

Aggiornamento diagnostico

Test SNAP Leish 4Dx e test SNAP Leishmania migliorato: diagnostica ampliata, stesse prestazioni eccellenti

I vettori e le malattie che trasmettono sono sempre più diffusi in tutta Europa. Una recente pubblicazione che riassume oltre 224.000 risultati del test SNAP* 4Dx* Plus e 211.000 risultati del test SNAP* Leishmania nel periodo 2016-2020 in Europa ha rilevato che i cani sono comunemente esposti a patogeni trasmessi da vettori, come *Leishmania* spp. trasmessa dai flebotomi, e agli agenti patogeni *Anaplasma* spp. ed *Ehrlichia* spp. trasmessi dalle zecche.¹

La distribuzione geografica di questi vettori e dei patogeni che trasmettono è in continua espansione. Sulla mappa sono indicati alcuni Paesi (> n = 100) con la percentuale di risultati positivi per *Anaplasma* spp. ed *Ehrlichia* spp. (figura 1) e *Leishmania* spp. (figura 2).

Il test SNAP Leish 4Dx di IDEXX può essere utilizzato per rilevare l'antigene di *Dirofilaria immitis* e gli anticorpi contro *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia chaffeensis* e *Leishmania Infantum* in un singolo campione di sangue intero, plasma o siero.^{2,4} Per aiutare i veterinari a individuare e diagnosticare in modo più accurato queste malattie trasmesse da vettori, il test SNAP Leish 4Dx utilizza proteine ricombinanti specie-specifiche per *Leishmania infantum* in aggiunta ai peptidi altamente specifici già utilizzati nel test SNAP 4Dx Plus per *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *E. canis* ed *E. ewingii*, nonché una coppia di anticorpi ottimizzata per il rilevamento degli esemplari adulti di *D. immitis*. Si tratta di reagenti che sono stati testati e valutati sia in infezioni sperimentali canine come in campioni di pazienti canini inviati ai laboratori IDEXX.^{5,6}

Il test SNAP Leish 4Dx è pensato per rispondere in modo più puntuale alle esigenze dei veterinari e dei loro pazienti, consentendo loro di verificare con sicurezza la presenza dei patogeni trasmessi dalle zecche, *D. immitis* e *Leishmania*. Altrettanto importante, il test SNAP Leish 4Dx permette di stabilire se il cane è stato esposto a più organismi infettivi, sia attraverso i morsi di più vettori, sia attraverso le coinfezioni veicolate dallo stesso vettore, facilitando la diagnosi, il trattamento e la conoscenza della leishmaniosi, della filariosi cardiopolmonare e di altre malattie trasmesse dalle zecche.

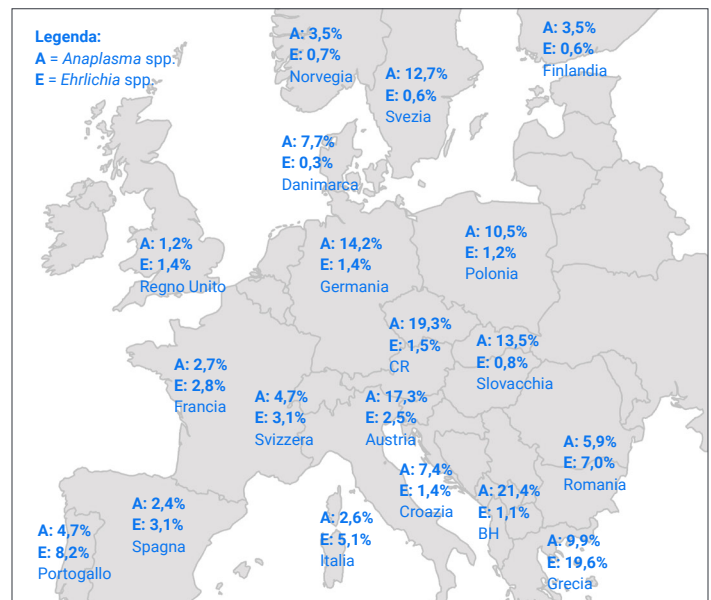


Figura 1: Seropositività (%) ad *Anaplasma* spp. ed *Ehrlichia* spp. per paese.¹ A: anticorpi contro *Anaplasma* spp., E: anticorpi contro *Ehrlichia* spp.; numero totale di cani testati: Austria (n = 4.572), BH/Bosnia-Erzegovina (n = 3.671), CR/Repubblica Ceca (n = 6.238), Croazia (n = 2.417), Danimarca (n = 7.784), Finlandia (n = 6.084), Germania (n = 20.582), Grecia (n = 6.488), Francia (n = 18.070), Italia (n = 64.879), Norvegia (n = 3.051), Polonia (n = 3.812), Romania (n = 13.995), Slovacchia (n = 1.584), Svizzera (n = 1.006), Spagna (n = 39.526), Svezia (n = 10.047), Portogallo (n = 1.285), Regno Unito (n = 2.631).

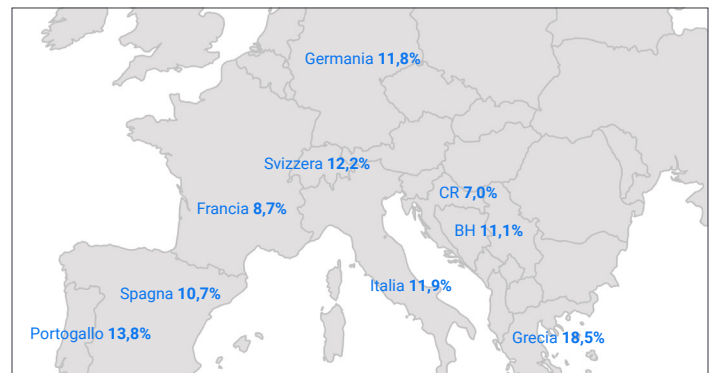


Figura 2: Seropositività a *Leishmania* per paese¹
 Numero totale di cani testati per paese: BH/Bosnia-Erzegovina (n = 172), CR/Croazia (n = 1.761), Francia (n = 5.307), Germania (n = 686), Grecia (n = 9.568), Italia (n = 90.532), Portogallo (n = 1.329), Spagna (n = 98.737), Svizzera (n = 221)

Stessa affidabilità eccellente con l'aggiunta della leishmaniosi

Il test SNAP Leish 4Dx* continua a mostrare una sensibilità e una specificità coerenti con le prestazioni dimostrate in numerose pubblicazioni sottoposte a peer-review²⁻⁴

Analita	Metodo di riferimento	Risultato del test SNAP Leish 4Dx		Totale	Sensibilità (LC al 95%)
		+	-		Specificità (LC al 95%)
Dirofilaria immitis^a	+	48	1	49	98,0% (89,1%-99,9%)
	-	0	461	461	100,0% (99,2%-100%)
Anaplasma spp.^b	+	80	5	85	94,1% (86,8%-98,1%)
	-	7	418	425	98,4% (96,6%-99,3%)
Ehrlichia spp.^c	+	99	7	106	93,4% (86,9%-97,3%)
	-	13	391	404	96,8% (94,6%-98,3%)
Leishmania infantum^d	+	82	3	85	98,8% (93,5%-100%)
	-	1	272	273	98,9% (96,8%-99,8%)

Tabella 1: Test SNAP Leish 4Dx vs metodi di riferimento.³

- Metodi di riferimento**
- a. Necropsia o positività al test ELISA PetChek* per filaria e negatività al test ELISA PetChek* per filaria.³
 - b. Test IFA per *A. phagocytophilum* e test ELISA per *Anaplasma spp.*³
 - c. Test IFA per *E. canis* e test ELISA per *E. ewingii*³
 - d. IFA*

La sensibilità e la specificità per gli anticorpi contro *Leishmania* consentono di valutare con sicurezza i cani per verificare la presenza di questo importante agente patogeno, ottenendo al contempo risultati affidabili per la filariosi, *Anaplasma spp.* ed *Ehrlichia spp.*, il tutto con un solo test e un unico campione.

Oltre a rilevare accuratamente gli anticorpi contro *Leishmania*, la sensibilità del test SNAP Leish 4Dx per gli anticorpi contro i comuni patogeni trasmessi dalle zecche, *Anaplasma spp.* ed *Ehrlichia spp.*, consente ai veterinari di individuare quei cani che possono presentare segni clinici vaghi o assenti, dando loro l'opportunità di sottoporli ad eventuali ulteriori verifiche per stabilire la presenza di anaplasmosi ed ehrlichiosi. Con alcuni agenti patogeni trasmessi dalle zecche, la malattia clinica acuta può manifestarsi subito dopo il morso della zecca. Ad esempio, nella maggior parte dei cani, i segni clinici dell'anaplasmosi canina sono aspecifici e limitati alla fase acuta dell'infezione.⁸ È stata rilevata trombocitopenia nei cani infettati sperimentalmente con

A. platys o *A. phagocytophilum* entro 10 giorni dall'infezione.^{9,10} Pertanto, l'anaplasmosi rappresenta una sfida diagnostica e la diagnosi precoce è importante. I peptidi altamente specifici utilizzati nel test SNAP Leish 4Dx consentono di rilevare molte di queste infezioni in fase acuta, in linea con le fasi in cui la PCR sarebbe positiva.¹¹

Come per tutte le malattie trasmesse da vettori, una diagnosi accurata consente un trattamento tempestivo e offre un ausilio nelle discussioni con i proprietari degli animali sulle misure di controllo delle zecche e sulle raccomandazioni preventive.

Leishmania: minacce e rischi diversi

Le infezioni canine da *Leishmania* sono prevalentemente dovute a *Leishmania infantum*. L'infezione da *Leishmania infantum* è tipicamente trasmessa dai flebotomi, che rappresentano il principale rischio di trasmissione. *L. infantum* può infettare un'ampia gamma di specie di mammiferi, compresi i cani e gli esseri umani. Sono state dimostrate anche altre modalità di trasmissione, tra cui quella sessuale, verticale e attraverso la trasfusione di sangue.

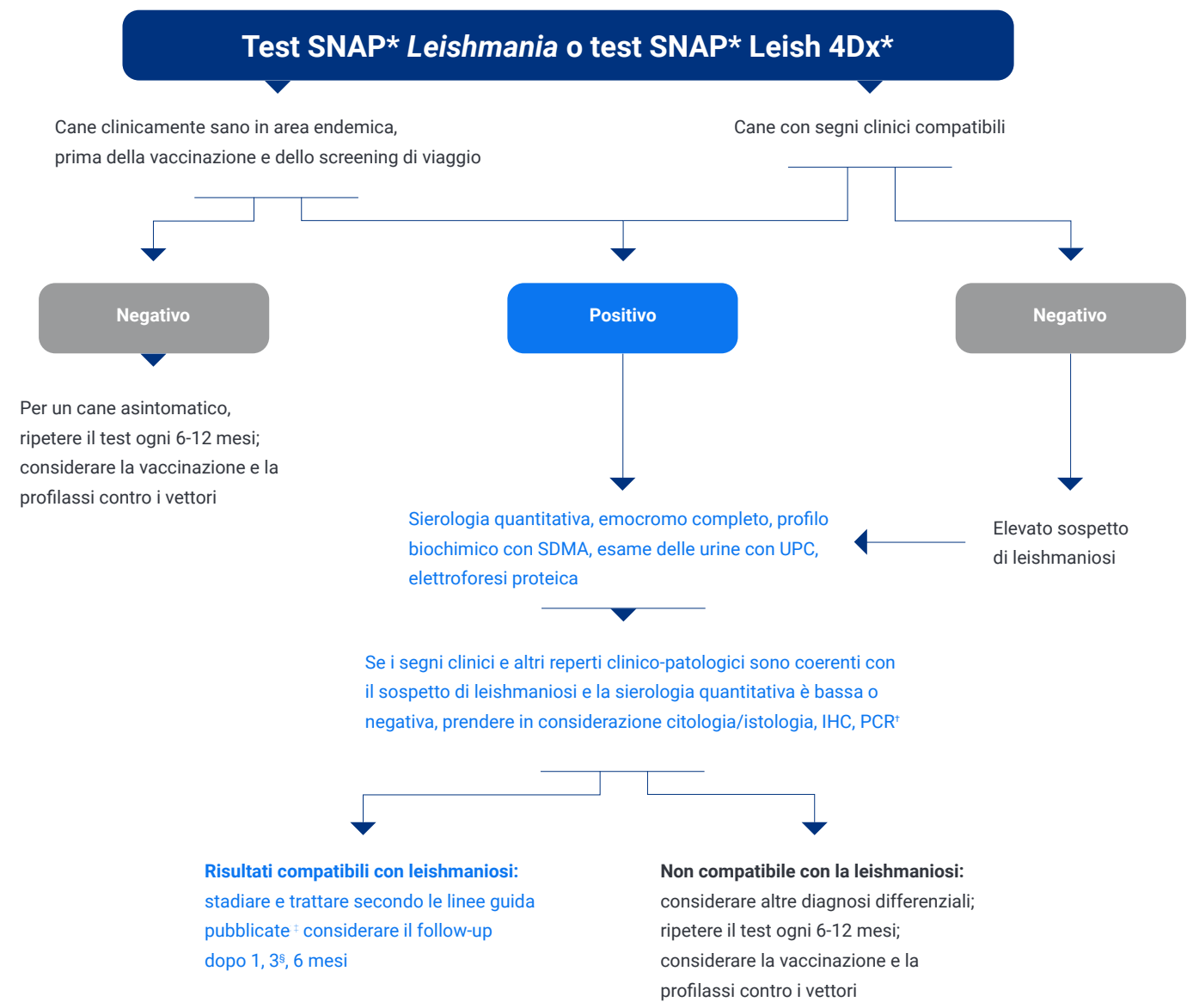
Il test di screening è raccomandato per i cani apparentemente sani che vivono in aree endemiche o che viaggiano da o verso tali zone, comprese le seguenti:

- + Annualmente nelle aree endemiche come parte del controllo sanitario annuale per *Leishmania* e prima della vaccinazione contro *Leishmania*
- + Come parte degli esami del Minimum DataBase (emocromo, profilo biochimico, esame delle urine) per i cani che presentano segni clinici coerenti con la leishmaniosi
- + Donatori di sangue
- + Cani da allevamento

La diagnosi si basa su segni clinici e/o reperti clinicopatologici coerenti con la malattia, combinati con la conferma dell'infezione da *L. infantum*, prevalentemente attraverso la diagnostica sierologica e/o molecolare. I segni clinici possono includere perdita di peso, linfadenopatia, alterazioni dell'appetito, letargia, splenomegalia, febbre, vomito, diarrea, pallore delle mucose, poliuria, polidipsia, dermatite (esfoliativa, papulare, nodulare o pustolosa), lesioni oculari, epistassi, zoppia e disturbi neurologici.

La diagnosi di leishmaniosi canina è supportata dal rilevamento degli anticorpi diretti contro *Leishmania infantum*. L'infezione da *Leishmania spp.* non è indice di malattia clinica. Le infezioni subcliniche sono comuni e di solito presentano bassi livelli di anticorpi. I cani con segni clinici di malattia presentano in genere titoli anticorpali elevati, prontamente rilevabili.¹² L'accuratezza del test in clinica facilita la diagnosi di cani con infezione subclinica e di cani con segni clinici di malattia e supporta la differenziazione tra animali infetti e vaccinati (DIVA). I cani risultati precedentemente positivi a *Leishmania* devono essere monitorati di routine con test quantitativi (ELISA o IFAT), un Minimum DataBase completo e la qPCR, se applicabile, per verificare eventuali cambiamenti nello stato della malattia.

Algoritmo diagnostico per la diagnosi e la stadiazione della leishmaniosi



*Tipi di campioni consigliati: midollo osseo, linfonodi, milza, tamponi cutanei o congiuntivali.

³Per ulteriori informazioni sulla stadiazione clinica, il trattamento e la prognosi della leishmaniosi, visitare il sito web LeishVet: leishvet.org/fact-sheet/clinical-staging.

⁸Si consiglia l'esecuzione di una sierologia quantitativa 3 mesi dopo la terapia iniziale e poi ogni 6-12 mesi.

Riferimenti bibliografici

1. 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
2. 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
3. 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
4. Beall M, Mainville C, Arguello-Marin A, et al. An improved point-of-care ELISA for the diagnosis of anaplasmosis and ehrlichiosis during the acute phase of tick-borne infections in dogs. *Topics in Companion Anim Med*. 2022;51:100735. doi:10.1016/j.tcam.2022.100735
5. 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
6. Kova evi Filipovi MM, Beleti AD, Ili Božovi 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
7. Dati in archivio presso IDEXX Laboratories, Inc. Westbrook, Maine USA.
8. 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.
9. 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
10. 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
11. Richardson SS, Mainville CA, Arguello-Marin A, et al. A second-generation, point-of-care immunoassay provided improved detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* antibodies in PCR-positive dogs naturally infected with *Anaplasma* or *Ehrlichia* species. *J Vet Diagn Invest*. 2023;35(4):367-374. doi:10.1177/10406387231172723
12. Canine leishmaniosis: clinical staging, treatment and prognosis [fact sheet]. Sito web LeishVet. Ultimo accesso: 17 ottobre 2023. www.leishvet.org/fact-sheet/clinical-staging