

CONFERENCIA PLENARIA

DESARROLLO DE UN EFICIENTE KIT DIAGNÓSTICO PARA LA FÁCIL Y RÁPIDA DETECCIÓN DE PROTOZOOS PARÁSITOS INTESTINALES

Alicia Saura¹, Fernando D. Rivero¹, Cesar G Prucca¹, Pedro G. Carranza¹, Rachel Chambers², Jean Crabtree³, y Hugo D. Lujan¹

¹ Facultad de Medicina, Universidad Católica de Córdoba / CIDIE-CONICET. Córdoba, Argentina.

² UK Cryptosporidium Reference Unit. Singleton Hospital. Swansea. United Kingdom.

³ Institute of Molecular Medicine. St James' University Hospital. Leeds. United Kingdom.

La Giardiosis, la Cryptosporidiosis y la Amebiosis se encuentran entre las infecciones entéricas de mayor prevalencia alrededor del mundo. Debido a su importancia en países menos desarrollados, estas enfermedades han sido recientemente incluidas por la Organización Mundial de la Salud dentro del grupo de “enfermedades olvidadas o descuidadas” (“Neglected Diseases Initiative”). Actualmente los métodos diagnósticos utilizados para estos parásitos patógenos tienen baja eficiencia, son laboriosos, algunos de ellos son costosos, requieren de sofisticado equipamiento y de personal muy bien entrenado. En nuestro laboratorio hemos desarrollado anticuerpos monoclonales (mAbs) capaces de detectar moléculas de la pared quística de *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica/dispar* y antígenos de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. (*C. hominis*, *C. parvum*, *C. felis*, *C. cervine* y *C. meleagridis*), sin presentar reacción cruzada con ningún otro microorganismo intestinal. Estos anticuerpos fueron testeados usando quistes y ooquistes genotipificados por inmunofluorescencia, enzimo-inmuno ensayos, dot y western blotting. Los ensayos mostraron alta especificidad y sensibilidad cuando se analizaron cientos de muestras de materia fecal de pacientes infectados provenientes de varias regiones del mundo. Utilizando estos anticuerpos específicos para *Giardia*, *Entamoeba* y *Cryptosporidium* desarrollamos un kit diagnóstico fácil de usar y de bajo costo en formato de tira reactiva. Los anticuerpos seleccionados se colocaron en una membrana de soporte para lograr la captura de los antígenos de los parásitos provenientes de muestras de materia fecal resuspendidas en agua, la presencia de estos microorganismos se pone en evidencia con el agregado de un segundo mAb marcado con peroxidasa o con partículas de oro. Los controles positivos consistieron en quiste de *Giardia lamblia* generados *in vitro*, moléculas de la pared quística de *Entamoeba* inmunopurificadas y ooquiste de *Cryptosporidium parvum* obtenidos de terneros infectados experimentalmente. Este nuevo método permite una rápida visualización de la presencia de estos parásitos directamente de las muestras de materia fecal con una alta especificidad y sin el uso de ningún equipamiento adicional en sólo 15 min. Además, el kit es capaz de detectar pequeñas cantidades de quistes y ooquistes de las muestras resuspendidas. Este kit diagnóstico en formato de tira reactiva permite analizar un alto número de muestras en paralelo, no requiere personal entrenado ni equipamiento sofisticado, haciendo de del mismo una herramienta valiosa para la detección de estos parásitos en zonas rurales y/o áreas pobres del mundo, así como para viajeros que se desplazan a zonas endémicas donde estos parásitos causales de diarrea son comunes.