

Desarrollo y validación de un kit diagnóstico para echinococcosis canina

Facultad de Química – Comisión de Zoonosis

Puerto Madryn 2012

Gualberto González-Sapienza

Instituto de Higiene

Cátedra de Inmunología-Facultad de Química

Montevideo Uruguay

¿Qué método diagnóstico hay que usar?

La técnica de referencia de diagnóstico de infección canina es la **necropsia**

Purga con arecolina: detecta parásitos

1er dosis ~ 50% 2da dosis ~75%

Alta especificidad



Tedioso y poco efectivo, necesita personal especialmente entrenado, riesgo de infección

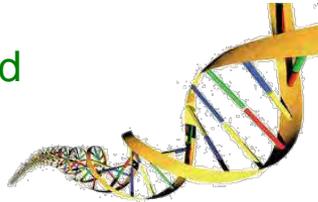
Serología



Muy poco sensible

Copro-PCR: detecta DNA del parásito

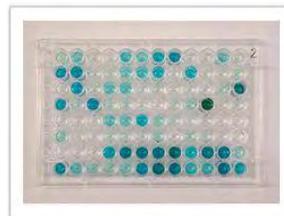
Alta especificidad



Reactivos caros, baja sensibilidad en la infección temprana

Copro-ELISA: detecta componentes del parásito

Simple, buena sensibilidad y especificidad

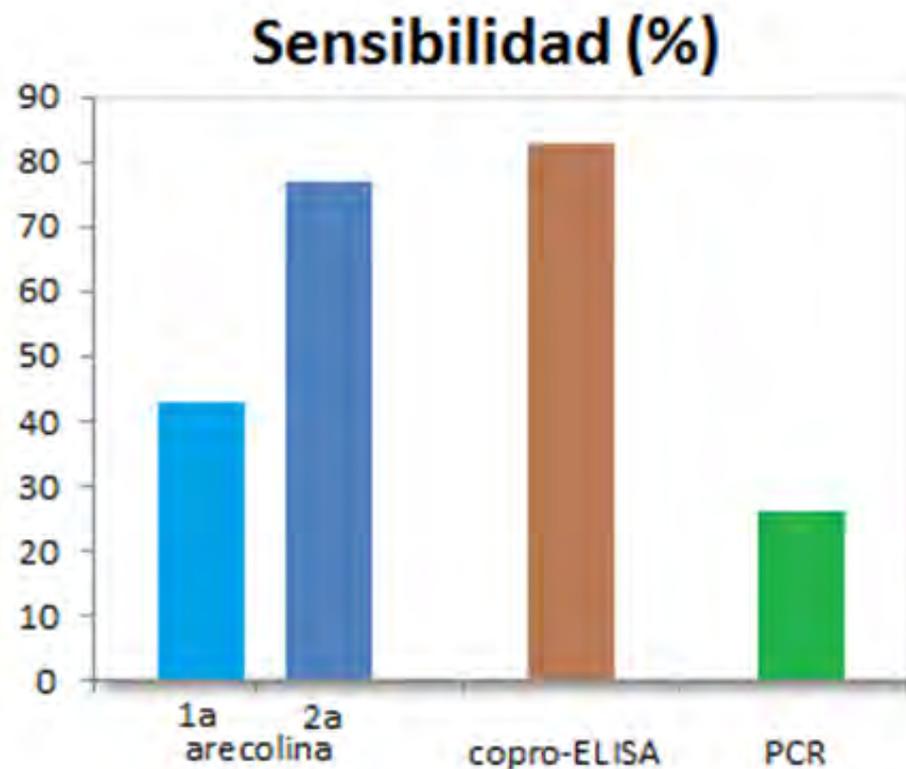


Poco sensible para cargas bajas (<100)

Existe consenso en que la técnica de copro-ELISA es la técnica más adecuada para el monitoreo de la infección canina

Infección experimental pre-patente: 58
perros con infección experimental y análisis por necropsia (19-34 días post infec.)

Copro-ELISA negativo en perros con baja carga, menos de 100 gusanos

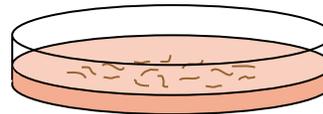


Lahmar S et al. 2007

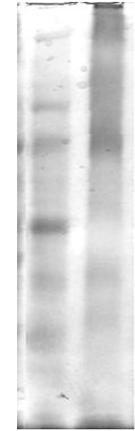
Desarrollo del método de copro-ELISA



Infección experimental en perros

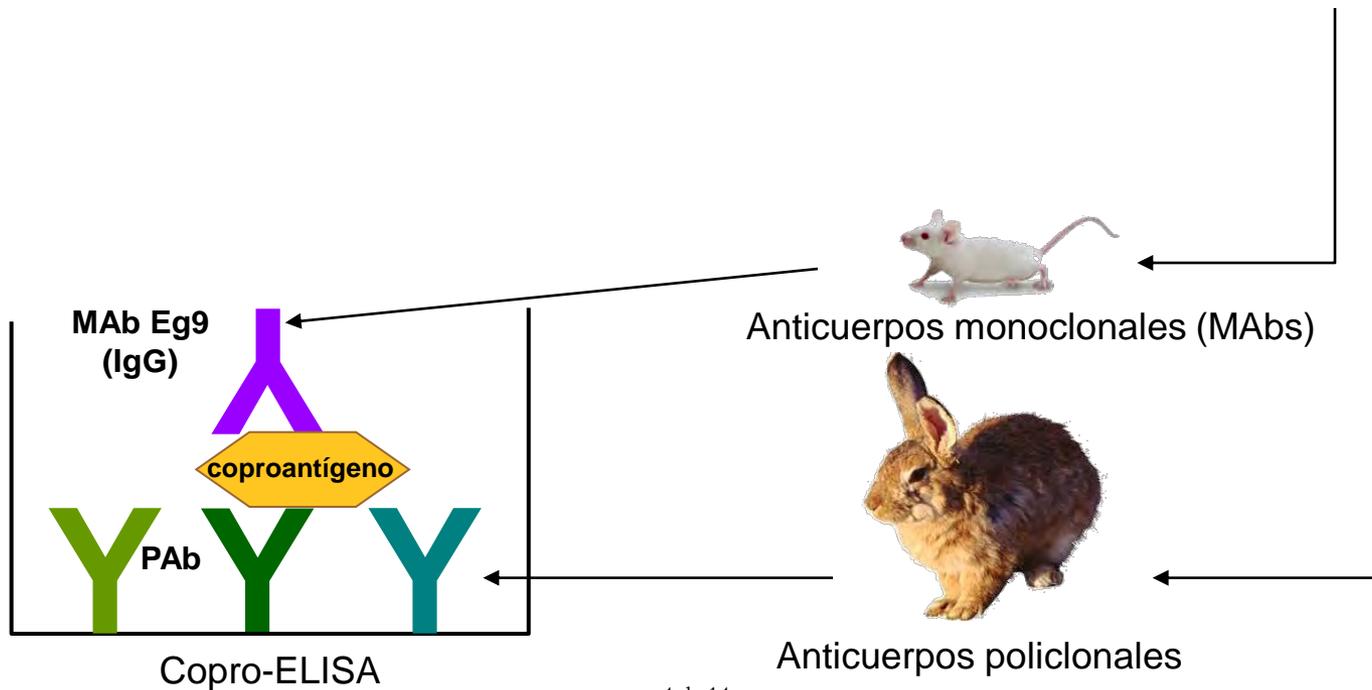


Cultivo de parásitos

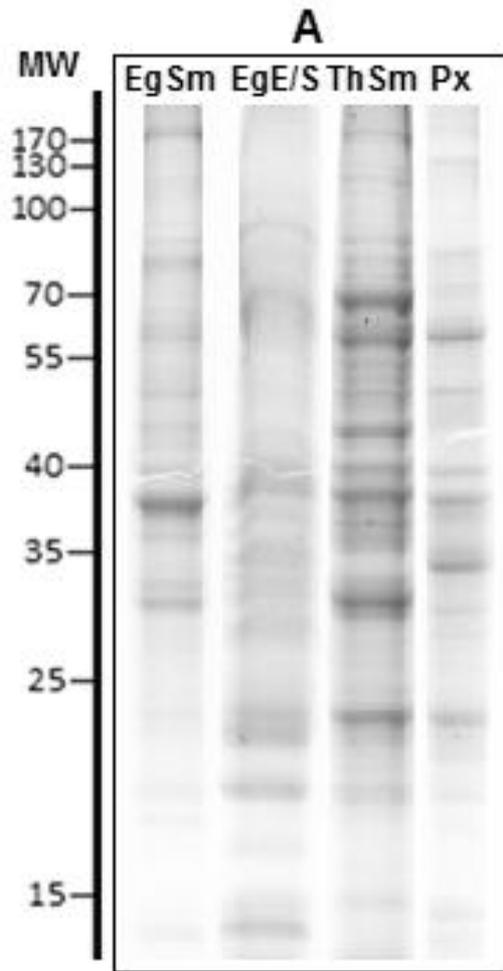


Antígeno
S Ex/Sc

Somático (S) or Excreción/Secreción (E/S)

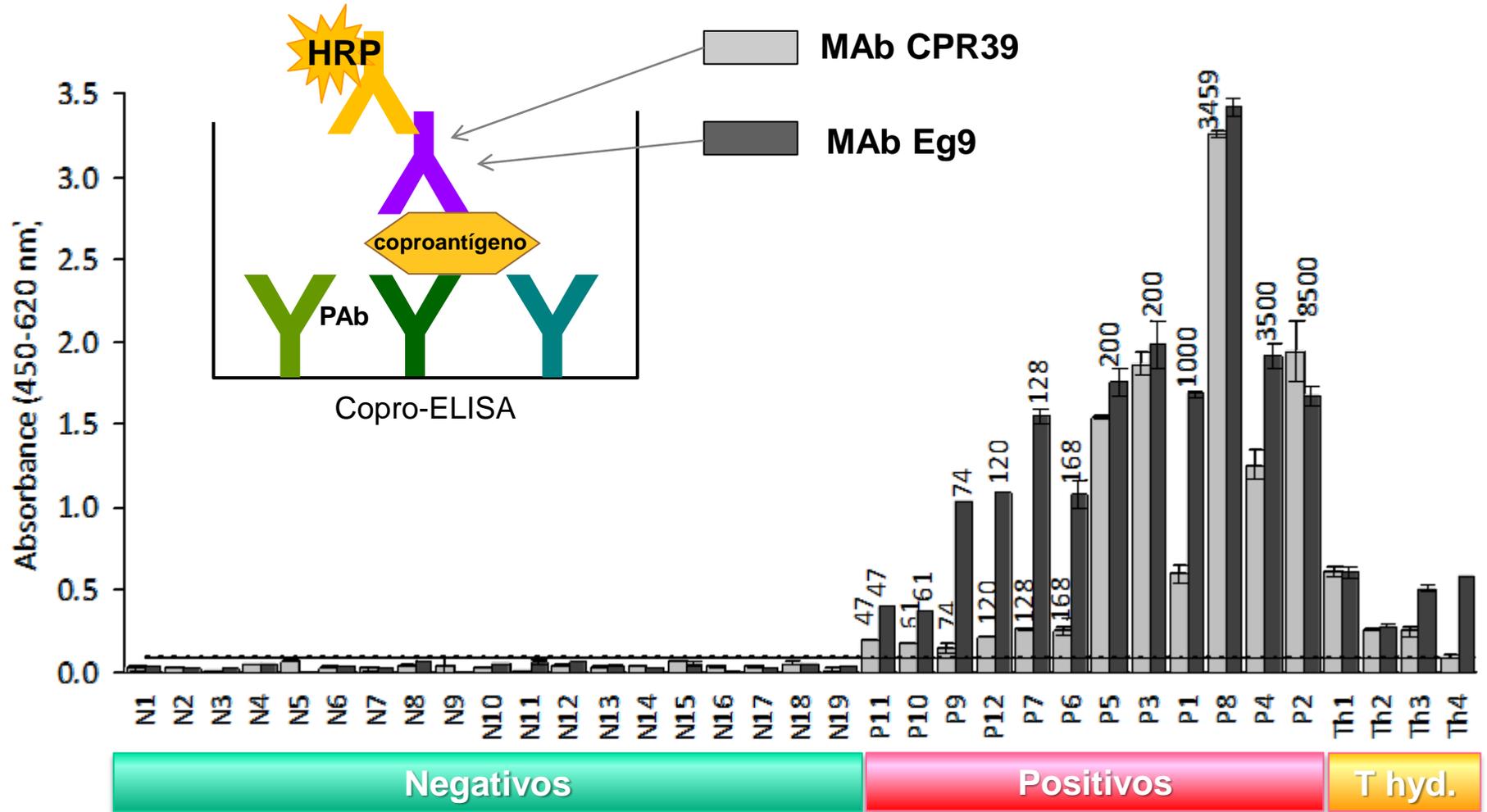


Antígenos utilizados en la inmunización

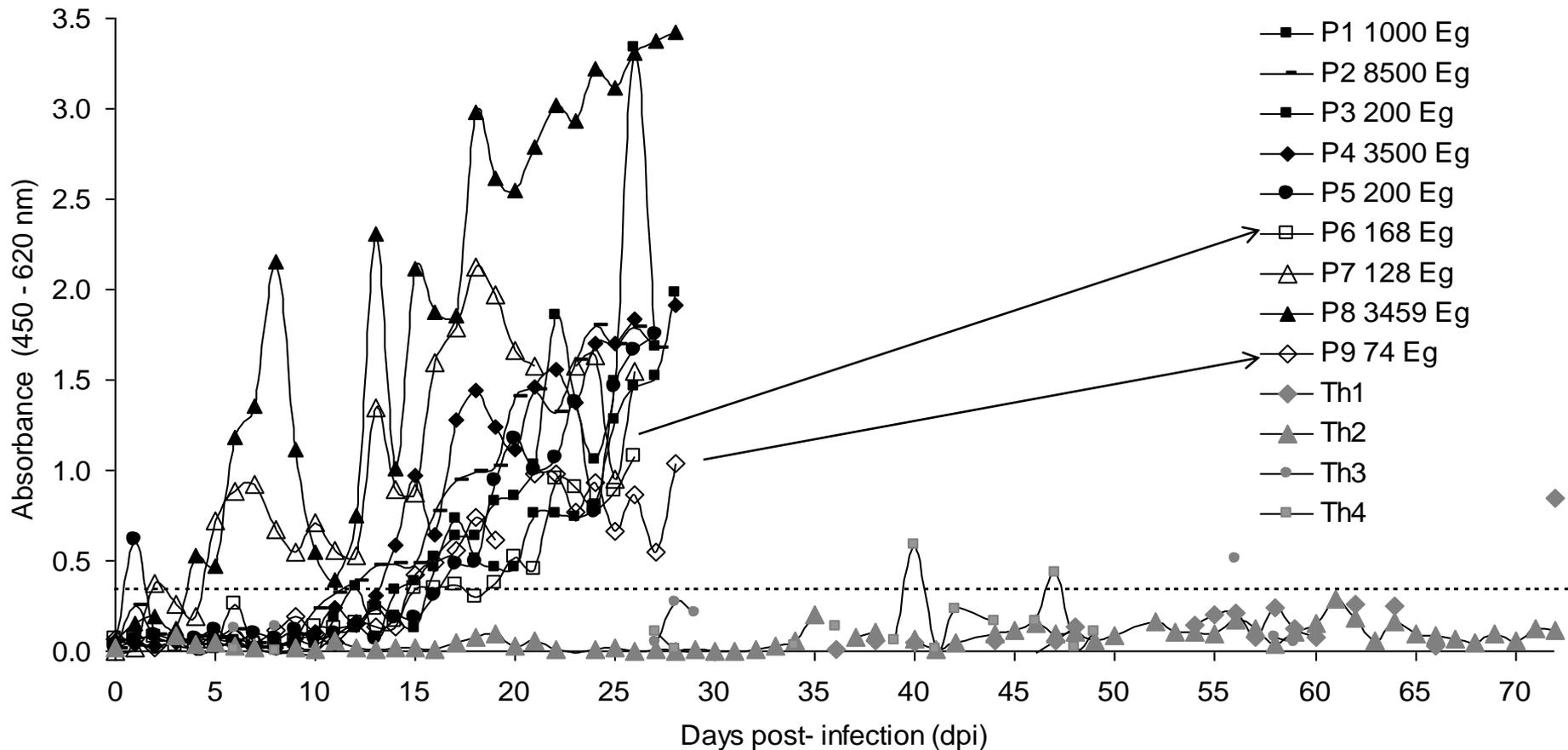


SDS PAGE

Resultados del ensayo en un modelo de infección experimental



Análisis en el tiempo de la reactividad de muestras obtenidas a lo largo de la infección experimental con Eg y Th con el Eg9 copro-ELISA

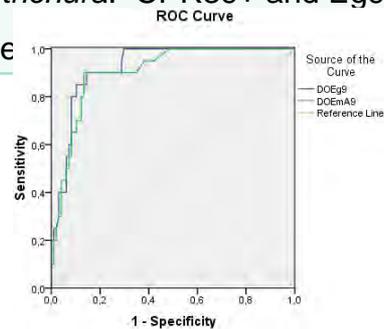


Diagnóstico de perros de campo por necropsia y por copro antígeno (ELISAS CPR39 y Eg9) de la provincia de Chubut, Argentina y Junín, Perú.

Table 1. Analysis of field samples by necropsy and copro ELISA

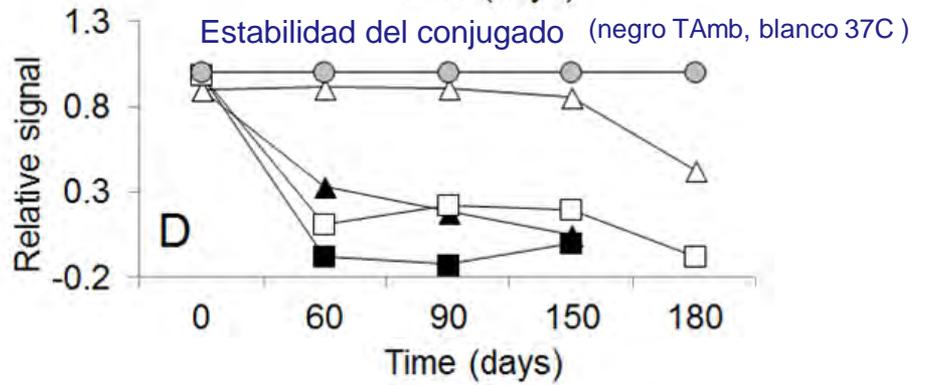
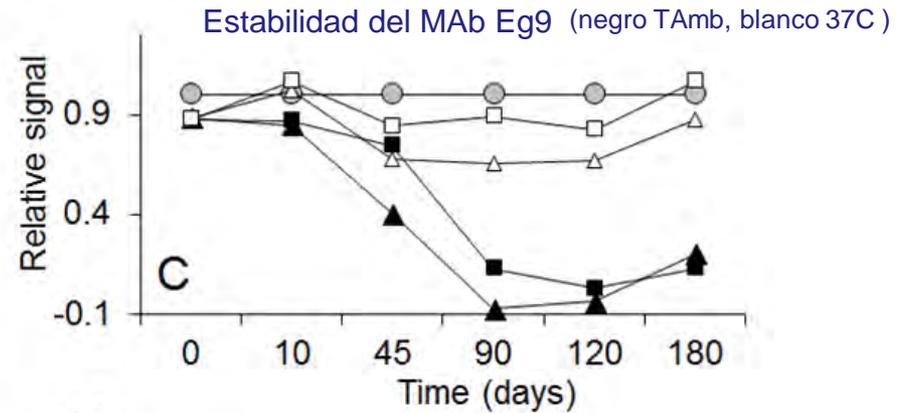
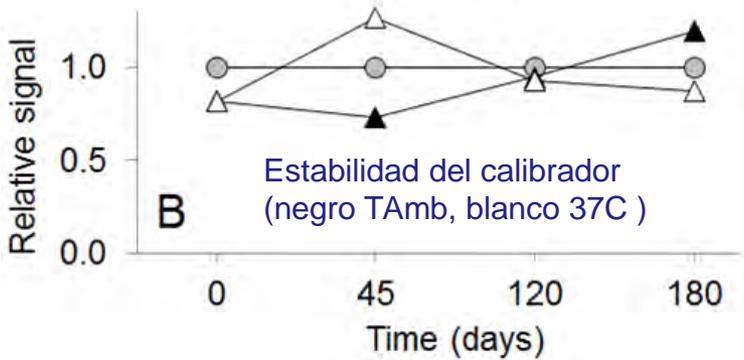
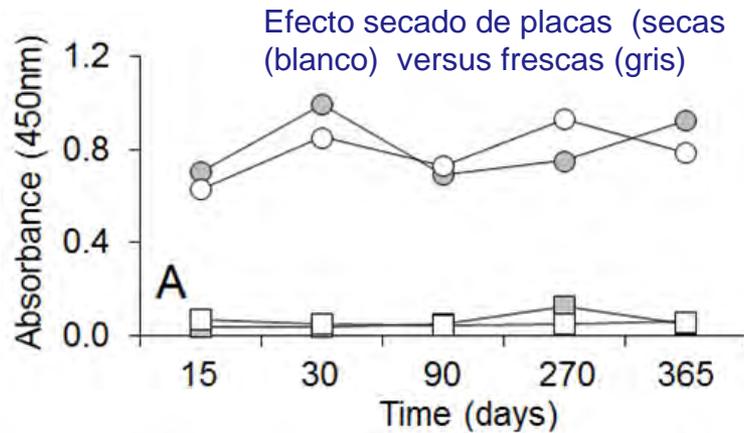
Necropsy results	Total	CPR39 +	Eg9 +
Eg (and others)	15	12	13
Tsp	8	3	3
Tsp To Dc	3	1	3
Tsp To	6	4	3
To	17	1	1
Dc	10	2	0
To Dc	3	0	0
Tt	1	0	0
Negative	33	3	1
Sensitivity		80.0%	86.6%
Specificity		82.7%	86.4%

Eg: *E.granulosus*, Tsp: *Taenia spp*, Dc: *Dipylidium caninum*, To: *Toxocara canis*, Tt: *Trichuris trichura*. CPR39+ and Eg9+ indicate samples classified as positive by the respective



Curvas ROC n= 96
Sensibilidad = **92.6 %**
Especificidad = **86.4 %**

El ensayo se formuló en formato de kit



Estudio piloto multicentro en de dobe ciego con muestras de Chachayllo y JauJa, Perú



Estudio piloto multicentro en de dobe ciego con muestras de Chachayllo y JauJa, Perú

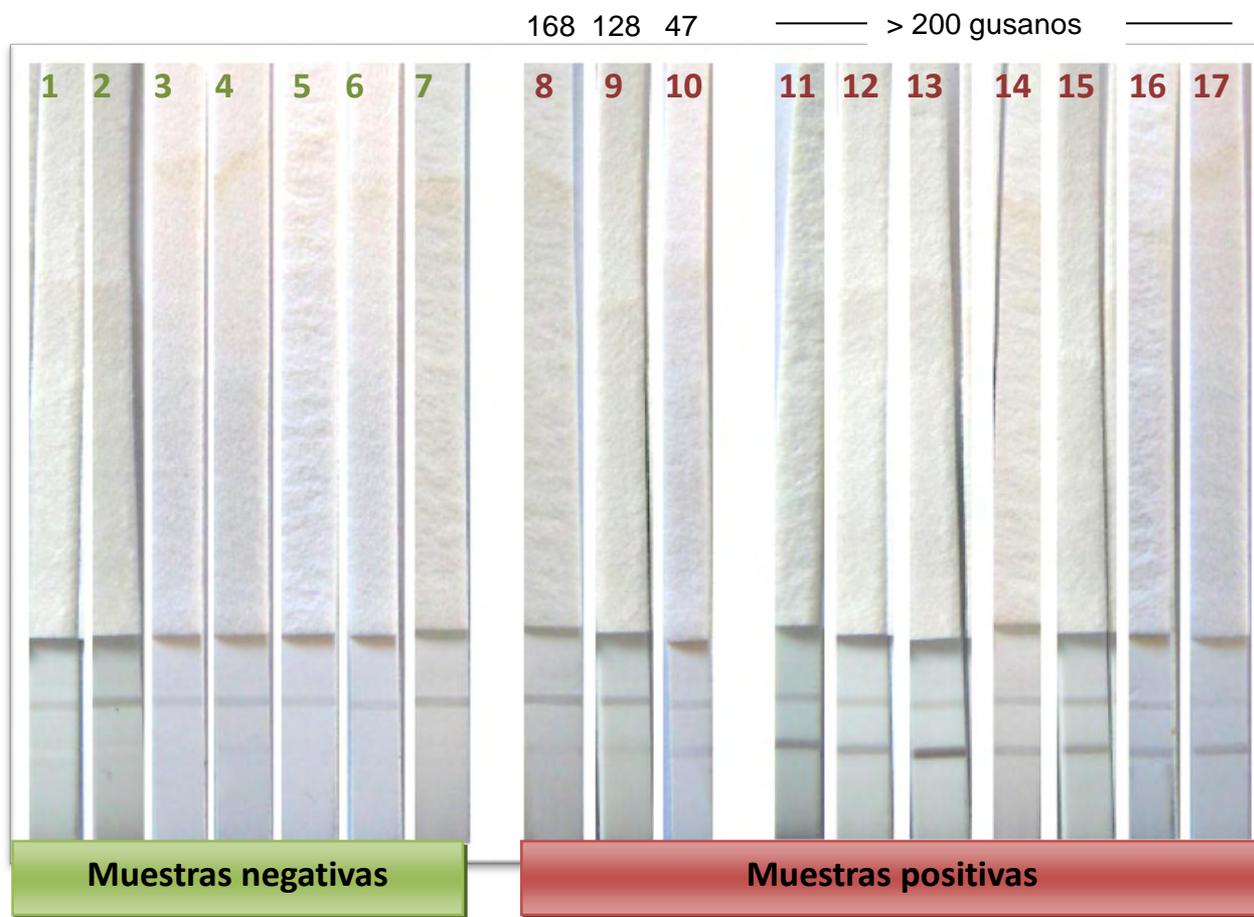
N°	FQ	DIGESA	INS	N°	FQ	DIGESA	INS
1R	1.745	1.593	1.331	27R	0.078	0.180	0,121
2R	0.106	0.395	0,225	28R	2.245	1.887	1.767
3R	0.294	0.346	0,336	29R	0.133	0.179	0,188
4R	0.008	0.200	0,216	30R	0.180	0.232	0,288
5R	0.614	1.206	0,840	31R	2.308	1.624	1.413
6R	1.428	1.983	1.488	32R	0.048	0.103	0,106
7R	0.407	1.024	0,604	33R	0.000	0.067	0,064
8R	0.074	0.345	0,171	34R	0.048	0.179	0,134
9R	0.005	0.170	0,053	35R	0.013	0.049	0,064
10R	1.207	1.375	0,806	36R	2.447	1.451	1.598
11R	0.002	0.250	0,061	37R	0.571	0.567	0,488
12R	0.019	0.160	0,085	38R	0.437	0.427	0,399
13R	-0.007	0.088	0,036	39R	0.091	0.141	0,236
14R	0.386	0.328	0,300	40R	0.611	0.470	0,622
15R	0.011	0.097	0,054	41R	0.163	0.171	0,329
16R	0.172	0.143	0,132	1RN	2.992	1.861	2.203
17R	2.268	2.249	1.591	2RN	0.033	0.069	0,197
18R	1.801	2.019	1.258	3RN	1.163	0.588	0,553
19R	1.265	1.324	0.666	4RN	0.013	0.082	0,042
20R	0.716	1.113	0,661	5RN	3.073	2.108	2.219
21R	1.595	1.715	1.082	6RN	0.044	0.116	0,113
22R	0.269	0.305	0,315	7RN	0.279	0.366	0,312
23R	2.661	2.459	1.877	8RN	2.876	2.165	2.252
24R	2.953	2.440	2.203	9RN	2.849	1.893	1.811
25R	0.113	0.133	0,134	10RN	2.930	1.815	2.092
26R	0.076	0.112	0,083	11RN	0.057	0.143	0,135
Cut off	0.339	0.410	0.403	Cut off	0.339	0.410	0.403

- Positivo
- Negativo
- Indeterminado

**Prevalencia
46.1 %**

Calibrador

Adaptación en formato de flujo lateral: en desarrollo



A Monoclonal Antibody-Based Copro-ELISA Kit for Canine Echinococcosis to Support the PAHO Effort for Hydatid Disease Control in South America

^{1,2}Noelia Morel, ²Gabriel Lassabe, ¹Susana Elola, ¹Mauricio Bondad, ³Silvia Herrera, ⁴Carlos Marí, ⁵Jerold A. Last, ⁶Oscar Jensen, ^{2,*}Gualberto Gonzalez-Sapienza
PLoS NTD (aceptado)

Experiencias de transferencia

Tratado de cooperación Técnica (TCC) de OPS con el INS del Perú 2010-2011
Actualmente relevamiento de aprox. 2000 perros en Puno, Pasco, Junín

Tratado de cooperación Técnica (TCC) de OPS con el INS del Chile 2013

Agradecimientos...

