

Validación analítica de una Fluorimetría en Tiempo Retardado para la detección de anticuerpos anti-*Leishmania* spp. en sueros de zorro (*Vulpes vulpes*)

Pacheco López R¹, Martínez-Carrasco C¹, Martínez Subiela, S², Huertas López A²

¹Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia, España. ²Interlab-UMU, Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia, España.

1. Introducción

La leishmaniosis es una enfermedad parasitaria producida por *Leishmania* spp. que está distribuida globalmente y afecta a un amplio rango de hospedadores.

Aunque el zorro se considera un importante reservorio de este parásito dentro del ciclo silvestre, actualmente no existen pruebas serológicas validadas para detectar la infección en esta especie.

¿Es la Fluorimetría en Tiempo Retardado (TRFIA) capaz de detectar anticuerpos anti-*Leishmania* spp. en el zorro?



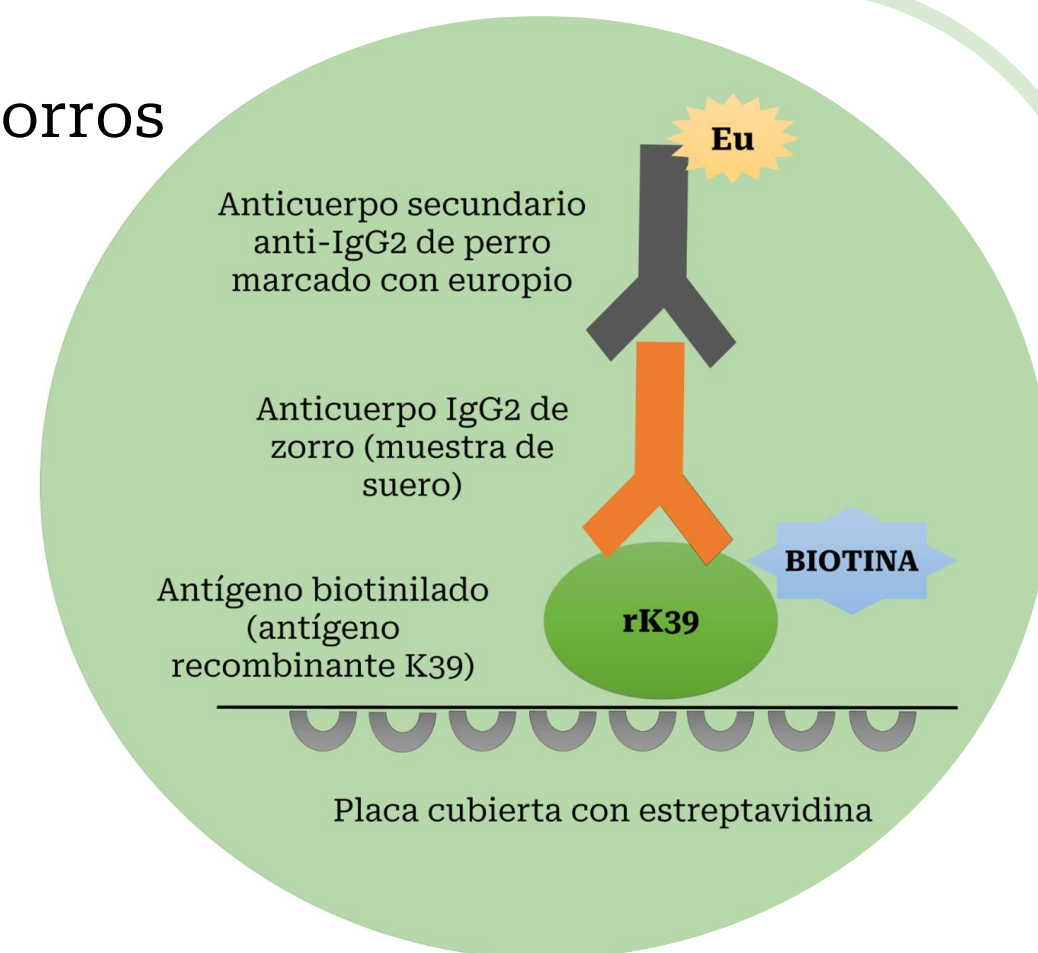
2. Material y métodos

Muestras: suero de dos zorros positivos y uno negativo analizados por PCR.

Técnica: TRFIA basada en el protocolo descrito por Cantos-Barreda et al. (2017).

Validación analítica: Mediante el estudio de:

- **Precisión intra- e interensayo** expresadas ambas como coeficiente de variación (CV). Mide el grado de dispersión de los resultados obtenidos al analizar una misma muestra de forma seriada.
- **Sensibilidad analítica** a partir del límite de detección y de cuantificación de anticuerpos. Se trata de la capacidad que la técnica presenta para detectar cantidades mínimas de anticuerpos anti-*Leishmania* spp.
- **Exactitud** en base a la linealidad bajo dilución y la prueba de recuperación. Establece la concordancia entre el resultado obtenido y el valor esperado.



3. Resultados y conclusiones

PRECISIÓN	Intraensayo (CV%)	4,74-6,64
	Interensayo (CV%)	9,79-10,66
SENSIBILIDAD	Límite detección (UFL) ¹	2,48
	Límite cuantificación (UFL) ¹	2,48
EXACTITUD	Linealidad bajo dilución (R ²)	0,99
	Test recuperación (%)	95,5-106,8

Tabla 1. Resultados de la validación analítica de la TRFIA para la detección de anticuerpos anti-*Leishmania* spp. en sueros de zorro. ¹UFL= unidades de fluorimetría para *Leishmania* spp.

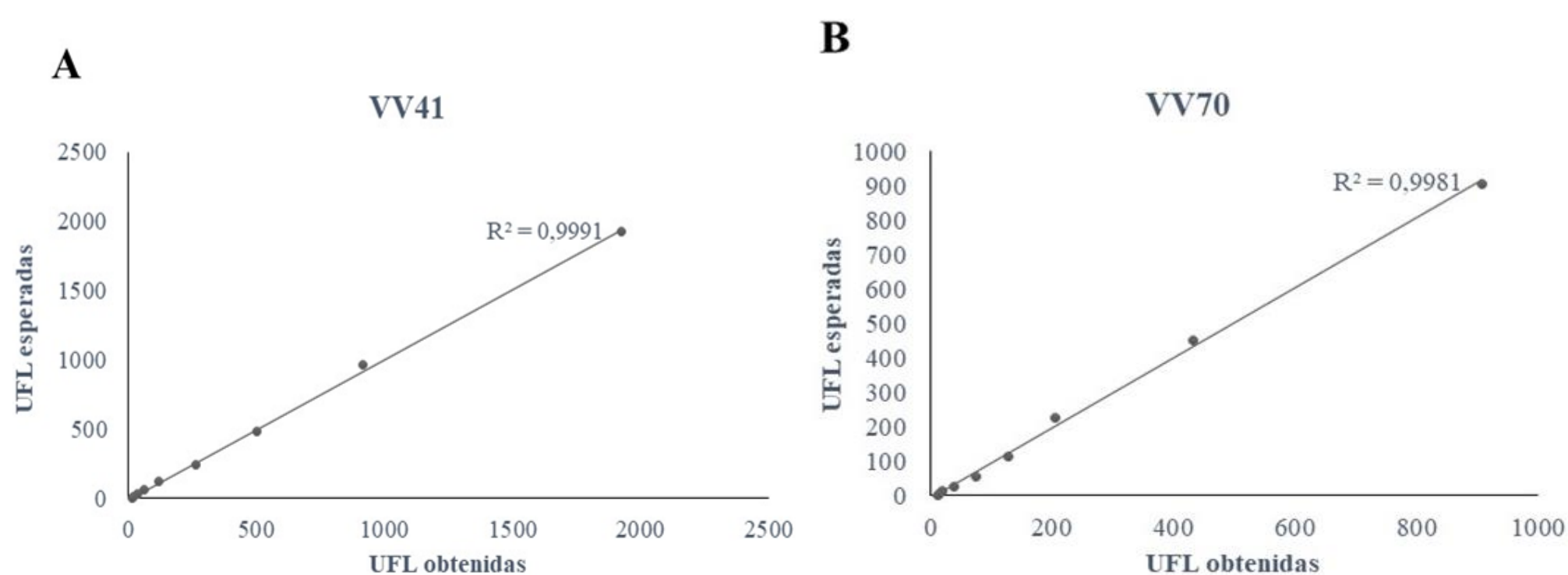


Figura 1. Linealidad bajo dilución de los valores UFL de las muestras con alta (VV41) (A) y baja (VV70) concentración de anticuerpos anti-*Leishmania* spp (B). Coeficiente de determinación (R²). Unidades de fluorimetría para *Leishmania* spp. (UFL).

La técnica TRFIA utilizando el anticuerpo secundario anti-IgG2 de perro es capaz de detectar los anticuerpos anti-*Leishmania* spp. presentes en el suero de zorro con una precisión, una sensibilidad y una exactitud analítica elevadas, con resultados similares a los obtenidos en perros (Cantos-Barreda et al., 2017).

Este ensayo puede servir de precedente para futuras investigaciones en las que se debería realizar una validación diagnóstica con un panel amplio de muestras de suero de zorro positivas y negativas.