDO SUFRIR POR PARTICIPAR EN EL ESTUDIO?

Al tratarse de un estudio observacional en el que únicamente se observa y recogen sus datos sin que exista intervención experimental, únicamente se tomarían en cuenta los inconvenientes posibles derivados de la realización del test rápido de diagnóstico (generalmente alguna molestia muy ligera por el pinchazo en el dedo y/o de la extracción de 5 mililitros de sangre (mediante procedimiento habitual), que generalmente no incluye más inconvenientes,

pudiendo ocasionar ligeros síntomas (dolor, irritación, etc.) a nivel local de la punción.

¿QUÉ DATOS SE VAN A RECOGER?

- Datos sociodemográficos: edad, sexo, lugar de residencia, nivel de estudios.
- Datos epidemiológicos relevantes.
- Datos clínicos: embarazo, comorbilidades, hábitos tóxicos, clínica actual, exploración clínica.
- Datos sobre el contagio y el estado actual de la infección por VIH.
- Resultados del test rápido de diagnóstico y/o de la prueba analítica de laboratorio.

¿CÓMO SE TRATARÁN MIS DATOS PERSONALES Y CÓMO SE PRESERVARÁ LA CONFIDENCIALIDAD?

La recogida, tratamiento y uso de los datos requeridos por este estudio se hará de acuerdo a lo estipulado en Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, y a lo estipulado en el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD). El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias y los órganos de asesoramiento del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), cuando lo precisen, para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. El Investigador, cuando procese y trate sus datos tomará las medidas oportunas para protegerlos y evitar el acceso a los mismos de terceros no autorizados. Usted puede ejercer los derechos de acceso (pedir información sobre la información suya que hay guardada en la base de datos), de oposición (negarse a dar los datos), de cancelación (solicitar que se destruyan los datos) y rectificación (si con el tiempo se modifica algún dato o se detecta algún error). Puede revocar el consentimiento para el tratamiento de sus datos personales dirigiéndose al investigador. Además de estos derechos, y de acuerdo al RGPD, usted también puede limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad) los datos que usted ha facilitado para el estudio. Para ejercitar sus derechos, diríjase al

investigador principal del estudio. Le recordamos que los datos no se pueden eliminar, aunque deje de participar en el estudio para garantizar la validez de la investigación y cumplir, si fuera el caso, con los deberes legales y los requisitos de autorización de medicamentos. Así mismo tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho. Tanto el Centro como el Promotor son responsables respectivamente del tratamiento de sus datos y se comprometen a cumplir con la normativa de protección de datos en vigor. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que pueda identificarle, y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a ninguna otra persona salvo a las autoridades sanitarias, cuando así lo requieran o en casos de urgencia médica. Los Comités de Ética de la Investigación, los representantes de la Autoridad Sanitaria en materia de inspección y el personal autorizado por el Promotor, únicamente podrán acceder para comprobar los datos personales, los procedimientos del estudio clínico y el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica (siempre manteniendo la confidencialidad de la información). El Investigador y el Promotor están obligados a conservar los datos recogidos para el estudio al menos hasta 25 años tras su finalización. Posteriormente, su información personal solo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si usted hubiera otorgado su consentimiento para ello, y si así lo permite la ley y requisitos éticos aplicables. Si realizáramos transferencia de sus datos codificados fuera de la UE a las entidades de nuestro grupo, a prestadores de servicios o a investigadores científicos que colaboren con nosotros, los datos del participante quedarán protegidos con salvaguardas tales como contratos u otros mecanismos por las autoridades de protección de datos.

¿CON QUIÉN PUEDO CONTACTAR EN CASO DE DUDA?

Si Ud. precisa mayor información sobre el estudio puede contactar con el Dr. Martin Casapía, Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Regional de Loreto, o la Dra Silvia Otero Rodríguez, Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Dr. Balmis de Alicante.

Acuerdo del sujeto

He leído la información proporcionada más arriba. He realizado todas las preguntas que tengo en este momento. Acepto voluntariamente que mis muestras son conservadas sin identificación.

Nombre y Firma del sujeto de investigación:

Fecha:

Nombre y Firma de la persona que obtiene el consentimiento:

Fecha:

Consentimiento para la conservación de muestras biológicas sin identificación

¿EN GENERAL, QUÉ DEBERÍA USTED SABER SOBRE LOS ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN?

Los estudios de investigación tienen como objetivo obtener información relevante sobre nuevas enfermedades que pueda ayudar a otras personas en el futuro. Es posible que usted no reciba ningún beneficio directo por participar en este estudio, así como, también pueden existir riesgos asociados con la participación en estudios de investigación. La participación en este estudio es voluntaria y puede negarse a participar, o retirar su consentimiento por cualquier motivo. Si está enfermo, usted no está obligado a participar en el estudio de investigación para recibir atención médica. A continuación, se describen los detalles de este estudio. Es importante que comprenda ampliamente la información que le presentamos para que pueda decidir conscientemente su participación en este estudio de investigación. Se le entregará una copia de este consentimiento. Debe preguntar a los investigadores mencionados anteriormente, o a los miembros del equipo que los asisten, cualquier duda que tenga acerca de este estudio en cualquier momento.

¿CUÁL ES EL OBJETIVO DE ESTE BANCO DE MUESTRAS?

Investigaciones con sangre, tejidos, o fluidos corporales (especímenes) puede dejar que investigadores entiendan cómo funciona el cuerpo humano. Investigadores puede contestar otras preguntas por utilizar las muestras. Pueden desarrollar pruebas nuevas para detectar enfermedades, tratamientos mejores como medicamentos, u otros productos. Las muestras pueden ser usadas para investigaciones genéticas. A veces, investigadores conservan muestras para uso en el futuro y/o compartir las muestras con colaboradores. Eso se llama “banco biológico.” El propósito de este “banco biológico” es tener acceso a muestras con cuales se puede utilizar para tener información para un mejor conocimiento referente a la enfermedad de Chagas, HTLV y estrongiloidiasis en pacientes con. Infección por VIH de la región Loreto. Quizás, también usemos las muestras para entender como estas enfermedades afectan el desarrollo de los recién nacidos. Conservaremos muestras de sangre.

¿CÓMO SE SOLICITAN LAS MUESTRAS?

Muestras que sobran después de hacer las pruebas necesarias para el estudio pueden ser incluidas en el “banco biológico.”

¿QUÉ PASARÁ CON LAS MUESTRAS?

Conservaremos las muestras en congeladores en Universidad Nacional de las Amazonia peruana en Iquitos, Perú o la Universidad Miguel Hernández de Elche. Estos sitios son seguros, y los empleados singularmente tienen acceso a los laboratorios. Las muestras serán conservadas bajo el código asignado para usted, no bajo su nombre. Las muestras serán conservadas por 5 años por lo menos, pero serán destruidas después de 5 años si se acabe el estudio si ya no son necesitadas. Podemos compartir datos o muestras con otros investigadores, pero no compartiremos su información personal con nuestros colaboradores.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS POR PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Es poco probable que usted se beneficie personalmente. Los estudios que usan especímenes de este repositorio pueden proporcionar información adicional que será útil para comprender más sobre la enfermedad de Chagas, HTLV, estrongiloidiasis y parasitosis en pacientes con. Infección por VIH, así como otros estudios en el futuro.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS QUE IMPLICA LA PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?

Podrían existir riesgos poco comunes o previamente desconocidos. A veces preocupa que otros puedan descubrir información sobre usted y su salud. El riesgo de eso es mínimo en este “banco biológico” porque las muestras corresponderán a un código y no a su nombre o información personal.

¿LE COSTARÁ ALGO LA PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?

No le costará nada participar en este “banco biológico.”

¿RECIBIRÁ ALGO POR PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Usted no recibirá nada por sus muestras.

¿A QUIÉN PERTENECEN LAS MUESTRAS?

Cualquier muestra de sangre, fluidos corporales, o tejidas obtenidos de objetivo de este banco biológico” se hace exclusivamente de la propiedad de la Universidad Nacional de la Amazonia peruana y de La Universidad Miguel Hernández de Elche. Estas organizaciones pueden conservar o destruir las muestras o utilizarlas para investigaciones que acabe en productos comerciales.

No hará recompensa a Ud. para cualquier uso (incluso uso comercial) de las muestras en el futuro.

¿DE QUÉ MANERA SE PROTEGERÁ SU PRIVACIDAD?

Los investigadores no tendrán información que le identifica; por eso, no existe riesgo para su privacidad.

¿RECIBIRÁ USTED RESULTADOS EN EL FUTURO QUE TENGAN QUE VER CON SUS MUESTRAS?

Es poco probable que el uso de sus muestras da resultados nuevos que tiene significado para Ud. Además, los investigadores no sabrán de quien vienen las muestras.

¿PUEDE USTED RETIRAR LAS MUESTRAS DEL "BANCO BIOLÓGICO"?

Si usted puede retirar las muestras por pedido escrito enviada a la Investigadora Principal Peruana Viviana Pinedo Cancino. Las muestras suyas serían destruidas en este evento.

¿QUIÉN PATROCINA ESTE ESTUDIO?

Esta investigación está financiada por la "Cooperación de formación académica en Investigación en Ciencias de la Salud con la Universidad de la Amazonia peruana y sus Instituciones Sanitarias y el Hospital Regional de Loreto, dentro del Convenio 2020 entre Generalitat Valenciana y la Universidad Miguel Hernández de Elche". Esto significa que el patrocinador le paga al equipo de investigación por la realización del estudio. Los investigadores no tienen un interés financiero directo con el patrocinador ni con los resultados del estudio.

¿QUÉ SUCEDE SI DESEA FORMULAR PREGUNTAS SOBRE ESTE ESTUDIO?

Tiene el derecho de preguntar, y que le respondan, cualquier duda que tenga acerca de esta investigación. Si tiene preguntas o si ocurre una lesión relacionada con la investigación, debe ponerse en contacto con los investigadores mencionados en la primera página de este formulario.

¿QUÉ SUCEDE SI DESEA FORMULAR PREGUNTAS SOBRE SUS DERECHOS COMO SUJETO DE UNA INVESTIGACIÓN?

Toda investigación realizada con voluntarios humanos es examinada por un comité que trabaja para proteger sus derechos y su bienestar. Si tiene preguntas

o inquietudes acerca de sus derechos como sujeto de una investigación, puede ponerse en contacto, de manera anónima si lo desea, con la Oficina del Comité de ética Institucional e Investigación para el Hospital regional de Loreto (Tel. 065-251882)

Acuerdo del sujeto:

He leído la información proporcionada más arriba. He realizado todas las preguntas que tengo en este momento. Acepto voluntariamente que mis muestras son conservadas sin identificación.

Nombre y Firma del sujeto de investigación:

Fecha:

Nombre y Firma de la persona que obtiene el consentimiento:

Fecha:

A.2. Hoja de recogida de datos (HRD)

Instrucciones: Complete este formulario para los pacientes elegibles que hayan dado su consentimiento informado. Debe llenarse el mismo día de la selección, preferentemente por el personal clínico del estudio.

IDENTIFICACIÓN DEL PARTICIPANTE

Código del participante: TP + número consecutivo asignado

Hospital de recogida (HRL/HAI):

Fecha de visita (dd/mm/aaaa):

DATOS GENERALES

Sexo (H/M):

Fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa):

Ocupación (ninguna/agricultura-construcción/artesanal/autónomo/intelectual):

Lugar de residencia (Punchana/Iquitos/ Belén/San Juan/rural):

Nivel educativo (estudios primarios/secundarios/ universitarios):

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

¿Ha tenido picadura de triatóminos? (si/no/no sabe):

¿Recibió lactancia materna? (si/no/no sabe):

¿Recibió transfusiones sanguíneas? (si/no/no sabe):

¿Tiene animales en casa? (si/no/no sabe):

¿Camina descalzo fuera de casa? (si/no/no sabe):

¿Tiene hábitos tóxicos (alcohol/drogas/tabaco)? (si/no/no sabe):

¿Está embarazada? (si/no/no sabe):

¿Vive en una zona rural? (sin asfaltar) (si/no/no sabe):

¿De qué material está hecha su casa? (hoja/madera/cemento):

DATOS CLÍNICOS

Comorbilidades

¿Tiene diabetes? (si/no/no sabe):

¿Tiene hipertensión arterial? (si/no/no sabe):

¿Tiene enfermedad cardiovascular? (si/no/no sabe):

¿Está embarazada? (si/no/no sabe):

¿Tiene enfermedad digestiva? (si/no/no sabe):

¿Tiene enfermedad urinaria? (si/no/no sabe):

¿Tiene otra enfermedad? (si/no/no sabe):

Antecedentes de enfermedades infecciosas

¿Alguna vez ha tenido tuberculosis? (si/no/no sabe):

¿Alguna vez ha tenido parásitos intestinales? (si/no/no sabe):

¿Alguna vez ha tenido gonorrea? (si/no/no sabe):

¿Alguna vez ha tenido sífilis? (si/no/no sabe):

¿Alguna vez ha tenido hepatitis? (si/no/no sabe):

¿Alguna vez ha tenido toxoplasmosis cerebral? (si/no/no sabe):

Síntomas actuales

¿Tiene algún síntoma actual? (si/no/no sabe):

En caso de marcar Sí, ¿cuál? (tos/ fiebre/ dirrea):

En caso de diarrea, ¿con qué frecuencia la tiene? (diaria/ semanal/ mensual):

ESTADO DE LA INFECCIÓN POR VIH

Grupo de riesgo (heterosexual/homosexual/transexual/bisexual):

Vía de adquisición del VIH (sexual/vertical/parenteral/no sabe):

Número inicial de CD4+ (células/L):

Número actual de CD4+ (células/L):

¿Estadio SIDA (CD4+ <200) actual? (si/no):

Carga viral actual (copias/ml):

Carga viral actual categorizada (<20/20-2000/>2000):

Adherencia a la medicación (>95 %/ /90-95 %/<20):

RESULTADOS DE LABORATORIO

Serología *S. stercoralis*

Test ELISA IgG (positivo/negativo):

Parasitología *S. stercoralis* y otros helmintos

Baermann modificado (larvas *S. stercoralis*) (positivo/negativo/no se hizo):

Cultivo en carbón (larvas *S. stercoralis*) (positivo/negativo/no se hizo):

Kato-Katz (huevos de otros geohelmintos) (positivo/negativo/no se hizo):

Si positivo, parásito identificado:

Parasitología protozoos intestinales

Visualización directa con Lugol (protozoos) (positivo/negativo/no se hizo):

Si positivo, parásito identificado:

ICT (protozoos) (positivo/negativo/no se hizo):

Si positivo, parásito identificado:

Tinción de ZNM (*Cryptosporidium spp.*) (positivo/negativo/no se hizo):

Serología *T. cruzi*

Primer ELISA (positivo/negativo/indeterminado):

Segundo ELISA (positivo/negativo/indeterminado):

Si alguno positivo, ampliar:

CLIA Chagas (positivo/negativo/no se hizo):

Serología HTLV

ELISA HTLV (positivo/negativo):

Si positivo, ampliar:

INNO-LIA en sangre total (positiva/negativa/no se hizo):

Serotipo (HTLV-1/HTLV-2):



Vida en comunidad rural del río Amazonas. Fuente: propia