

La leishmaniosi canina è endemica in molte aree del sud Italia e la sua diffusione aumenta col passare degli anni, favorita dalle variazioni climatiche che permettono al vettore di colonizzare territori in cui prima non era presente. La leishmaniosi canina presenta, frequentemente, una fase di latenza ed un decorso pre-clinico di lunga durata, che corrispondono al periodo che intercorre tra l'infestazione e la comparsa dei segni e sintomi clinici che caratterizzano la fase del decorso clinico della malattia, quando questa diventa evidente. In considerazione della elevata prevalenza di leishmaniosi canina nelle aree endemiche e della lunga fase di latenza e di decorso pre-clinico, è consigliabile effettuare test di screening su animali apparentemente sani. In altre parole, il test di screening verrà eseguito in una popolazione apparentemente sana, al fine di individuare i cani leishmaniotici nella fase di latenza o in quella pre-clinica di malattia. L'identificazione precoce dei soggetti infetti permetterà di decidere se il cane deve essere sottoposto a terapia oppure monitorato per decidere il momento più opportuno per istituire il trattamento, potendo in questo modo modificare la prognosi del paziente. Lo screening di malattia si rivolge quindi, tipicamente, ad una popolazione apparentemente sana: assumono, pertanto, particolare importanza i concetti di *sensibilità* e *specificità* del test prescelto. In parole semplici, la *sensibilità* del test esprime la capacità di identificare i veri positivi mentre la sua *specificità* quella di identificare i veri negativi. Il test ideale ha una sensibilità e specificità entrambe del 100%: una volta fissato un cut-off, ogni risultato positivo avrà identificato un vero malato o infetto ed ogni risultato negativo un vero sano o non infetto. Nella realtà, il test ideale non esiste in quanto qualsiasi test presenta sensibilità e specificità inferiori al 100%. La scelta di un test di screening (da applicare, quindi, ad una popolazione apparentemente sana) deve tenerne in considerazione sensibilità e specificità, ma assume particolare importanza la capacità di identificare i veri negativi, riducendo il rischio dei falsi tali. Nel caso di un risultato *falsamente positivo* allo screening, il Medico Veterinario potrà infatti implementare l'iter diagnostico con ulteriori esami, mentre un risultato *falso negativo* comporterà l'erronea classificazione del paziente come "sano" o non infetto. Un test di screening "ideale" deve inoltre essere effettuato su un campione raccolto con facilità, senza la necessità di procedure dolorose, particolarmente invasive e/o rischiose per il paziente oltre che, al fine di essere proposto all'intera popolazione a "rischio", deve avere un costo limitato. Se il test "ideale" non esiste nella realtà e dobbiamo quindi prestare particolare attenzione alla sua sensibilità e specificità oltre che al suo costo ed alla modalità di raccolta del campione, quale test è opportuno utilizzare per lo screening della popolazione? In una popolazione canina priva (o apparentemente priva) di segni e sintomi riferibili a leishmaniosi canina i test che possono essere proposti per lo screening sono quelli sierologici. I *test sierologici* sono test "indiretti", perché non identificano direttamente il protozoo, ma permettono di rilevare delle alterazioni clinico-patologiche indotte dal protozoo, che sono in questo caso rappresentate dalla presenza di anticorpi, quale esito della risposta immunitaria specifica. I test sierologici attualmente disponibili, e utilizzati con maggiore frequenza, sono rappresentati da test rapidi e test sierologici quantitativi.

*Test rapidi* – utilizzano metodiche immunocromatografiche e non offrono una quantificazione del titolo anticorpale, ma un risultato qualitativo: positivo (presenza di anticorpi) o negativo (assenza di anticorpi). Questi test hanno il vantaggio di poter essere utilizzati anche a livello ambulatoriale, ma lo svantaggio di una sensibilità e di una specificità che sono inferiori agli standard solitamente richiesti per essere considerati dei "buoni test di screening". Con frequenza possono dare risultati negativi in pazienti con quantitativi di anticorpi medio bassi.

*Test sierologici quantitativi* – rappresentati da IFI ed ELISA, hanno il vantaggio di una buona sensibilità e specificità e *possono essere utilizzati come test di screening*. La metodica IFI risente della lettura soggettiva dell'operatore (che può determinare la variazione della quantità di anticorpi determinata da laboratori diversi o da diversi operatori nello stesso laboratorio), mentre la metodica ELISA prevede una lettura effettuata oggettivamente da un lettore apposito e non è operatore dipendente.

Un ulteriore fattore da considerare nello screening della popolazione canina per la leishmaniosi è rappresentato dal momento dell'anno in cui viene effettuato il test. Durante la stagione di trasmissione, molti cani possono avere una stimolazione immunitaria determinata dalla puntura di flebotomi infetti, con un conseguente incremento di titoli anticorpali, che possono arrivare a scendere al di sotto del cut-off quando ci si allontana dalla stagione di trasmissione. Infine bisogna tenere presente che la risposta immunitaria, rappresentata dalla produzione di anticorpi specifici contro il protozoo, può richiedere un periodo di 3-6 mesi dall'avvenuta infezione (mediamente 5 mesi). Per esempio, un paziente infettato in ottobre potrebbe *sieroconvertire* (iniziare a produrre anticorpi) nel periodo compreso tra gennaio e aprile. Per questi motivi è consigliabile effettuare lo screening *nel periodo compreso tra fine marzo ed aprile di ogni anno*, prima dell'inizio della stagione di trasmissione.

Un risultato positivo allo screening prevede un successivo iter che verrà affrontato nella prossima newsletter *“Cane positivo al test di screening per leishmania: quali ulteriori test proporre?”*

Screening leishmaniosi canina	
A chi si rivolge il test di screening?	Ad una popolazione apparentemente sana, nell'ambito della quale la malattia ha una prevalenza particolarmente elevata: assumono particolare importanza i concetti di sensibilità e specificità del test prescelto
Quando effettuare lo screening?	In area endemica è consigliabile effettuare lo screening tra fine marzo ed aprile
Quale test di screening utilizzare?	Test sierologici quantitativi: IFI ed ELISA quantitativo

Veterinary Clinical Pathology ISSN 0275-6382

INVITED REVIEW

## Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis

Saverio Paltrinieri<sup>1</sup>, Luigi Gradoni<sup>2</sup>, Xavier Roura<sup>3</sup>, Andrea Zatelli<sup>4</sup>, Eric Zini<sup>5,6,7</sup>

<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, University of Milan, Milan, Italy; <sup>2</sup>Unit of Vector-borne Diseases & International Health, Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy; <sup>3</sup>Hospital Clínic Veterinari, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Spain; <sup>4</sup>Medical Consultancy Services, TàXbiex, Malta; <sup>5</sup>Clinic for Small Animal Internal Medicine, University of Zurich, Zurich, Switzerland; <sup>6</sup>Department of Animal Medicine, Production and Health, University of Padova, Padova, Italy; and <sup>7</sup>Istituto Veterinario di Novara, Granozzo con Monticello, Italy