

Prueba SNAP 4Dx Plus: mayor capacidad, mismo rendimiento excelente



Introducción

Los vectores y las enfermedades transmitidas son cada vez más prevalentes a lo largo de Europa. Una publicación reciente con más de 224 000 resultados de la prueba SNAP* 4Dx* Plus entre 2016 y 2020 determinó que los perros están comúnmente expuestos a patógenos transmitidos por vectores, como los agentes de enfermedades transmitidas por garrapatas *Anaplasma* spp. y *Ehrlichia* spp¹. La distribución geográfica tanto de los vectores de los artrópodos como de los patógenos que transmiten continúa en expansión. Los países seleccionados (> n = 1000) se proyectan en un mapa con la proporción de positivos para *Anaplasma* spp. y *Ehrlichia* spp. (Figura 1).

La prueba SNAP 4Dx Plus de IDEXX puede usarse para detectar el antígeno de *Dirofilaria immitis* y anticuerpos contra *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia ewingii* en una sola muestra de sangre entera, plasma o suero^{2,3}. Para ayudar a los veterinarios a detectar y diagnosticar con mayor precisión estas enfermedades transmitidas por vectores, IDEXX ha mejorado la prueba SNAP 4Dx Plus añadiendo tres nuevos péptidos a los puntos existentes: los péptidos específicos por especie *A. phagocytophilum* y *A. platys* al punto de *Anaplasma* spp. y un péptido de *E. canis* al punto de *Ehrlichia*. Estos péptidos se han evaluado previamente en infecciones experimentales caninas, así como en muestras de pacientes provenientes de diferentes plataformas de pruebas^{4,5}.

Por lo tanto, se espera que esta prueba mejorada cumpla con las necesidades de los veterinarios y de los pacientes y que les permita detectar con fiabilidad estos patógenos transmitidos por garrapatas. Con la misma importancia, la prueba SNAP 4Dx Plus ayuda a descubrir indicios de que los perros han estado expuestos a múltiples organismos infecciosos, tanto a través de mordeduras de vectores de garrapata múltiples como de coinfecciones transmitidas por el mismo vector. Esto ayuda al diagnóstico, al tratamiento y a la concienciación sobre las enfermedades transmitidas por garrapatas. Asimismo, la prueba continúa detectando de forma consistente y precisa el antígeno de la dirofilaria y los anticuerpos contra el péptido C₆ de *B. burgdorferi*, el agente causante de la enfermedad de Lyme.

Fig. 1

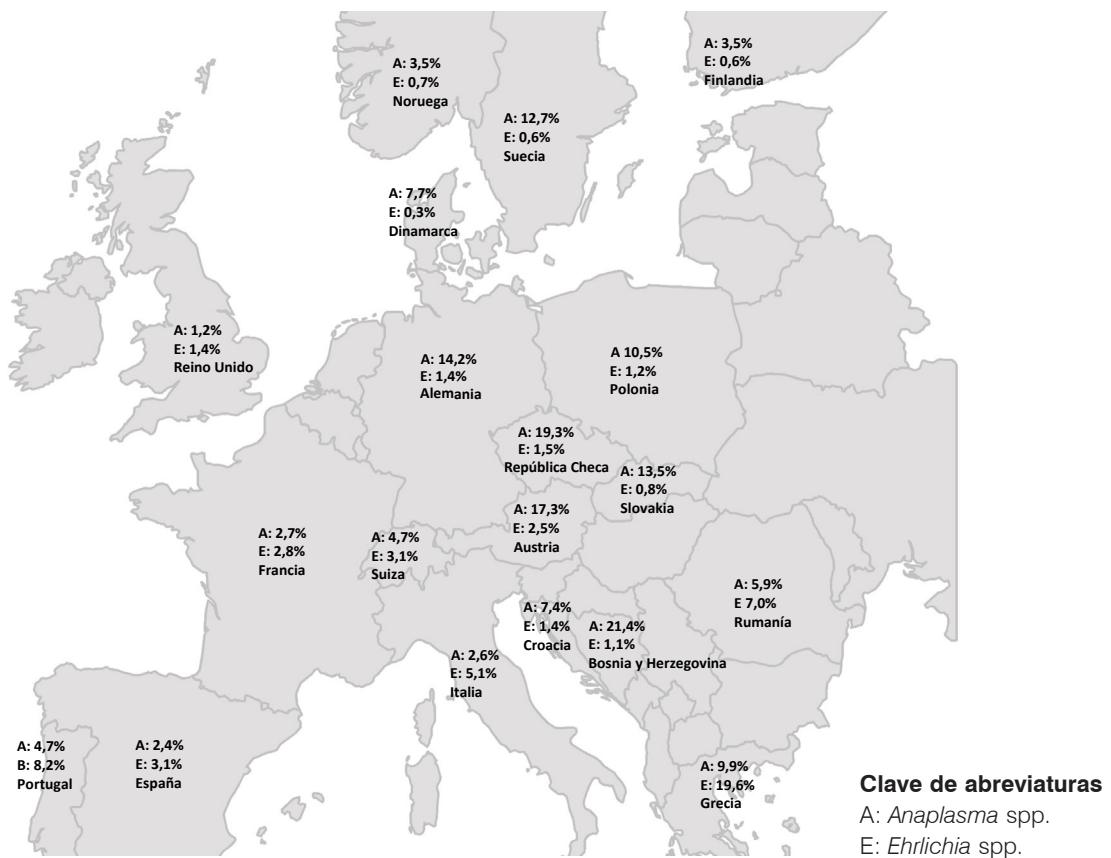


Figura 1: Seropositividad (%) por país de *Anaplasma* spp. y *Ehrlichia* spp¹. A: anticuerpos para *Anaplasma* spp., E: anticuerpos para *Ehrlichia* spp.; número de perros examinados en total: Austria (n = 4572), Bosnia y Herzegovina (n = 3671), República Checa (n = 6238), Croacia (n = 2417), Dinamarca (n = 7784), Finlandia (n = 6084), Alemania (n = 20 582), Grecia (n = 6488), Francia (n = 18 070), Italia (n = 64 879), Noruega (n = 3051), Polonia (n = 3812), Rumania (n = 13 995), Eslovaquia (n = 1584), Suiza (n = 1006), España (n = 39 526), Suecia (n = 10 047), Portugal (n = 1285), Reino Unido (n = 2631).

El mismo rendimiento excelente con detección mejorada de *Anaplasma* spp.

La prueba SNAP* 4Dx* Plus sigue mostrando una sensibilidad y especificidad coherentes con el rendimiento mostrado en numerosas publicaciones revisadas por expertos^{2,3}. Los marcadores adicionales mejoran la sensibilidad y especificidad para *Anaplasma* spp. a la vez que mejoran la especificidad para la detección de *Ehrlichia* spp. (véase la tabla 1). Cuando se evaluaron las mejoras en la detección de *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma* spp. en comparación con los marcadores de anticuerpos anteriores en el mismo conjunto de muestras (véase la tabla 1), los marcadores de anticuerpos adicionales permitieron la detección de más muestras positivas que antes, tanto de *Anaplasma* spp. como de *Ehrlichia canis*. En 510 muestras evaluadas, se detectaron 21 muestras más con anticuerpos para *Anaplasma* spp. y 4 muestras más con anticuerpos para *Ehrlichia* spp.

Analyte	Estándar de referencia	Resultado de la prueba SNAP 4Dx Plus		Total	Sensibilidad (95% CL)
		+	-		Especificidad (95% CL)
<i>Dirofilaria immitis</i> ^a	+	48	1	49	98.0% (89.1%–99.9%)
	-	0	461	461	100.0% (99.2%–100%)
<i>Anaplasma</i> spp. ^b	+	80	5	85	94.1% (86.8%–98.1%)
	-	7	418	425	98.4% (96.6%–99.3%)
<i>Ehrlichia</i> spp. ^c	+	99	7	106	93.4% (86.9%–97.3%)
	-	13	391	404	96.8% (94.6%–98.3%)
<i>Borrelia burgdorferi</i> ^d	+	21	1	22	95.5% (77.2%–99.9%)
	-	3	485	488	99.4% (98.2%–99.9%)

Tabla 1. Prueba SNAP 4Dx Plus mejorada frente a métodos de referencia^e.

Métodos de referencia

a. Necropsia o PetChek* *Dirofilaria immitis* ELISA positiva y PetChek* *Dirofilaria immitis* ELISA negativa

b. *A. phagocytophilum* IFA y *Anaplasma* spp. ELISA

c. *E. canis* IFA y *E. ewingii* ELISA

d. Lyme immunoblot y C₆ ELISA

La mayor sensibilidad de la prueba SNAP 4Dx Plus para la detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp. también es evidente en las zonas europeas endémicas. El conjunto de muestras de suero (n = 1604) se obtuvo a partir de perros del Reino Unido, Francia y España (muestras de conveniencia enviadas al laboratorio de referencia para el análisis bioquímico), así como de Alemania e Italia (perfiles de enfermedades caninas transmitidas por vectores [CVBD] o perros de caza, respectivamente)⁶. En estas 1604 muestras europeas, la proporción de positivos para anticuerpos de *Anaplasma* spp. con la versión mejorada de la prueba fue del 18,6 %, en comparación con los datos generados recientemente por la prueba SNAP 4Dx Plus, que oscilaron entre el 1,2 % en el Reino Unido y el 14,2 % en Alemania (véase la Figura 1)¹.

En estas regiones endémicas, la mayor sensibilidad permite a los veterinarios descubrir perros con leves indicios clínicos o con indicios clínicos en el momento de las pruebas, lo que les permite realizar una evaluación a fondo para el diagnóstico de la anaplasmosis. Un diagnóstico preciso permite el tratamiento a tiempo en perros clínicamente afectados y sirve como base para las conversaciones con los dueños sobre el control de las garrapatas y las recomendaciones preventivas.

Además, la detección temprana de patógenos es importante, puesto que, ante algunos patógenos transmitidos por garrapatas, la enfermedad aguda puede aparecer poco después de la fijación de la garrapata. Por ejemplo, en la mayoría de los perros, los signos clínicos de la anaplasmosis canina son inespecíficos y se limitan a la fase aguda de la infección⁷. La trombocitopenia era evidente en los perros infectados experimentalmente con *A. platys* o *A. phagocytophilum* dentro de los 10 días tras la infección^{8,9}. Por lo tanto, la anaplasmosis plantea un reto de diagnóstico y la detección temprana es fundamental.

Detección temprana de *Anaplasma phagocytophilum*

La infección experimental con garrapatas en 8 beagles jóvenes con *A. phagocytophilum* tuvo lugar conforme a Chandrashekar et al.⁴ La seroconversión con la prueba mejorada SNAP* 4Dx* Plus precedió a la detección de anticuerpos con la prueba actual en 7/8 perros en 3-14 días (Figura 2)⁶.

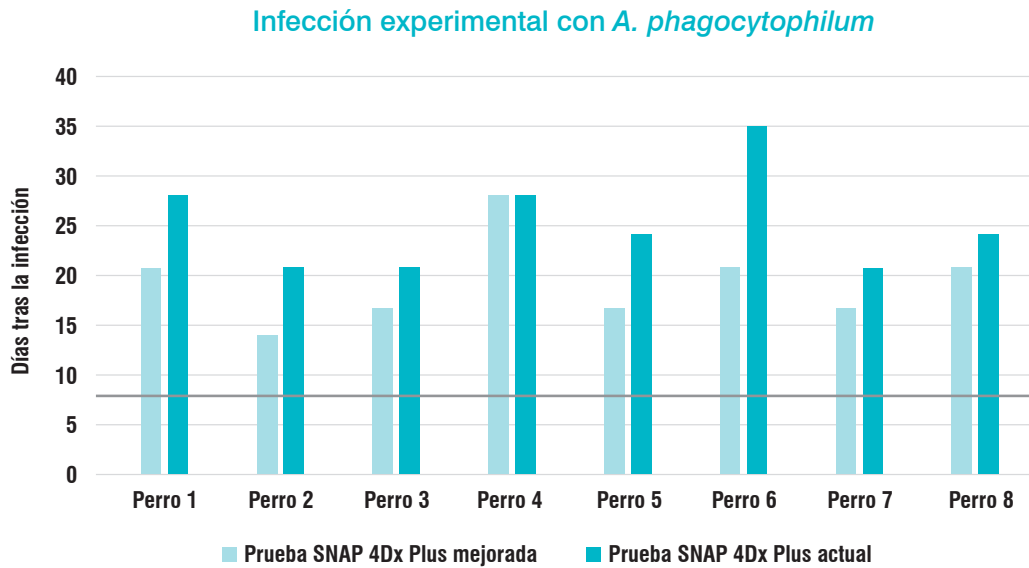


Figura 2. Infección experimental con *A. phagocytophilum*; resultado positivo en días tras la infección⁶. La línea horizontal representa cuándo se obtuvo en los perros un resultado positivo por PCR por primera vez (día 7); la diferencia en la seroconversión entre la versión mejorada y la actual de la prueba SNAP 4Dx Plus se muestra con las barras emparejadas del gráfico.

Detección temprana de *Anaplasma platys*

La detección temprana también se pudo mostrar para *A. platys* mediante la infección experimental de perros hembra de 6 meses inoculados con *A. platys* de manera intravenosa según Gaunt et al.¹⁰. Cuatro perros mostraron una seroconversión entre 4 y 22 días antes que con la prueba actual (Figura 3)⁶.

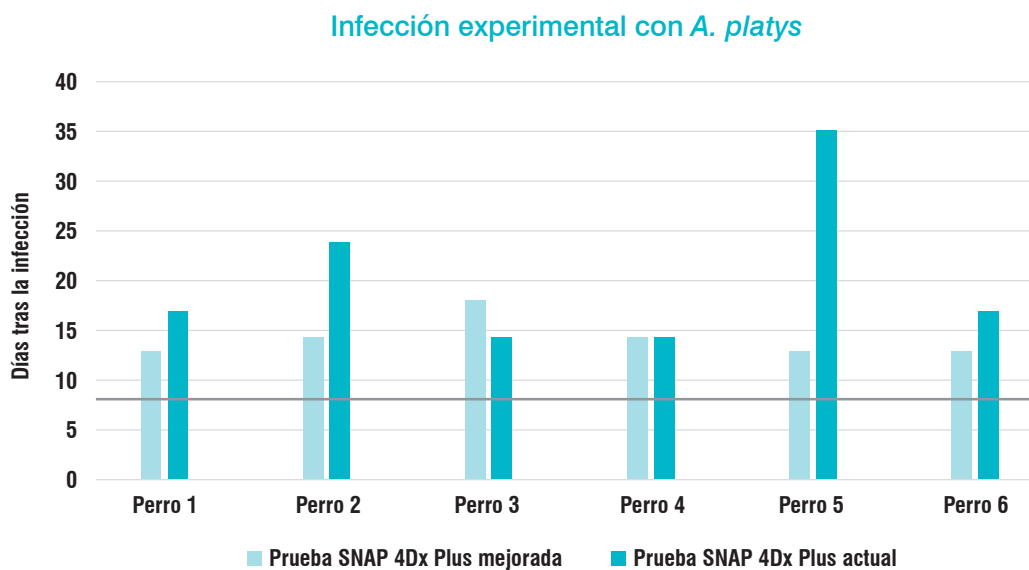


Figura 3. Infección experimental con *A. platys*; resultado positivo en días tras la infección⁶. La línea horizontal representa cuándo se obtuvo en los perros un resultado positivo por PCR por primera vez (día 7 como valor medio del grupo); la diferencia en la seroconversión entre la versión mejorada y la actual de la prueba SNAP 4Dx Plus se muestra con las barras emparejadas del gráfico.

Detección temprana de *Ehrlichia canis*

Los datos de infección experimental sugieren una mejor alineación con la prueba SNAP* 4Dx* Plus y con los perros con un resultado positivo de PCR al inicio de los síntomas clínicos para la detección de *E. canis* tras la infección. De 6 perros infectados experimentalmente con *E. canis* (infestación por garrapatas; *Rhipicephalus sanguineus*), 3 tenían anticuerpos detectables para *E. canis* que se correlacionaban con el inicio de los síntomas clínicos observables y habían dado positivo en la PCR⁶. Los otros 3 perros mostraron un resultado positivo en los anticuerpos dentro de los 6 días siguientes al inicio de la presentación síntomas clínicos y a los resultados positivos de la PCR (Figura 4). Esto ofrece a los veterinarios la posibilidad de llevar a cabo un diagnóstico precoz en perros gravemente enfermos.

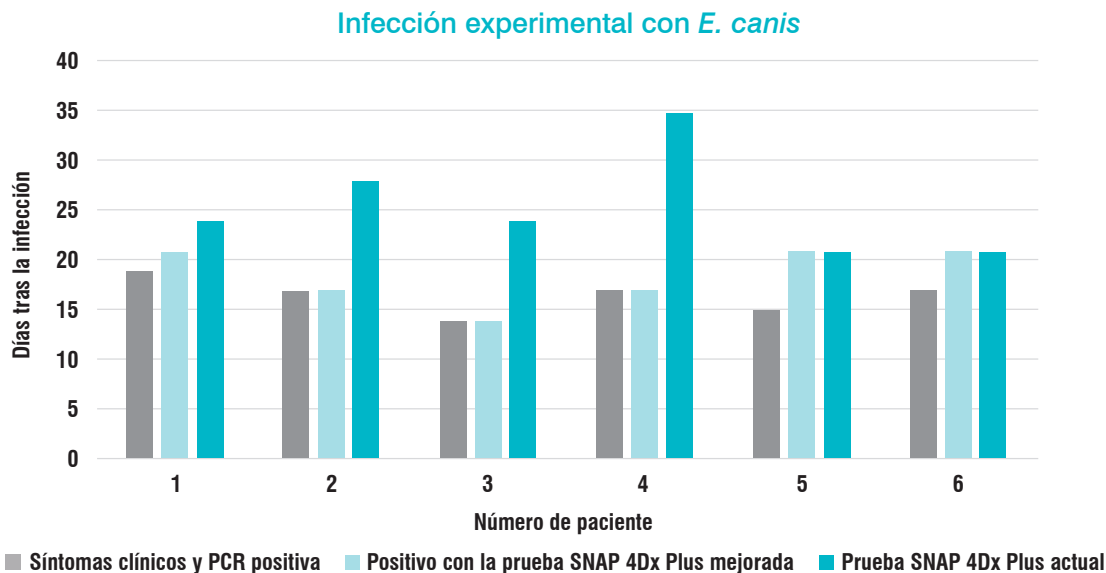


Figura 4. Infección experimental *E. canis*: resultado positivo en días tras la infección⁶.

Anaplasma platys: desafíos y problemas en diferentes regiones geográficas

A. platys se identificó por primera vez en 1978 en perros de Florida, y más tarde fue identificada en varias regiones del mundo. En Australia y Estados Unidos, puede ser una enfermedad subclínica o asintomática, pero en otras zonas, como en Sudamérica o el sur de Europa (Croacia, Chipre, España, Francia, Grecia, Italia, Portugal y Rumanía), el norte de África, Israel y Asia, este agente puede causar una enfermedad grave¹¹. Asimismo, se consideró que una gran proporción de perros (aproximadamente el 62 %) no respondía al tratamiento¹¹. Los motivos para esta presentación clínica distinta no se entienden completamente y podrían incluir diferentes cepas genéticas, coinfecciones u otros factores individuales como enfermedades concurrentes, factores genéticos, estado inmune, condición física, etc. En cuanto a *A. phagocytophilum*, se acepta una respuesta favorable al tratamiento en perros¹². Por lo tanto, debe prestarse especial atención para comparar estas dos especies de *Anaplasma*, ya que ambas son relevantes para Europa, pero difieren en varios aspectos.

Especies y coinfecciones de *Anaplasma*

En cuanto a la distribución en Europa, *A. platys* es prevalente en el área mediterránea, donde el vector de la garrapata *R. sanguineus* es común. Además, *A. phagocytophilum* es prevalente en todo el continente con áreas altamente endémicas con condiciones favorables para el vector *Ixodes ricinus* (véase la Figura 5). Las coinfecciones con *B. burgdorferi* (con *A. phagocytophilum*) o *E. canis* (con *A. platys*) reflejan la exposición a estas dos garrapatas y cuentan con importantes implicaciones clínicas y de laboratorio^{13,14}. *Anaplasma* spp. y *B. burgdorferi* mostraron la mayor prevalencia y proporción de copositividad en el norte de Europa (Figura 5a). Una coexposición como la observada en la prueba SNAP 4Dx (Figura 5b) en esta región probablemente refleja la exposición a *A. phagocytophilum* con base en el vector de la garrapata común *Ixodes ricinus*. Los anticuerpos contra *Ehrlichia* spp. eran más frecuentes en el sur de Europa, seguidos de los anticuerpos contra *Anaplasma* spp. (Figura 5a). La copositividad a *Anaplasma* spp. y *Ehrlichia* spp. (Figura 5b) se encontró con mayor frecuencia en esta región, y muy probablemente representa la coexposición a *E. canis* y *A. platys*, teniendo en cuenta que usan el mismo vector de la garrapata (*R. sanguineus*), que es la garrapata más común en esta región (Figura 5c).

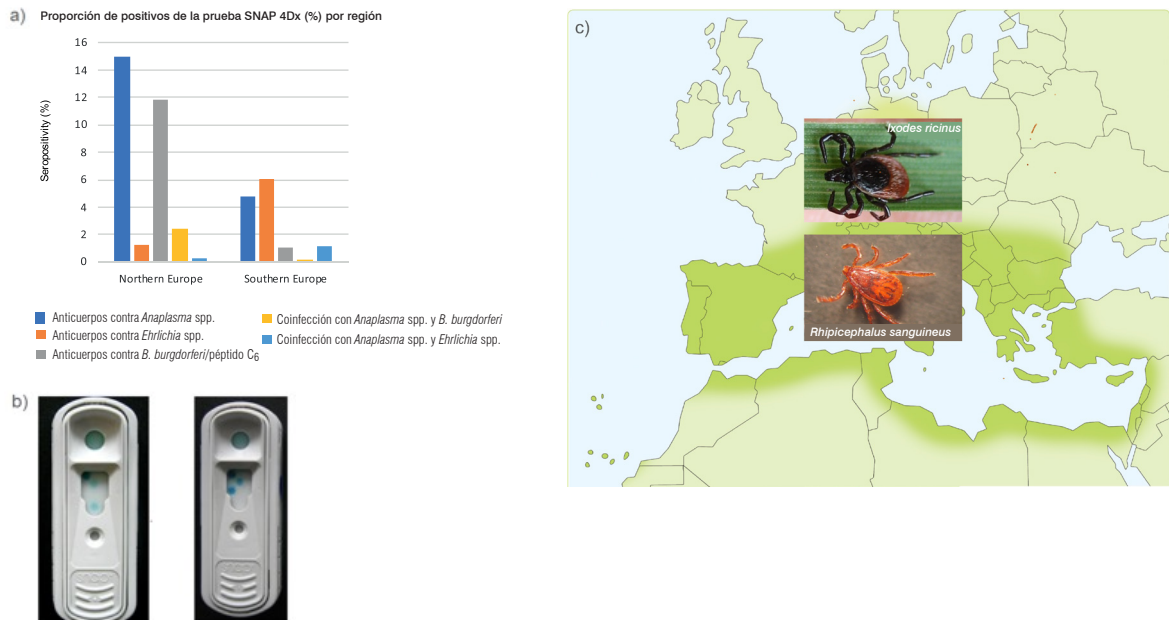


Figura 5. a) Los veterinarios examinaron un total de 108 803 muestras caninas con la prueba SNAP* 4Dx* en Europa entre 2011 y 2015 (Europa del Norte, 15 países, n = 51 357) frente a Europa del Sur, 13 países, n = 57 446)¹⁵; b) 2 pruebas SNAP 4Dx como ejemplos de coexposición con *B. burgdorferi* y *Anaplasma* spp. (izquierda) o *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma* spp. (derecha); c) Distribución europea aproximada de la garrapata parda de los perros *R. sanguineus* (color verde más oscuro)¹⁶; las imágenes de *Ixodes ricinus* (arriba) y *Rhipicephalus sanguineus* (abajo) se proyectan dentro de las zonas climáticas preferidas en el mapa.

Referencias

- Miró G, Wright I, Michael H, et al. Seropositivity of main vector-borne pathogens in dogs across Europe. *Parasit Vectors*. 2022;15(1):189. doi:10.1186/s13071-022-05316-5
- Stillman BA, Monn M, Liu J, et al. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Ehrlichia ewingii* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. *JAVMA*. 2014;245(1):80–86. doi:10.2460/javma.245.1.80
- Chandrashekar R, Mainville CA, Beall MJ, et al. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for the detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. *Am J Vet Res*. 2010;71(12):1443–1450. doi:10.2460/ajvr.71.12.1443
- Chandrashekar R, Beall MJ, Thatcher B, Saucier JM, Tyrrell P, Lappin MR. Serologic responses to peptides of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in dogs infested with wild-caught *Ixodes scapularis*. *Vet J*. 2017;226:6–11. doi:10.1016/j.tvjl.2017.06.005
- Kovačević Filipović MM, Beletić AD, Ilić Božović AV, et al. Molecular and serological prevalence of *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*, *Ehrlichia canis*, *E. chaffeenses*, *E. ewingii*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia canis*, *B. gibsoni* and *B. vogeli* among clinically healthy outdoor dogs in Serbia. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2018;14:117–122. doi:10.1016/j.vprsr.2018.10.001
- Datos en archivo de IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, EE. UU.
- Pantchev N, Pluta S, Huisinga E, et al. Tick-borne diseases (borreliosis, anaplasmosis, babesiosis) in German and Austrian dogs: status quo and review of distribution, transmission, clinical findings, diagnostics and prophylaxis. *Parasitol Res*. 2015;114 Suppl 1:S19–S54.
- Gaunt S, Beall M, Stillman B, et al. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasit Vectors*. 2010;3(1):33. doi:10.1186/1756-3305-3-33
- Scorpio DG, Dumler JS, Barat NC, et al. Comparative strain analysis of *Anaplasma phagocytophilum* infection and clinical outcomes in a canine model of granulocytic anaplasmosis. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2011;11(3):223–229. doi:10.1089/vbz.2009.0262
- Gaunt S, Beall M, Stillman B, et al. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasit Vectors*. 2010;3(1):33. doi:10.1186/1756-3305-3-33
- Bouzouraa T, René-Martellet M, Chêne J, et al. Clinical and laboratory features of canine *Anaplasma platys* infection in 32 naturally infected dogs in the Mediterranean basin. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016;7(6):1256–1264. doi:10.1016/j.ttbdis.2016.07.004
- Carrade DD, Foley JE, Borjesson DL, Sykes JE. Canine granulocytic anaplasmosis: a review. *J Vet Intern Med*. 2009;23(6):1129–1141. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0384.x
- Beall MJ, Chandrashekar R, Eberts MD, et al. Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2008;8(4):455–464. doi:10.1186/1756-3305-3-33
- Gaunt S, Beall M, Stillman B, Lorentzen L, Diniz P, Chandrashekar R, Breitschwerdt E. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasit Vectors*. 2010;3(1):33. doi:10.1186/1756-3305-3-33
- Buch J, Cuoto G, Miró G, Lorentzen L, Chandrashekar R. Estudio serológico clínico SNAP 4Dx y SNAP 4Dx Plus mundial de enfermedades transmitidas por garrapatas en perros [Resumen ACVIM]. *J Vet Intern Med*. 2017;31(5):1590–1591.
- Sainz Á, Roura X, Miró G, et al. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors*. 2015;8:75. doi:10.1186/s13071-015-0649-0