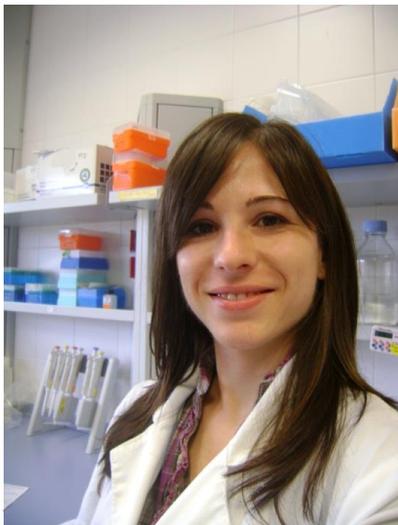


Comparación de la técnica de inmunoperoxidasa en monocapa de cultivo (IPMA) con tres ELISA comerciales para la detección de anticuerpos frente a circovirus porcino tipo 2 (PCV2)

E. Pileri, M. Cortey, F. Rodríguez, M. Sibila, L. Fraile, J. Segalés



CReSA^R
Centre de Recerca en Sanitat Animal

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

THE
Pirbright
INSTITUTE

U
Universitat
de Lleida

CReSA^R



IPMA vs. ELISAs

Para la detección de anticuerpos anti-PCV2

- Necesidad de c.c. y virus viable
- Alto nivel de formación técnica
- No automatizable
- Lectura subjetiva
- **Interpretación biológica de los resultados^{1,2}**

- Automatizable
- Lectura objetiva
- Punto de corte; resultado positivo vs. negativo
- **Interpretación biológica?**

1. Fort et al. 2007. Vet Microbiol 125, 244-255.

2. Fraile et al. 2012. Vet Microbiol 161, 229-234.

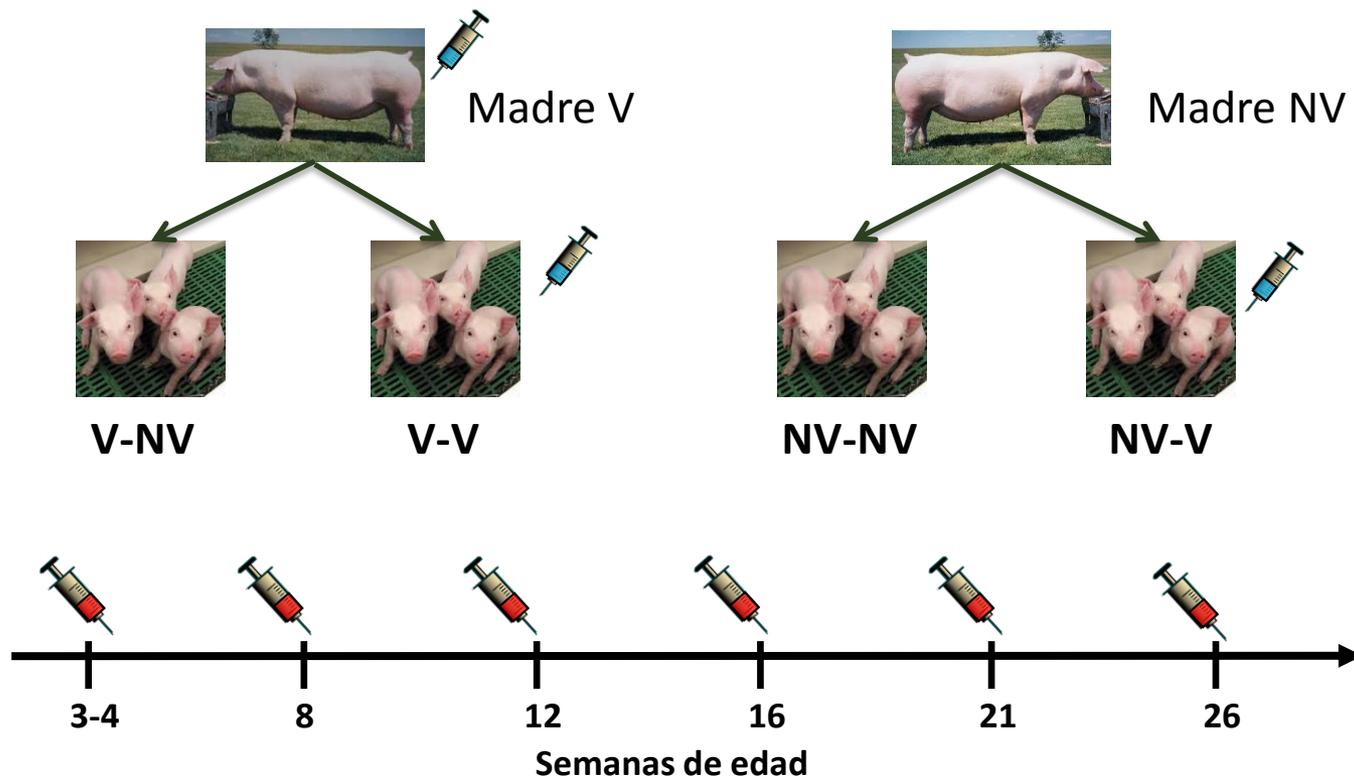
Objetivo del estudio

Comparación y correlación de los títulos de Ac obtenidos mediante IPMA con los resultados de 3 ELISAs comerciales

Objetivo secundario:

- Evaluación de la capacidad de discriminar entre las respuestas serológicas de animales sometidos a distintas pautas vacunales

Materiales y Métodos:

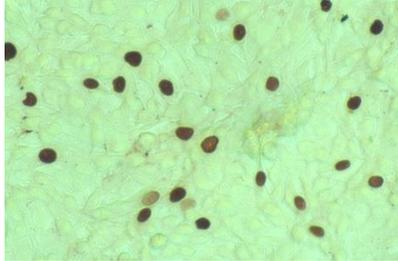


1248 Sueros

+

22 Sueros de lechones CD-CD (controles negativos)

Materiales y Métodos



CReSA^R
Centre de Recerca en Sanitat Animal



SYNBIOTICS



INGENASA



BioChek
SMART VETERINARY DIAGNOSTICS

IPMA



Log₂ Títulos

E1



RecOD y Títulos

E2



S/P y Títulos

E3



S/P y Títulos

Resultados cualitativos:

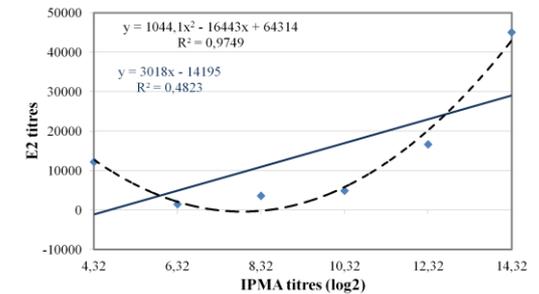
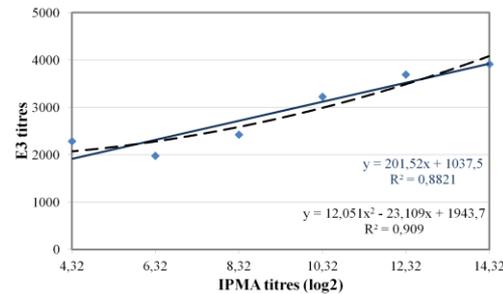
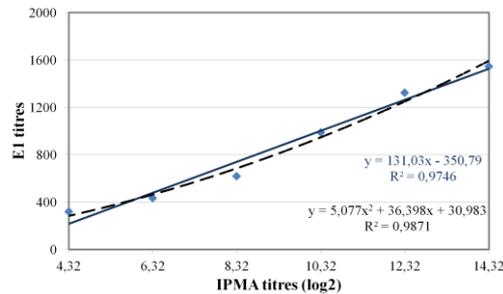
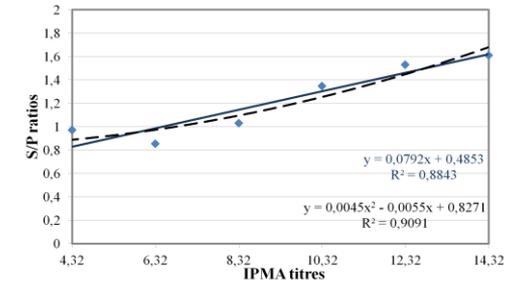
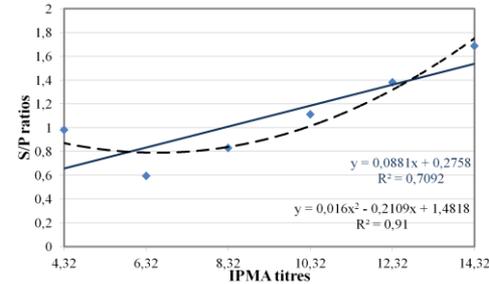
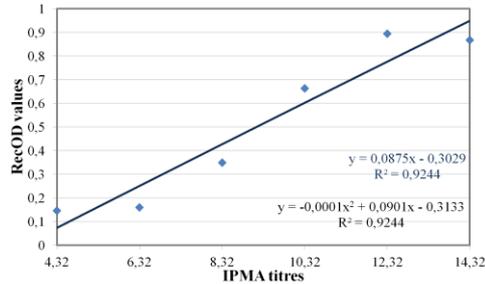
IPMA: muestras con título $<4,32 \log_2$ se consideraron negativas

ELISAs: positividad de las muestras en base al punto de corte (*cut-off*) del fabricante

E1= SERELISA[®] PCV2 Ab Mono Blocking (Synbiotics)
E2= INGEZIM CIRCO IgG[®] 11. PCV.K1 (Ingenasa)
E3= PCV2 ELISA[®] SK105 (Biochek)

CReSA^R

Correlación (R^2) entre IPMA y ELISAs



La correlación entre los títulos IPMA y los resultados de los ELISAs fue excelente en todos los casos ($R^2 > 0,90$)

Correlación (R^2) entre IPMA y ELISAs

Títulos IPMA	E1 RecOD	E2 S/P ratios	E3 S/P ratios
4.32	0.07[-0.06;0.21]	0.86[0.41;1.29]	0.88[0.47;1.30]
6.32	0.25[0.13;0.36]	0.78 [0.53;0.99]	0.97[0.75;1.19]
8.32	0.42[0.32;0.52]	0.83[0.70;0.89]	1.09[1.01;1.18]
10.32	0.60[0.52;0.67]	1.00[0.92;1.01]	1.24[1.23;1.27]
12.32	0.77[0.71;0.83]	1.31[1.19;1.31]	1.44[1.42;1.47]
14.32	0.95[0.91;0.98]	1.74[1.51;1.84]	1.67[1.58;1.77]

Valores ELISA correspondientes a los títulos IPMA, calculados mediante las correspondientes ecuaciones de primer o segundo grado.

Un título IPMA ≤ 10 log₂ sugiere una menor probabilidad de interferencia con la seroconversión vacunal^{1,2}.

Los valores correspondientes de RecOD o ratio S/P serían de 0,572, 0,972 y 1,222 para E1, E2 y E3, respectivamente.

1. Fort et al. 2007. *Vet Microbiol* 125, 244-255.
2. Fraile et al. 2012. *Vet Microbiol* 161, 229-234.

Comparación entre IPMA y ELISAs

Resultados cualitativos ("gold standard" = IPMA)

E1 → Sp= 100% Se= 85.02%

E2 → Sp= 100% Se= 93.02%

E3 → Sp= 100% Se= 90.14%

E1	E2						E3					
	Positive	Negative	Total	Agreement	Kappa	Kmax	Positive	Negative	Total	Agreement	Kappa	Kmax
Positive	1024	37	1061				995	66	1061			
Negative	137	72	209				130	79	209			
Total	1161	109	1270	86.30%	0.383 [0.311,0.455]	0.731	1125	145	1270	84.57%	0.360 [0.289,0.430]	0.698
E2												
Positive							1086	75	1161			
Negative							39	70	109			
Total							1125	145	1270	91.02%	0.502 [0.423;0.581]	0.821

Interpretación valor Kappa:

K=0 falta de concordancia entre técnicas; **0 < κ < 0.2** concordancia insignificante; **0.21 < κ < 0.4** concordancia baja; **0.41 < κ < 0.6** concordancia moderada; **0.61 < κ < 0.80** concordancia buena; **κ > 0.81** concordancia muy buena.

Comparación entre IPMA y ELISAs

Resultados cualitativos

Usando IPMA como “gold standard”:

IPMA-E1 → $K = 0,360$ (concordancia baja)

IPMA-E2 → $K = 0,502$ (concordancia moderada)

IPMA-E3 → $K = 0,383$ (concordancia baja)

Usando E1, E2 y E3 como “gold standard”:

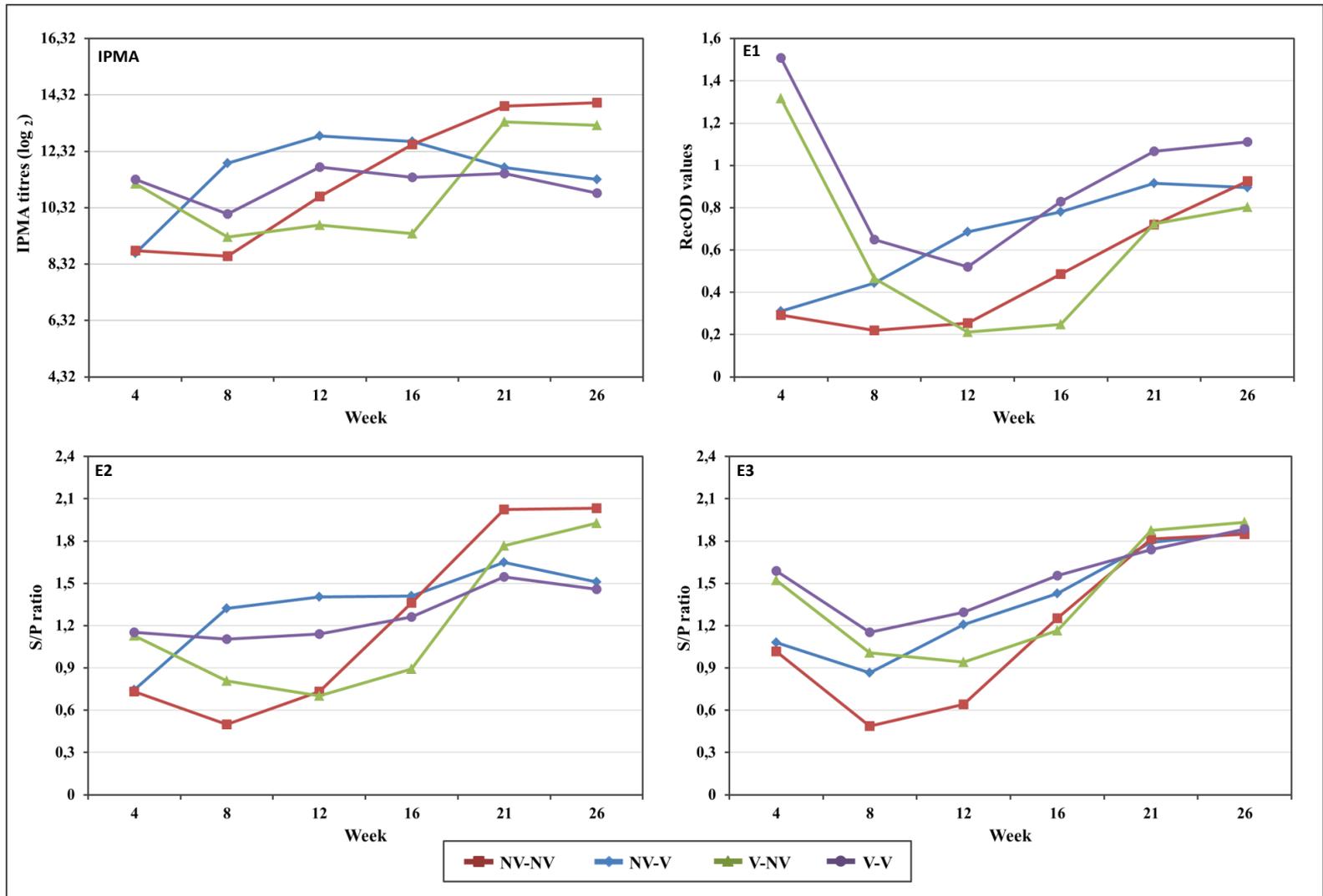
Análisis ROC del IPMA: la Se es maximizada aplicando el punto de corte (*cut-off*) de **$6,32 \log_2$**

E1-IPMA → $K = 0,322$ (concordancia baja)

E2-IPMA → $K = 0,461$ (concordancia moderada)

E3-IPMA → $K = 0,403$ (concordancia moderada)

Comparación entre perfiles de anticuerpos



Capacidad global de detectar diferencias significativas entre grupos:
E2 > IPMA > E1 > E3

CONCLUSIONES

- Todos los test ELISA analizados presentan una elevada correlación diagnóstica ($R^2 > 0,90$) con la IPMA
- Es posible inferir un título IPMA a partir de cada valor ELISA y viceversa; todas las técnicas serológicas testadas permiten la discriminación e interpretación de los seroperfiles obtenidos a nivel de granja
- De forma análoga al IPMA, los resultados obtenidos mediante los 3 ELISAs ofrecen la posibilidad de una interpretación biológica. Los ELISAs comerciales analizados en este estudio representan por tanto un válido sustituto al IPMA para la monitorización de la respuesta serológica frente PCV2

Agradecimientos



Estudio de campo



**¡MUCHAS GRACIAS
POR SU ATENCIÓN!**

CReSA[®]

Centre de Recerca en Sanitat Animal

Edifici CReSA. Campus UAB.

08193 Bellaterra (Barcelona) Spain.

Tel. (+34) 93 581 32 84 Fax. (+34) 93 581 44 90

e-mail: cresa@uab.cat - www.cresa.cat