

ABSTRACT

Lo scopo di questo studio è di **confrontare sensibilità e specificità di due test point-of-care (POC) per l'individuazione dell'antigene (Ag) della Filaria, degli anticorpi (Ab) rivolti verso Leishmania, degli anticorpi (Ab) rivolti verso Anaplasma, degli anticorpi (Ab) rivolti verso Ehrlichia.** Sono stati testati 90 campioni di sangue canino in totale, 50 dei quali sono risultati positivi e 40 negativi, utilizzando scil **trūRapid™ FOUR Leish** e Urano® Quattro. I test sono stati effettuati seguendo le istruzioni per l'utilizzo del kit presenti sui rispettivi foglietti illustrativi. Per la valutazione di sensibilità e specificità di entrambi i test **Urano®** e **trūRapid™**, è stato utilizzato DiroCHEK come test di riferimento per rilevare l'effettiva presenza dell'Ag della Filaria (HW) nei campioni, mentre la metodica dell'immunofluorescenza indiretta (IFA) è stata utilizzata come test di riferimento per identificare l'effettiva presenza degli anticorpi anti-Leishmania, anti-Anaplasma e anti-Ehrlichia nei campioni di siero. Il test **Urano Quattro** permette di rilevare solo la specie *E. canis*, mentre **trūRapid FOUR Leish** è in grado di rilevare tutte e tre le specie *E. ewingii*, *E. canis* ed *E. chaffeensis*. **trūRapid FOUR Leish ha dimostrato di possedere il 100% di sensibilità e il 100% di specificità quando è stato confrontato con il test IFA**, laddove il test **Urano Quattro** ha dimostrato di possedere il 96% di sensibilità e il 100% di specificità quando è stato comparato al test IFA.

Dai dati risulta evidente che il test Urano ha fallito nell'identificazione di *E. ewingii* nei campioni positivi per essa, il che si dimostra coerente con le informazioni riportate. Riguardo Anaplasma, il test Urano Quattro rileva solo *Anaplasma platys*, mentre trūRapid FOUR Leish individua sia *A. phagocytophilum* che *A. platys*.

INTRODUZIONE

Dirofilariosi, Leishmaniosi, Anaplasmosi ed Ehrlichiosi sono malattie da vettori, che possono infettare i cani e altre specie animali. Mentre Anaplasma ed Ehrlichia sono trasmesse dalle zecche, il cane viene infettato dalla Dirofilaria attraverso la puntura delle zanzare, e dalla Leishmania attraverso la puntura dei flebotomi.

Dirofilaria (Heartworm) si localizza comunemente nel sistema arterioso polmonare e nel cuore e l'effetto più grave sulla salute dell'animale è il danneggiamento dei vasi e del tessuto polmonare. Il quadro clinico della patologia è variabile, in base al paziente. **I casi meno gravi possono essere asintomatici, mentre i più gravi possono mostrare differenti stadi di patologie respiratorie e cardiovascolari.** Il parassita risulta endemico in molte regioni tropicali e subtropicali.¹

Leishmania infantum è l'agente principale di trasmissione della Leishmaniosi, una zoonosi diffusasi attraverso le aree tropicali, subtropicali, l'Europa meridionale e l'area del Mediterraneo attraverso le femmine di flebotomo (*Phlebotomidae*), che svolgono il ruolo di vettori della patologia. La Leishmaniosi è anche molto nota nelle aree più a nord per essere una patologia da viaggio o d'importazione. Dato il lungo periodo di incubazione, che varia da mesi ad anni, possono essere infettati cani di tutte le età. **La malattia può manifestarsi in modo sintomatico, subclinico o latente;** i sintomi clinici sono (in ordine decrescente di frequenza) linfadenopatia, manifestazioni cutanee, cachessia, ipertermia, congiuntivite, splenomegalia e crescita anomala delle unghie. Negli stadi terminali della patologia può svilupparsi insufficienza renale, che spesso porta a complicazioni. Non è possibile un'eradicazione del parassita, pertanto **è necessario effettuare una diagnosi precoce ed effettuare un trattamento a vita del paziente affetto da questa patologia.**²



Confronto fra i test Uranotest® Quattro e trūRapid FOUR Leish (studio interno)

TEST
IMMUNOLOGICI



Anaplasma phagocytophilum/platys sono i principali patogeni causa di Anaplasmosi, una patologia di origine batterica che nel cane può manifestarsi in due forme: *Anaplasma phagocytophilum* infetta i granulociti neutrofili (è la stessa forma che colpisce l'uomo), mentre *A.platys* infetta le piastrine. **L'Anaplasmosi si riscontra in tutto il mondo in un vasto numero di mammiferi, inclusi cani, gatti ed esseri umani.** I roditori sono ritenuti i reservoir di *Anaplasma phagocytophilum*, mentre è stato ipotizzato che i cani siano i reservoir di *Anaplasma platys*. In entrambi i casi, mentre i mammiferi sono i reservoir, le zecche sono il mezzo di trasmissione. Solitamente i sintomi esordiscono da una a due settimane dopo il morso iniziale della zecca e la conseguente trasmissione della patologia. I sintomi variano a seconda del patogeno che ha infettato il cane. *Anaplasma phagocytophilum* è la forma più comune di Anaplasmosi. **I sintomi segnalati includono zoppia e dolore articolare, letargia, inappetenza, febbre.** *Anaplasma platys* infetta le piastrine, pertanto i sintomi di questa forma di Anaplasmosi sono correlati all'incapacità dell'organismo di arrestare il sanguinamento e includono ecchimosi, petecchie ed epistassi.³

Ehrlichiosi è il termine generico utilizzato per descrivere le patologie causata dalle specie batteriche *Ehrlichia canis*, *chaffeensis* e *ewingii* aventi come vettore di trasmissione le zecche. L'infezione causa una patologia multisistemica nel cane, caratterizzata da una forma acuta con segni aspecifici, disordini coagulativi e lesioni oftalmiche. La forma subclinica è di comune riscontro e comprende lieve malessere e trombocitopenia. Alcuni pazienti sviluppano la forma cronica, che spesso assomiglia a quella della fase acuta.

Gli anticorpi contro Ehrlichia iniziano ad essere prodotti entro 6-28 giorni post infezione e devono essere valutati in associazione al quadro clinico del paziente.⁴

MATERIALI E METODI

- **Test Urano® Quattro**, Lotto n°231211, data di produzione: 14 settembre 2021, data di scadenza: 13 settembre 2023
- **Test trūRapid™ FOUR Leish**, N°seriale 22A505, data di scadenza: 15 marzo 2024

Campioni: questo studio comparativo comprendeva 50 campioni positivi e 40 campioni negativi per un totale di 90 campioni di siero. I campioni di siero utilizzati per ciascuna analisi sono stati ottenuti dalla North Carolina Animal clinic, da Vet in Progress, dalla Grecia e dalla Liberty and Research Waverly.

Tutti i campioni sono stati testati seguendo le istruzioni presenti all'interno dei kit. I campioni a negatività nota e i campioni di sangue intero sono stati testati su tutte le strisce reattive. I campioni a positività nota sono stati testati solo sulla striscia reattiva specifica per ogni singolo test. Per entrambi i test **trūRapid™ FOUR Leish** e **Urano® Quattro** sono state esaminate le linee corrispondenti al risultato (Ag Filaria, Ab Leishmania, Ab Anaplasma, Ab Ehrlichia) e la linea del controllo. I risultati sono stati registrati e classificati come positivi o negativi.

La lettura dei risultati (Pos/Neg) è stata poi comparata tra **Uranotest®** e **trūRapid™** per le diverse tipologie di campione.



scil.
Partner per
l'eccellenza

Medicina Veterinaria
Soluzioni Diagnostiche
Formazione Continua
Consulenza Specializzata

RISULTATI

Per la valutazione della sensibilità e specificità di entrambi i test **Urano®** e **trūRapid™**, è stato utilizzato **DiroCHEK** come test di riferimento, per identificare l'effettiva presenza dell'Ag della *Filaria* nei campioni di siero, mentre la metodica dell'immunofluorescenza indiretta (IFA) è stata utilizzata come test di riferimento per identificare l'effettiva presenza dell'Ab verso *Leishmania*, dell'Ab verso *Anaplasma* e dell'Ab verso *Ehrlichia* nei campioni di siero. Sono state valutate la sensibilità e la specificità dei test per tutti i campioni, confrontando i risultati visivi ottenuti con i rispettivi test di riferimento. I 10 campioni di sangue intero sono risultati negativi sia per **Uranotest®** che per **trūRapid™** (dati non pubblicati).

Tabella 1: Risultati della ricerca dell'Ag di HW di trūRapid™ FOUR Leish confrontati con DiroCHEK

HW Ag		DiroCHEK	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	50	0
	Negativo	0	40
Sensibilità		100%	
Specificità		100%	

Tabella 2: Risultati della ricerca dell'Ag di HW di Urano® Quattro HW confrontati con DiroCHEK

HW Ag		DiroCHEK	
		Positivo	Negativo
Urano®	Positivo	50	0
	Negativo	0	40
Sensibilità		100%	
Specificità		100%	

Tabella 3: Confronto tra sensibilità e specificità di trūRapid™ FOUR Leish e Urano® Quattro test per il rilevamento dell'Ag di HW

HW Ag		Urano®	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	50	0
	Negativo	0	40
Correlazione		100%	

Tabella 4: Risultati del test trūRapid™ FOUR Leish per la ricerca degli Ab verso Leishmania confrontati con IFA

Leish Ab		IFA	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	42	0
	Negativo	32	16
Sensibilità		56.8%	
Specificità		100%	

Tabella 5: Risultati del test Urano® Quattro per la ricerca degli Ab verso Leishmania confrontato con IFA

Leish Ab		IFA	
		Positivo	Negativo
Urano®	Positivo	42	0
	Negativo	32	16
Sensibilità		56.8%	
Specificità		100%	

Tabella 6: Confronto tra sensibilità e specificità dei test trūRapid™ FOUR Leish e Urano® Quattro test per il rilevamento degli Ab verso Leishmania

Leish Ab		Urano®	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	42	0
	Negativo	32	16
Correlazione		100%	



Confronto fra i test Uranotest® Quattro e trūRapid FOUR Leish (studio interno)

TEST
IMMUNOLOGICI



Tabella 7: Risultati del test trūRapid™ FOUR Leish per la ricerca degli Ab verso Anaplasma confrontati con IFA

Anaplasma Ab		IFA	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	49	0
	Negativo	1	40
Sensibilità		98%	
Specificità		100%	

Tabella 8: Risultati del test Urano® Quattro per la ricerca degli Ab verso Anaplasma confrontati con IFA

Anaplasma Ab		IFA	
		Positivo	Negativo
Urano®	Positivo	50	0
	Negativo	0	40
Sensibilità		100%	
Specificità		100%	

Tabella 9: Confronto tra sensibilità e specificità dei test trūRapid™ FOUR Leish e Urano® Quattro test per il rilevamento degli Ab verso Anaplasma

Anaplasma Ab		Urano®	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	49	0
	Negativo	1	40
Correlazione		98,9%	

Tabella 10: Risultati del test trūRapid™ FOUR Leish per la ricerca degli Ab verso Ehrlichia confrontati con IFA

Ehrlichia Ab		IFA	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	50	0
	Negativo	0	40
Sensibilità		100%	
Specificità		100%	

Tabella 11: Risultati del test Urano® Quattro per la ricerca degli Ab verso Ehrlichia confrontati con IFA

Ehrlichia Ab		IFA	
		Positivo	Negativo
Urano®	Positivo	48	0
	Negativo	2	40
Sensibilità		96%	
Specificità		100%	

Tabella 12: Confronto tra sensibilità e specificità dei test trūRapid™ FOUR Leish e Urano® Quattro test per il rilevamento degli Ab verso Ehrlichia

Ehrlichia Ab		Urano®	
		Positivo	Negativo
trūRapid™ FOUR Leish	Positivo	48	2
	Negativo	0	40
Correlazione		97,8%	

CONCLUSIONI

- **Ricerca dell'Ag della Filaria (HW):** tutti i risultati dei campioni positivi e negativi per la ricerca dell'antigene di HW sono stati confermati con il test DiroCHEK. I risultati dei test hanno mostrato che entrambi i test **Urano® Quattro** e **trūRapid™ FOUR Leish** hanno il 100% di sensibilità e il 100% di specificità messi a confronto con il test di riferimento DiroCHEK. **Entrambi i test trūRapid™ e Urano® hanno la medesima sensibilità e specificità per l'individuazione dell'antigene di HW.**
- **Ricerca degli Ab verso Leishmania:** entrambi i test, **trūRapid™ FOUR Leish** e **Urano® Quattro** hanno mostrato di avere il 56,8% di sensibilità per la rilevazione dell'Ab verso Leishmania quando messi a confronto con il test IFA positivo (titolo basso IFA 1:100 e IFA 1:200), mentre la specificità era del 100%. **Entrambi i test hanno una sensibilità minore rispetto al test di riferimento IFA con il quale sono stati messi a confronto.**



scil.
Partner per
l'eccellenza

Medicina Veterinaria
Soluzioni Diagnostiche
Formazione Continua
Consulenza Specializzata

Confronto fra i test Uranotest® Quattro e trūRapid FOUR Leish (studio interno)

TEST
IMMUNOLOGICI



- **Ricerca degli Ab verso Anaplasma:** il test **trūRapid™ FOUR Leish** ha mostrato una sensibilità del 98%, mentre il test **Urano® Quattro** ha mostrato il 100% di sensibilità utilizzato sui campioni positivi ad IFA. Ma entrambi i test **trūRapid™ FOUR Leish** e **Urano® Quattro** hanno mostrato il 100% di specificità utilizzati sui campioni negativi ad IFA. Riguardo Anaplasma, il test **Urano®** rileva solo *Anaplasma platys*, mentre **trūRapid™ FOUR Leish** rileva sia *A. phagocytophilum* che *A. platys*.
- **Ricerca degli Ab verso Ehrlichia:** **trūRapid™ FOUR Leish** ha mostrato il 100% di sensibilità e il 100% di specificità ed è in grado di individuare *E. ewingii*, *E. canis* ed *E. Chaffeensis*, mentre il test **Urano®** rileva solo *E. canis* quando confrontato con il test IFA. Per quanto riguarda il test **Urano®**, viene dichiarato che possiede il 100% di sensibilità per la ricerca degli anticorpi verso *E. canis* nei campioni positivi ma durante la prova ha fallito nell'individuare *E. ewingii* nei campioni positivi per essa, il che è coerente con quanto viene dichiarato dal produttore.

1- *Dirofilaria* in Humans, Dogs, and Vectors in Austria (1978–2014)—From Imported Pathogens to the Endemicity of *Dirofilaria repens*, Hans-Peter Fuehrer, Herbert Auer, Michael Leschnik, Katja Silbermayr, Georg Duscher, Anja Joach. Published: Maggio 19, 2016

2- LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis, Laia Solano-Gallego, Guadalupe Miró, Alek Koutinas, Luis Cardoso, Maria Grazia Pennisi, Luis Ferrer, Patrick Bourdeau, Gaetano Oliva & Gad Baneth. 20 Maggio 2011

3- Epidemiological and Clinicopathological Features of *Anaplasma phagocytophilum* Infection in Dogs: A Systematic Review, Sarah El Hamiani Khatat, Sylvie Daminet, Luc Duchateau, Latifa Elhachimi, Malika Kachani and Hamid Sahibi, Front. Vet. Sci.. 23 Giugno 2021 Sec. Parasitology

4- Ehrlichiosis in Dogs: A Comprehensive Review about the Pathogen and Its Vectors with Emphasis on South and East Asian Countries, Muhammad Umair Aziz, Sabir Hussain, Baolin Song, Hammad Nayyar Ghauri, Jehan Zeb, Olivier Andre Sparagano Published. 29 Dicembre 2022



scil.
Partner per
l'eccellenza

Medicina Veterinaria
Soluzioni Diagnostiche
Formazione Continua
Consulenza Specializzata