



## Prueba de diagnóstico temprano para Quiste Hidatídico en alpacas de alta montaña

Early Diagnostic Test for hydatid cyst in high mountain alpacas

Valencia-Mamani Nicasio<sup>1</sup> • Vilcapaza Quispe, Luz Marina<sup>2</sup> • Reymundo Condor, Blas<sup>3</sup> • Quispe Paredes, Wiliam M.<sup>4</sup> • Lizana -Hilario Epifanio<sup>5</sup> • Carrasco Canepa, Catherine Ch.<sup>6</sup> • Carhuapoma-Delacruz Victor<sup>7</sup>

Recibido: 12 de Julio del 2024 / Aceptado: 04 de Enero del 2025

### RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo como propósito: desarrollar una prueba de diagnóstico temprano para quiste hidatídico en alpacas mediante la técnica de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Se utilizaron los métodos de electroforesis vertical, métodos serológicos de inmunodifusión de gel y la técnica de ELISA como prueba de diagnóstico. Para este proceso se accedieron a 8 muestras de quiste hidatídico de alpaca, seguidamente se determinó viabilidad de los quistes, observando al microscopio los protoescolisis y ganchos del *Echinococcus granulosus*. Luego se continuo con la caracterización de proteínas antigénicas, reconociendo al antígeno Ag5 (subunidades 67.72 y 55.44 KDa) y el antígeno AgB (subunidades 24.57, 16.79 y 12.10 KDa). Para determinar los anticuerpos policlonales anti quiste hidatídico, se inocularon antígenos de alpaca en 2 conejos y la verificación se realizó observando bandas de precipitación en la reacción antígeno-anticuerpo en dilución de 1/16 y concentración de 1.26ug/μL. por el método de inmunodifusión. Al final se utilizó la técnica de ELISA para determinar los anticuerpos contra el quiste hidatídico, obteniéndose una descendida sensibilidad del 13.5% y una especificidad de 57.1%, por reacción cruzada con otras parasitosis por trabajar con antígenos totales. Concluyendo, que se caracterizó los Ag5 y AgB del líquido de quistes hidatídicos de alpacas, se obtuvo anticuerpos policlonales anti-quiste hidatídico en conejos y en la prueba diagnóstica se logró una sensibilidad y especificidad baja.

**Palabras claves:** antígeno, anticuerpos policlonales, caracterización, hidatidosis, protoescoléx.

### ABSTRACT

The purpose of the research work was to develop an early diagnostic test for hydatid cyst in alpacas using the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique. Vertical electrophoresis methods, serological gel immunodiffusion methods and the ELISA technique were used as a diagnostic test. For this process, 8 alpaca hydatid cyst samples were accessed, then the viability of the cysts was determined by observing the protoscolysis and scabs of *Echinococcus granulosus* under a microscope. Then we continued with the characterization of antigenic proteins, recognizing the Ag5 antigen (subunits 67.72 and 55.44 KDa) and the AgB antigen (subunits 24.57, 16.79 and 12.10 KDa). To determine polyclonal anti-hydatid cyst antibodies, alpaca antigens were inoculated in 2 rabbits and verification was carried out by observing precipitation bands in the antigen-antibody reaction at a dilution of 1/16 and concentration of 1.26ug/μL. by the immunodiffusion method. In the end, the ELISA technique was used to determine antibodies against the hydatid cyst, obtaining a low sensitivity of 13.5% and a specificity of 57.1%, due to cross-reaction with other parasites due to working with total antigens. Concluding, that the Ag5 and AgB of the fluid of hydatid cysts of alpacas were characterized, polyclonal anti-hydatid cyst antibodies were obtained in rabbits and a low sensitivity and specificity was achieved in the diagnostic test.

**Keywords:** antigen, polyclonal antibodies, characterization, hydatid disease, protoescoléx

## 1. INTRODUCCIÓN

La hidatidosis es una enfermedad zoonótica causada por *Echinococcus granulosus*. que afecta a humanos y animales (Rojas, 1990; Hajjafari et al., 2024), resultando en su ciclo adulto de importancia clínica ya vive en el intestino delgado del perro (y otros carnívoros) y eliminan huevos periódicamente con las heces, que pueden ser ingeridos accidentalmente por los huéspedes intermediarios, representados por ovejas, vacunos, cabras y otros rumiantes (Schantz et al., 1995; Serra et al., 2022). Si no se toman las medidas correctivas en su control de este parásito pueden ocasionar mortalidades altas del ganado (Almeida F., 2007).

Aparte de los efectos perjudiciales clínicos en los animales, representan consecuencias económicas sustanciales para el criador (Alho et al., 2023). Este parásito reduce la producción de leche y carne en el ganado, resultado como efecto una disminución de la productividad del ganado, causando el sacrificio de animales infectados y afectando directamente a las industrias de la carne y los lácteos (Widdicombe et al, 2022).

✉ Valencia Mamani Nicasio  
Nicasio.valencia@unh.edu.pe

- <sup>1</sup> Laboratorio de Salud Animal, Escuela Profesional de Zootecnia, Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica-Perú.
- <sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- <sup>3</sup> Escuela Profesional de Zootecnia, Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica- Perú.
- <sup>4</sup> Instituto Nacional de Salud, Lima -Perú.
- <sup>5</sup> Laboratorio de Salud Animal, Escuela Profesional de Zootecnia, Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica-Perú.
- <sup>6</sup> Escuela Profesional de Zootecnia, Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica- Perú.
- <sup>7</sup> Centro de Investigación Científica Multidisciplinaria de Ingeniería, Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica- Perú.

En el Perú, el ganado intermediario del *E. granulosus* son principalmente los ovinos, pero también puede encontrarse en el bovino, caprino, porcino y camélido sudamericano (llama, alpaca y

vicuña) y algunos mamíferos silvestres (Moro y Schantz, P. 2009; Naquira, 1994). Sin embargo, sigue siendo difícil de diagnosticar y controlar sin herramientas de diagnóstico precisas y accesibles, por lo tanto, es necesario adoptar un enfoque de una Salud para la equinococosis quística (Peruzzo et al., 2022).

El antígeno más usado para la preparación de reactivos de diagnóstico, es el líquido hidatídico de ovino, debido a su fertilidad y propiedades antigénicas (Oriol, R., et al 1971).

Por otro lado, Rigano, R., et al (2007), revela que, el quiste hidatídico desencadena una respuesta inmune predominantemente Th2, con la producción de inmunoglobulinas I(gM, IgE e IgG), destacándose a la IgG1 e IgG4 (Grimm, 1998; Daeki, 2000), las cuales están dirigidas a diferentes componentes antigénicos del quiste hidatídico, siendo los de mayor relevancia el antígeno 5(Ag5) y el antígeno B(AgB) (Siracusano, 1991). El Ag5 es un complejo de lipoproteína compuesto por fragmentos de 57 y 67 KD, los cuales bajo condiciones de reducción se disocian en subunidades de 38 y 22 a 24 KD. Este antígeno es compartido por varios parásitos, incluso pacientes sanos tienen anticuerpos que reconocen epítopes del Ag5. El AgB, el cual constituye 10% del contenido total del líquido hidatídico que es una lipoproteína termoestable de 160 KD, la cual produce subunidades de 8 o 12, 16 y 20 o 24 KD en electroforesis en gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) en condiciones reductoras (Lightowers, MW., et al 1989). Estas proteínas antigénicas son las más caracterizadas que se encuentran en el líquido hidatídico de un quiste hidatídico de los animales susceptibles a esta patología.

En la actualidad es escaso las investigaciones de inmunodiagnóstico en alpacas, específicamente en herramientas de diagnóstico de quiste hidatídico causadas por *Echinococcus granulosus* en canes altoandinos (perros y zorros), pero si hay reportes de caracterización en otras especies animales incluido el ser humano. Por lo que debe de haber un método de inmunodiagnóstico temprano de enfermedades parasitarias e infecciosas, que potencialmente sean aplicables a toda población de alpacas de la región, con alta sensibilidad y especificidad. Nuestro trabajo de investigación consistió en desarrollar una prueba de diagnóstico temprano para quiste hidatídico en alpacas mediante la técnica de ELISA, así mismo caracterizar los antígenos de los

quistes hidatídicos de alpacas infectadas naturalmente, determinar anticuerpos anti-quiste hidatídicos de conejos y se determinar su

sensibilidad y especificidad en la prueba de diagnóstico.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo de investigación se inició con la toma de muestras en el Camal Municipal de Huancavelica, situado en la comunidad de Chuñuranra, distrito, provincia y departamento de Huancavelica ubicada a una altitud de 3710 m.s.n.m., y el análisis de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Salud Animal de la Escuela Profesional de Zootecnia de la Universidad Nacional, ubicada en ciudad universitaria de Paturpampa. Las muestras analizadas fueron replicadas para la confirmación de resultados, en el Laboratorio de Zoonosis del Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

La población estuvo constituida por alpacas adultos que fueron positivas a quiste hidatídico previo al diagnóstico de todos los animales que ingresaron al camal municipal de Huancavelica entre los meses de enero a diciembre del 2014. El muestreo fue no probabilístico, por lo que se consideró según el criterio del investigador en base al análisis de fertilidad, mediante la observación de protoescoliosis y ganchos de metacestode del *E. granulosus*. Las muestras de sangre fueron extraídas a nivel de la vena yugular de las alpacas antes del proceso del faenado y se tomaron muestras de vísceras (hígado y pulmón) post mortem con presencia de quistes y fueron remitidas al laboratorio. Para el estudio definitivo los quistes hidatídicos fueron sometidas al análisis de fertilidad, resultando 8 muestras positivas que fueron consideradas para el estudio. Las técnicas utilizadas fueron: a) Electroforesis en geles de poliacrilamida SDS-PAGE al 15%, b) Inmunodifusión de Gel para los anticuerpos policlonales (anti alpaca), y c) Inmunodiagnóstico de (ELISA IgG) para detección del antígeno-anticuerpo de alpacas.

### Recolección y análisis de muestras.

La obtención del líquido hidatídico de los quistes hidatídicos de alpacas, se realizaron mediante el

manual de procedimientos para el diagnóstico serológico de las zoonosis parasitarias elaborados por Sánchez et al. (2010), que consistieron en extraer el líquido hidatídico asépticamente (con jeringa de 15mL) de los quistes hidatídicos de alpacas y transfiriéndose en frascos cónicos estériles (de 15- 50mL) y fueron sometidos a decantación y centrifugación a 5000 RPM por 30 minutos a 4°C, el sobrenadante fueron recolectadas mediante el micro pipeteo y conservándose a -20 °C. para la confirmación de la presencia de protoescoliosis que demuestren la fertilidad y viabilidad de las larvas de *Echinococcus granulosus* que se observó al microscopio a resoluciones de 10x y 40x.

### Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE 15%) para separación de proteínas del ATLH.

Se procedió de acuerdo al manual de procedimientos para el diagnóstico serológico de las zoonosis parasitarias elaborados por Sánchez et al. (2010)

### Obtención del suero hiper-inmune de los conejos.

Se adaptaron el protocolo establecido por Mamuti et al. (2002). Para lo cual, se utilizó el líquido hidatídico de alpaca centrifugado. Se filtró 30 mL del ATLH con filtros de 0.22 um, y se agregó el adyuvante completo e incompleto. Luego esta emulsión se administró al conejo vía intramuscular e intravenoso. Al término de la primera semana de tratamiento se extrajo sangre de ambos conejos 3 ml de sangre, al centrifugar se obtuvo en promedio 1 ml de suero. Luego se pasó a realizar la técnica de Inmunodifusión en gel, siendo las diluciones tituladas a 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 (ul/diluciones), ver tabla 1 y 2.

**Tabla 1:** Aplicación de antígeno de alpaca para obtener anticuerpos policlonales de conejos, vía intramuscular.

Nº	Semanas	Antígeno Alpaca	Adyuvante	Volumen total del inmunógeno (mL)
1	Primera semana	0.75 mL ATLH-Alpaca	0.75 mL de adyuvante completo de Freund	1.5
2	Segunda semana	0.75 mL ATLH-Alpaca	0.75 mL de adyuvante	1.5

3	Tercera semana	0.75 mL ATLH-Alpaca	incompleto de Freund 0.75 mL de adyuvante incompleto de Freund	1.5
4	Cuarta semana	0.75 mL ATLH-Alpaca	0.75 mL de adyuvante incompleto de Freund	1.5
5	Quinta semana	0.75 mL ATLH-Alpaca	0.75 mL de adyuvante completo de Freund	1.5
6	Prueba exploratoria (sexta semana)	4 mL de suero del conejo		

**Tabla 2:** Aplicación de antígeno de alpaca para obtener anticuerpos policlonales de conejos, vía intravenoso.

N.º	Semanas	Antígeno Alpaca	Adyuvante	Volumen total del inmunógeno (mL)
1	Primera semana	0.5 mL ATLH-Alpaca	0.5 mL de adyuvante completo de Freund	1
2	Segunda semana	0.5 mL ATLH-Alpaca	0.5 mL de adyuvante incompleto de Freund	1
3	Tercera semana	0.5 mL ATLH-Alpaca	0.5 mL de adyuvante incompleto de Freund	1
4	Cuarta semana	0.5 mL ATLH-Alpaca	0.5 mL de adyuvante completo de Freund	1
	Prueba exploratoria (sexta semana)	4 mL de suero del conejo		
	Sangría total (séptima semana)	25 mL de suero del conejo obtenido esterilizado por filtración		

### Inmunoensayo por el método de ELISA IgG para el diagnóstico de hidatidosis en alpacas

El procedimiento del inmunoensayo por el método de ELISA, se realizó conforme a Sánchez EL *et al.*, (2010).

### 3. RESULTADOS

Caracterización de antígenos de los quistes hidatídicos de alpacas infectadas naturalmente.

En la caracterización de antígenos del líquido de quiste hidatídico de alpacas infectadas naturalmente, se encontró dos tipos de antígenos

Para los análisis estadísticos, la base de datos fue digitados en Excel, y procesados con el programa Epidat v.3.1 (Daniel, WW. 2004).

Ag5 y AgB, que en sus condiciones reductoras se presentan como 67.62 KDa y 55.44 KDa para el Ag5 y 24.57 KDa, 16.79 KDa y 12.10 KDa para el AgB. Siendo estas dos proteínas de importancia diagnóstica para la hidatidosis en alpacas como se aprecia en la tabla 3.

**Tabla 3.** Caracterización proteica de Antígeno Total de Líquido Hidatídico de Alpaca (ATLH) por el peso molecular y factor de migración en geles de poliacrilamida (SDS PAGE al 15%, 15 uL), n=8.

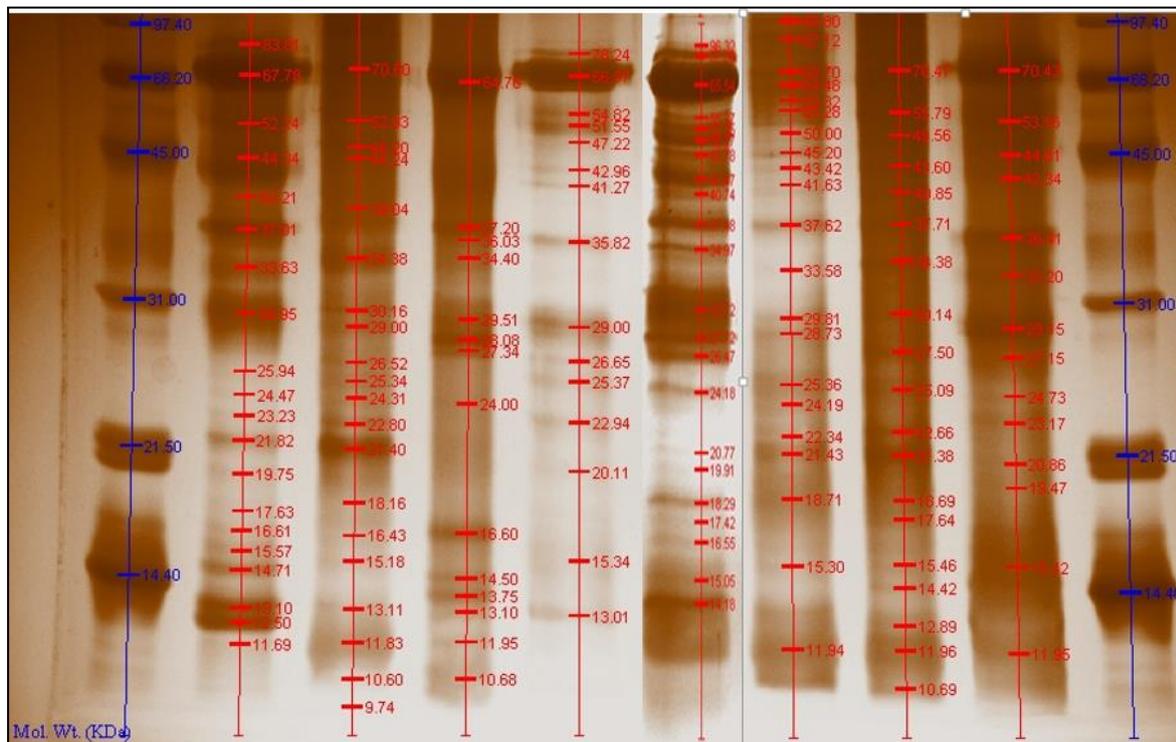
Items	Peso molecular (kDa)									Promedio (X)	Desv. Estandar (DS)
	(ESTANDAR)	(ATLH-A6)	(ATLH-A7)	(ATLH-A8)	(ATLH-A18)	(ATLH-A18A)	(ATLH-A19)	(ATLH-A21P)	(ATLH-A21H)		
1	97.4	0.00	0.00	0.00	0.00	96.31	0.00	0.00	0.00	96.31	0.000
2		81.64	0.00	0.00	0.00	87.08	88.65	0.00	0.00	85.79	1.107
3		0.00	0.00	0.00	77.83	0.00	0.00	0.00	0.00	77.83	0.000
4	66.20	66.93	68.44	0.00	67.15	65.54	69.05	0.00	68.61	67.62	1.323
5		0.00	64.00	64.19	0.00	0.00	62.32	0.00	0.00	63.50	1.032
6		55.37	56.05	0.00	0.00	55.37	0.00	0.00	55.00	55.44	0.438
7		52.24	0.00	0.00	51.93	52.35	53.01	0.00	0.00	52.38	0.453
8		0.00	0.00	0.00	48.19	49.27	0.00	0.00	48.16	48.54	0.518
9	45.00	0.00	46.70	0.00	0.00	45.78	45.27	0.00	0.00	45.92	0.720
10		43.42	43.69	0.00	43.19	42.47	43.46	43.36	43.72	43.33	0.422
11		0.00	0.00	0.00	41.50	40.74	41.93	0.00	0.00	41.39	0.493
12		0.00	0.00	0.00	39.87	0.00	0.00	0.00	0.00	39.87	0.000
13		37.18	38.12	37.13	0.00	37.48	37.66	37.56	0.00	37.52	0.360
14		0.00	0.00	0.00	35.89	0.00	0.00	0.00	36.23	36.06	0.241
15		33.84	33.89	34.86	0.00	34.97	0.00	34.31	33.15	34.17	0.686
16	31.00	30.00	30.11	30.55	0.00	29.72	0.00	0.00	0.00	30.10	0.346
17		0.00	29.10	28.36	29.22	27.72	28.75	0.00	29.25	28.73	0.598
18		0.00	27.17	0.00	0.00	26.47	0.00	27.50	27.06	27.05	0.431
19		0.00	24.97	24.10	0.00	24.18	0.00	25.04	24.64	24.57	0.436
20		22.03	22.90	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	23.49	22.81	0.734
21	21.5	0.00	21.47	20.91	0.00	20.72	21.35	21.36	0.00	21.16	0.325
22		0.00	0.00	0.00	0.00	19.57	0.00	19.21	0.00	19.39	0.255
23		0.00	0.00	0.00	0.00	18.29	18.49	0.00	0.00	18.39	0.146
24		0.00	0.00	0.00	0.00	17.34	0.00	0.00	0.00	17.34	0.000
25		0.00	17.53	16.77	0.00	16.52	0.00	16.34	0.00	16.79	0.524
26		15.83	0.00	0.00	0.00	15.05	0.00	15.23	15.11	15.30	0.357
27	14.40	14.87	0.00	14.50	0.00	14.18	0.00	0.00	0.00	14.51	0.346
28		13.29	13.18	0.00	0.00	0.00	0.00	13.98	0.00	13.48	0.431
29		12.71	11.99	11.66	0.00	0.00	11.72	12.20	12.34	12.10	0.362
30		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.60	10.94	0.00	10.77	0.242
Total de bandas		13	16	10	9	22	13	12	12		

Antígeno de alpaca: Amarillo Ag 5 y Verde Ag B

En la figura 1 observamos 8 lotes de ATLH provenientes del departamento de Huancavelica que fueron coloreados con nitrato de plata; en los carriles 1 y 10: marcador de peso molecular, carril 2: ATLH-A6, carril 3: ATLH-A7, carril 4: ATLH8, carril 5: ATLH-A18, carril 6: ATLH-

A18A, carril 7: ATLH-A19, carril 8: ATLH-A21P y carril 9: ATLH-A21H. Los principales pesos moleculares de los antígenos son calculados por el Rf que fueron calculados por el software Imaging System (Biorad).

**Figura 1.** Caracterización proteica de Antígeno Total de Líquido Hidatídico de Alpaca (ATLH), por el peso molecular utilizando el colorante de nitrato de plata en geles de poliacrilamida (SDS PAGE al 15%), n=8.



#### Determinación de anticuerpos – Quiste hidatídicos de alpacas infectadas naturalmente

**Tabla 4.** Determinación de la concentración mínima de los anticuerpos policlonales anti – quiste hidatídico desarrollado de conejo mediante la técnica de Inmunodifusión en gel de agarosa al 1%.

Numero de semanas	Dilución ATLH-A [1.26 µg/µL]							
	Esquema 1 (intramuscular)				Esquema 2 (intravenoso)			
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16
Semana 1	+	+	-	-	+	+	-	-
Semana 2	+	+	+	-	+	+	+	+
Semana 3	+	+	+	+	*	*	*	*

\* Muerte del Conejo

En la tabla 4. Se pueden observar que los conejos lograron desarrollar los antisueros policlonales anti – quiste hidatídico para alpaca hasta en una dilución de 1/16 a una concentración de 1.26ug/µL. La inmunización a nivel intravenoso tuvo una mejor reacción inmune a las dos semanas de haber recibido antígenos totales de líquido del quiste hidatídico. El conejo tratado en forma intramuscular logra desarrollar los antisueros policlonales a una titulación de 1/16 a la tercera semana, los antisueros policlonales se pudieron observar y cuantificar.

## Sensibilidad y especificidad de la prueba de diagnóstico.

**Tabla 5.** Sensibilidad y especificidad de la técnica de ELISA IgG utilizando ATLN-A para la detección de anticuerpos circulantes de hidatidosis en sueros de alpacas.

Suero	ELISA IgG - Alpaca		TOTAL
	Positivos (%)	Negativos (%)	
Quistes hidatídicos	5	6	11
Negativos y otros parásitos	32	8	40
TOTAL	37	14	51
Sensibilidad	13.5	-	-
Especificidad	57.1	-	-

Para determinar el valor diagnóstico de la prueba de ELISA IgG, las muestras fueron procesadas por triplicado, las lecturas se realizaron a 492 nm y se usó el valor de corte de 0.223 del promedio de todos los sueros negativos por dos desviaciones estándar. Obteniendo, sensibilidad del 13% y especificidad de 57.1%, muy bajo para generar pruebas inmunodiagnósticos (tabla 5).

## 4. DISCUSIÓN

Se encontró los 2 tipos de antígenos (Ag5 y AgB), estos antígenos proteicos halladas son de importancia diagnóstica para determinar la enfermedad de hidatidosis en humanos y animales de interés zootécnico. Este resultado, coincide con Vildózola, et al., (2012) y Sánchez, F. (1992), manifiestan que los quistes de ovinos y humanos son los que poseen una mayor concentración de los antígenos Ag5 y AgB. Por otra parte, existe diferencias mínimas con Di Felice et al., (1986), que son atribuidos a las variaciones de la técnica y en el cálculo de peso molecular (PM), también puede estar relacionado con el procesamiento de las muestras con pequeñas variaciones metodológicas existentes entre las diferentes caracterizaciones. Por otro lado, Miranda et al., (2010) encontró las siguientes bandas: 11, 14, 16, 21, 25, 31, 33, 38, 45, 66, 93 y 98 KDa. Esta desigualdad con nuestro trabajo, se debería a que utilizo líquido de quiste hidatídico totales de ovinos y caprinos. Del mismo modo, los antígenos del líquido del quiste hidatídico, son la fuente principal de material antigénico para el inmunodiagnóstico de la Equinococosis Quística (Zhang W., et al 2003; Li, J., et al 2003) Para el análisis de los anticuerpos de conejo, la técnica de doble difusión en gel se ha incorporado al diagnóstico de numerosas afecciones (Guisantes, J. y Yarzabal, L. 1975). Los autores analizaron la posibilidad de aplicación de la técnica de doble difusión en gel de agarosa en el diagnóstico de la hidatidosis, para lo cual

emplearon como antígeno el líquido hidatídico bovino, liofilizado y estandarizado mediante análisis inmunoelectroforético. Al realizar la técnica de la doble Inmunodifusión en gel se pudo observar la presencia de bandas de precipitación entre antígenos y anticuerpos, siendo estas de líneas bien pronunciadas, la cual coincide según el manual de métodos inmunológicos (Lomonte, 2007). Esto nos hace saber, que efectivamente el conejo ha desarrollado el anticuerpo frente a los antígenos del líquido hidatídico de la alpaca.

En nuestro trabajo de investigación para la respuesta inmunológica, los conejos fueron inmunizados con el líquido total del quiste hidatídico de alpaca y el coadyuvante de Freund (Sigma) completo e incompleto de acuerdo al esquema 1 (intramuscular) y del esquema 2 (intravenoso). De acuerdo al protocolo de inoculación, esto con la finalidad de obtener los antisueros policlonales (Pérez, M., 1970). Logrando desarrollar los anticuerpos policlonales anti – quiste hidatídico de alpaca en conejos, hasta una dilución de 1/16 a una concentración de 1.26ug/ $\mu$ L. De forma similar en Chile Vargas, D., et al (2005), obtuvo los anticuerpos policlonales de conejos (SPF) dirigidos contra antígenos de líquido de quiste hidatídico (SPCLH) de bovinos, esta se efectuó por inoculación, según procedimiento descrito establecidos (Craig P. y Allan J., 1994), al día 42 le extrajo sangre a los conejos, la cual fue centrifugada e inactivada (56°C por 30 minutos). Esta diferencia de tiempo para obtener los sueros anti-quiste hidatídico se puede deber a las diferentes técnicas, equipos y laboratorio de procesamiento de proteicos y conejos.

Las técnicas de tamizaje inmunoenzimáticas como ELISA proporcionan información vital en los programas de control de las enfermedades parasitarias, ya que permiten estudiar un gran número de muestras, presentando sensibilidades elevadas. Nuestra prueba presento

una sensibilidad 13.5% y una especificidad de 57.1%, muy por debajo a los resultados en otras especies y en humanos. En investigaciones realizados por Irabuena O., et al (2000) en humanos, usando en ELISA con líquido de quiste hidatídico bovino (BHCF) obtenidos de quiste fértiles (FC) mostró 81% de sensibilidad y 95% de especificidad, mientras que 44% observaron una sensibilidad y una especificidad del 84 % con BHCF de quiste no fértiles (NFC). En ambos casos lo resultados, se debería a que el Ag5 reacciona de forma cruzada con anticuerpos de parásitos cestodos, trematodos y nematodos y parte de esta reactividad cruzada está asociada con la presencia de fosforilcolina unida a su subunidad de 38 kD (Lightowers, MW., et al 1989). Como en el caso de otros helmintos, la reacción cruzada también puede estar asociada con epítomos de carbohidratos (Dunne, D.W., et al. 1988), lo que reduce la especificidad y la sensibilidad de los ensayos de diagnóstico en humanos y animales domésticos y silvestres, sería uno de fundamentos para la baja sensibilidad. Debido a la naturaleza bioquímica

## 6. AGRADECIMIENTOS

Agradecer al proyecto FOCAM de la Universidad Nacional de Huancavelica, por financiar este trabajo de investigación que fue realizado en los laboratorios de salud animal de la Escuela Profesional de Zootecnia

## 7. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Almeida F., Rodrigues-Silva R., Neves R., Román E. and Machado-Silva J. 2007. Intraespecific variation of *Echinococcus granulosus* in livestock from Peru. *Veterinary Parasitology*. 147: 50 – 58.
- Alho, A. M., Dias, M. C., Cardo, M., Aguiar, P., & de Carvalho, L. M. (2023). The Evolution of Cystic Echinococcosis in Humans and Ruminants in Portugal-A One Health Approach. *Veterinary sciences*, 10(9), 584
- Craig, P. S., Gasser, R. B., Parada, L., Cabrera, P., Parietti, S., Borgues, C., & Paolillo, E. (1995). Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. *Veterinary parasitology*, 56(4), 293-301.
- Daniel, WW. (2004). *Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud*. Editorial Limusa Wiley \WAYNE W. DANIEL.
- Daeki, AO. (2000). IgG-subclass antibody responses and the natural history of hepatic

compleja del antígeno hidatídico, es necesario estandarizar el líquido hidatídico para un diagnóstico satisfactorio con el fin de obtener resultados confiables y reproducibles cuando se utiliza líquido hidatídico bovino crudo (Irabuena, O., et al 2000).

## 5. CONCLUSIONES

Se encontró los antígenos Ag5 y AgB en alpacas, además se desarrollaron los anticuerpos policlonales anti-quiste hidatídico en conejos, la prueba de diagnóstico por la técnica ELISA IgG usando ATLH es insuficiente debido a que presenta una sensibilidad de 13.5% y una especificidad de 57.1%. Pero, se debe continuar con futuros trabajos de pruebas inmunodiagnósticas, enfatizando en la búsqueda de la pureza de los antígenos para evitar los cruzamientos moleculares con otros microorganismos.

cystic echinococcosis in asymptomatic patients. *Ann Trop Med Parasitol*; 94: 319-328.

Di Felice, G., Pini, C., Afferni, C., Vicari, G. (1986). Purification and partial characterization of the major antigen of *Echinococcus granulosus* (antigen 5) with monoclonal antibodies. *Parasitologia Molecular y Bioquímica*. 20 (2). 133-142.

Dunne, DW.; Grabowska, AM.; Fulford, AJ. et al. (1988). Human antibody responses to *S. mansoni*: the influence of epitopes shared between different lifecycle stages on the response to the schistosomulum. *Europ. J. Immun.*, 18: 123-131.

Guisantes, J. A., & Yarzabal, L. A. (1975). Diagnóstico de la hidatidosis mediante la doble difusión en gel. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*; 78 (3), mar. 1975.

Grimm, F. (1998). Analysis of specific immunoglobulin G subclass antibodies for serological diagnosis of echinococcosis by standard enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diag Labor Immunol*; 5: 613-616.

Hajjafari, A., Sadr, S., Santucci, C., Masala, G., Bayat, M., Lotfalizadeh, N., Borji, H., Partovi Moghaddam, S., y Hajjafari, K. (2024). Avances en la detección de la equinococosis quística en huéspedes intermediarios y nuevas herramientas de diagnóstico: una

- revisión de la literatura. *Ciencias Veterinarias* , 11 (6), 227.
- Irabuena, O., Nieto, A., Ferreira, A. M., Battistoni, J., & Ferragut, G. (2000). Characterization and optimization of bovine *Echinococcus granulosus* cyst fluid to be used in immunodiagnosis of hydatid disease by ELISA. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 42, 255-262.
- Li, J., Zhang, WB, Wilson, M., Ito, A., y McManus, DP (2003). Un nuevo antígeno recombinante para el inmunodiagnóstico de la equinococosis quística humana. *The Journal of infectious diseases* , 188 (12), 1951-1960.
- Lightowers, MW., Liu, DY., Haralambous, A., Rickard, MD. (1989). Subunit composition and specificity of the major cyst fluid antígena of *Echinococcus granulosus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 37(2): 171-182.
- Lomonte, B. (2007). Manual de métodos inmunológicos. Consultado el 15 de octubre del 2014, de <http://repositorio.ucr.ac.cr/handle/10669/9244>.
- Miranda, E., Velarde, F., Somocurcio, J., Ayala, E. (2010). Evaluación de dos pruebas de Inmunoblot con antígeno hidatídico de caprino y ovino para el diagnóstico de equinococosis humana. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2010; 27(2): 209-14.
- Moro, P., Schantz, P. (2009). *Echinococcosis: a review*. *Int J Infect Dis*; 13(2): 125-133.
- Mamuti, W., Yamasaki, H., Sako, Y., Nakaya, K., Nakao, M., Lightower's, M.W, Ito A. (2002). Usefulness of Hydatid Cyst Fluid of *Echinococcus granulosus* Developed in Mice with Secondary Infection for Serodiagnosis of Cystic *Echinococcosis* in Humans. *Clin Vaccine Immunol*. 9(3): 573-576
- Naquira, C. (1994). Hydatidosis situation in Perú. In Proc.Scientific Working group in the advances in the prevention, control and treatment of hydatidosis.
- Oriol, R., Williams, JF., Perez-Esandi, MV., Oriol, C. (1971). Purification of lipoprotein antigens of *Echinococcus granulosus* from sheep hydatid fluid. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 20(4): 569-574.
- Pérez Esandi, M. V. (1970). Aislamiento y caracterización de anticuerpos en sueros de humanos infectados con *Echinococcus granulosus*. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*; 69 (1), jul. 1970.
- Peruzzu, A., Mastrandrea, S., Fancellu, A., Bonelli, P., Muehlethaler, K., Masala, G., & Santucci, C. (2022). Comparison and evaluation of analytic and diagnostic performances of four commercial kits for the detection of antibodies against *Echinococcus granulosus* and *multilocularis* in human sera. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 86, 101816,
- Rigano, R., Buttari, B., Profumo, E., (2007). *Echinococcus granulosus* antigen B impairs human dendritic cell differentiation and polarizes immature dendritic cell maturation towards a Th2 cell response. *Infect. Immun.* 75, 1667–78.
- Rojas, M. (1990). *Parasitismo de los Rumiantes Domésticos. Terapia, Prevención y Modelos para su aprendizaje*. Editorial Mijosa. Primera edición. Lima - Perú. 335 - 343.
- Sánchez, EL., Naquira, CG., Vega, ES., Miranda, EF., Quispe, WM., Ayala, ER. (2010). *Manual de Procedimiento para el Diagnostico Serológico de las Zoonosis Parasitarias*. Perú. Segunda edición. Catalogación hecha por el Centro de Documentación e Información del INS.
- Sánchez, F. (1992). *Caracterización, Purificación y localización Inmunohistoquímica de los antígenos mayoritarios de Echinococcus granulosus Antígeno 5 y Antígeno B*. (Tesis de pos grado). Universidad Autónoma de Barcelona.
- Schantz, P.M., Chai, J., Craig, P.S., Eckert, J., Jenkins, D.J., Macpherson, C.N.L., Thakur, A., (1995). Epidemiology and control of hydatid disease. In: Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. (Eds.), *Echinococcus and Hydatid Disease*. CAB International, Wallingford, UK.
- Serra, E., Masu, G., Chisu, V., Cappai, S., Masala, G., Loi, F., & Piseddu, T. (2022). Contaminación ambiental por huevos de *Echinococcus* spp. como riesgo para la salud humana en granjas educativas de Cerdeña, Italia. *Ciencias veterinarias* , 9 (3), 143.
- Siracusano, A. (1991). Detection of antibodies against *Echinococcus granulosus* major antigens and their subunits by

immunoblotting. *Transmit Res Soc Trop Med Hyg*; 85 (2): 239-243.

Vargas, D., Bonet, R., Jofré, C., Campano, S. (2005). Evaluación del líquido hidatídico como sustrato de sensibilización en la obtención de anticuerpos policlonales de uso en ELISA coproantigénica. *Parasitol Latinoam*: 60 (1-2). 93-96.

Vildózola, H., Espinoza, I., Roldan, WH. (2012). Estandarización de una prueba de ELISA para detectar anticuerpos IgE en pacientes con equinocosis quística y su utilidad en el diagnóstico y seguimiento de pacientes tratados con albendazol. *An. Fac. med.*73 (1).

Zhang W, Li J, McManus DP. (2003) Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev*; 16:18–36.

Widdicombe J, Basáñez MG, Entezami M, Jackson D, Larrieu E, Prada JM (2022) La evaluación económica de las estrategias de control de la equinocosis quística centradas en los huéspedes zoonóticos: una revisión de alcance. *PLoS Negl Trop Dis* 16(7): e0010568