


[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Canine

LINEE GUIDA LEISHMANIOSI

- Rivolte a Medici Veterinari
- Revisione della letteratura
- Ove vengano identificate aree non complete e/o con riferimenti in letteratura non soddisfacenti si cerca un consenso



[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Canine

LINEE GUIDA LEISHMANIOSI

- Congresso SCIVAC
- Rivista "Veterinaria"
- Sito www.gruppoleishmania.org




[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Cutanee

LINEE GUIDA LEISHMANIOSI

Come ogni linea guida

- Non ha la pretesa di essere “corretta” e applicabile ad ogni situazione
- Il clinico deve interpretare ed adattare le linee guida al caso clinico



Board del G.S.L.C.

[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Cutanee



Board del G.S.L.C.		[GSLC] Gruppo di Studio sulla Leishmaniosi Canina
 ANDREA ZATELLI	Chairman	
 ERIC ZINI, DECVIM-CA	Nefrologia	
 SAVERIO PALTRINIERI, DECVCP	Patologia Clinica	
 GAETANO OLIVA	Medicina Interna	
 ALBERTO CROTTI	Oftalmologia	
 MASSIMO CASTAGNARO, DECVCP	Istologia	
 XAVIER ROURA, DECVIM-CA	Medicina Interna	
 MICHELE MAROLI	Entomologia	
 ALESSANDRA FONDATI, DECVD	Dermatologia	
 LUIGI GRADONI	Parassitologia	
 GEORGE LUBAS, DECVIM-CA	Ematologia	
 LAIA SOLANO-GALLEGO, DECVCP	Immunologia Clinica	
PAOLA BADIALE	Rappresentante HILL'S	

[GSLC] Gruppo di Studio sulla Leishmaniosi Canina

Linee guida
APPROCCIO DIAGNOSTICO


Rimini, 31 maggio 2007

[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Cutanee

DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI


<ul style="list-style-type: none">• Segnalamento• Anamnesi<ul style="list-style-type: none">• Remota• Recente• Ambientale• Farmacologica• Reperti fisici<ul style="list-style-type: none">• (diagnostica per immagini)• Alterazioni di laboratorio	<ul style="list-style-type: none">• Diagnosi eziologica<ul style="list-style-type: none">• Diretta<ul style="list-style-type: none">• Citologia• Istologia• Metodi parassitologici• PCR• Indiretta<ul style="list-style-type: none">• Sierologia
--	--



[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Cutanee

DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI


<ul style="list-style-type: none">• Emocromocitometrico<ul style="list-style-type: none">• Anemia scarsamente o non rigenerativa• Possibile anemia rigenerativa (processi immunomediati)• Leucocitosi neutrofila e monocitaria con linfopenia e eosinopenia (leucogramma da stress/infiammazione)• Leucopenia• Eventuale trombocitopenia• Profilo coagulativo di base<ul style="list-style-type: none">• Iperfibrinogenemia, possibile allungamento PT e aPTT	<ul style="list-style-type: none">• Profilo biochimico<ul style="list-style-type: none">• Iperproteinemia, ipoalbuminemia, iperglobulinemia, alterato rapporto Albumina/Globuline• Azotemia• Aumento degli enzimi epatici• Elettroforesi delle sieroproteine<ul style="list-style-type: none">• Ipoalbuminemia,• Aumento di globuline α_2• Gammopatia poli/oligoclonale• Analisi delle urine<ul style="list-style-type: none">• Urine isostenuriche (1008-1012) o scarsamente concentrate (<1030)• Proteinuria
--	---



DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI

[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina


Analisi delle urine



QUANDO?

- Quando i test convenzionali risultano negativi in cani con patologie note per indurre glomerulopatie proteino-disperdenti
- Quando i test convenzionali danno risultati dubbi

*ACVIM Consensus Statement
J Vet Intern Med 2005;19:377-385*



DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI

[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

- Segnalamento
- Anamnesi
 - Remota
 - Recente
 - Ambientale
 - Farmacologica
- Reperti fisici
 - (diagnostica per immagini)
- Alterazioni di laboratorio

- Diagnosi eziologica
 - Diretta
 - Citologia
 - Istologia
 - Metodi parassitologici
 - PCR
 - Indiretta
 - Sierologia



[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Cutanee

DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI







Citologia/Istologia

LESIONI CAMPIONABILI

- lesioni cutanee papulari, nodulari e ulcerative: (ago-infissione o ago-aspirazione, apposizione)
- midollo e linfonodi
- fluidi biologici (liquido sinoviale liquido cefalorachidiano, ecc)

NO LESIONI CAMPIONABILI

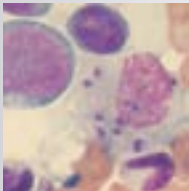
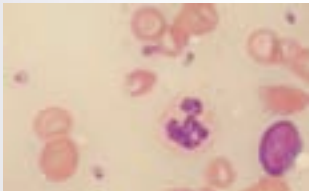
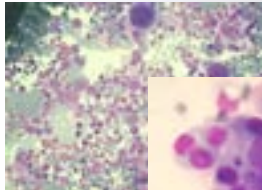
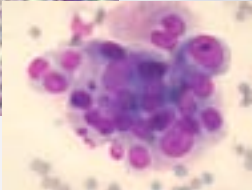
- midollo osseo
- linfonodo e milza
- sangue







[GSLC]
Gruppo di Studio sulle
Leishmaniosi Cutanee

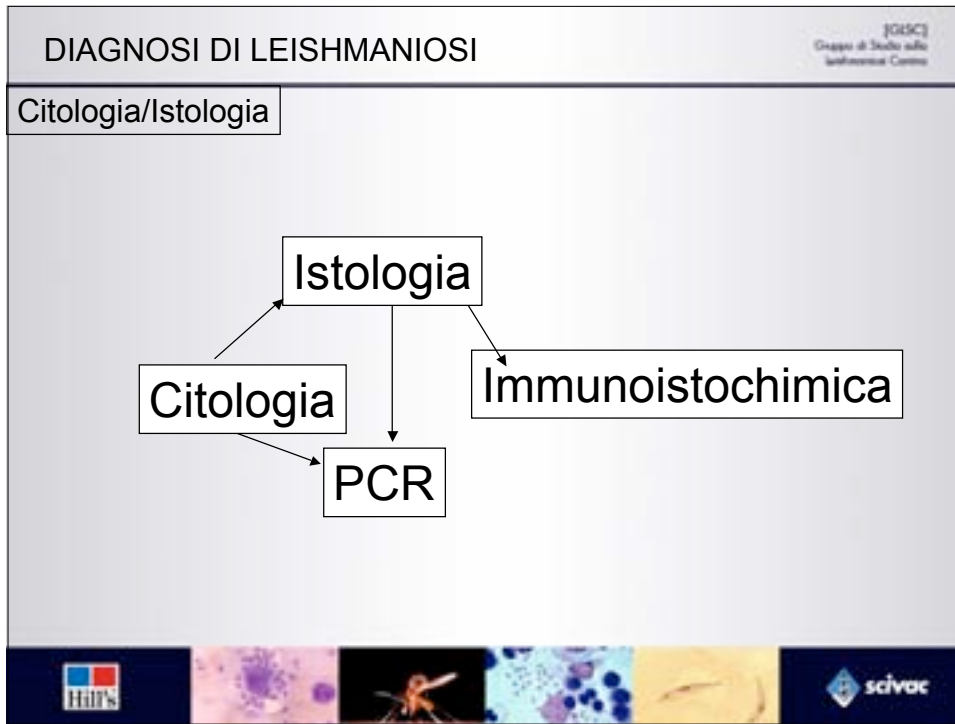
DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI

Citologia/Istologia

MIDOLLO	<i>Spec = 100%</i>	<i>Sens 50%</i>
LINFONODO	<i>Spec = 100%</i>	<i>Sens 30%</i>
MIDOLLO + LINFONODO	<i>Spec = 100%</i>	<i>Sens 90%</i>
SANGUE	<i>Spec = 100%</i>	<i>Sens ?%</i>
MILZA	<i>Spec = 100%</i>	<i>Sens 30%</i>
CUTE (con lesioni)	<i>Spec = 100%</i>	<i>Sens 50%</i>



DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI

[GSLC] Gruppo di Studio sulla Leishmaniosi Cutanea

PCR (convenzionale, nested, quantitativa)

Più sensibile?
Più specifico

Utile per monitoraggio

[GISC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Cutanea

DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI

PCR (convenzionale, nested, quantitativa)

QUALE MATERIALE?

1	<ul style="list-style-type: none"> ·LINFONODO ·Alta sensibilità e specificità ·Facile esecuzione 	<ul style="list-style-type: none"> ·MIDOLLO OSSEO ·Alta sensibilità e specificità ·Prelievo più complesso
2	<ul style="list-style-type: none"> ·SANGUE (BUFFY COAT) ·Specifico ma meno sensibile 	<ul style="list-style-type: none"> ·SANGUE INTERO ·Poco specifico, poco sensibile

<ul style="list-style-type: none"> ·MILZA ·Sensibilità dell' 86% in sintomatici 	<ul style="list-style-type: none"> ·CONGIUNTIVA ·Sensibilità 92% ·Specificità 100% ·Positivo a 45 gg. p.i. 	<ul style="list-style-type: none"> ·CUTE? ·Lesioni!!
---	--	--




[GISC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Cutanea

DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI

Sierologia



- Possibili falsi positivi
 - Cross reattività con altri flagellati (rara-assente in Italia)
 - Errori tecnici
 - “rumore di fondo” dei kit (ELISA)
- Possibili falsi negativi (+ frequenti)
 - Titolo anticorpale non rilevabile (fase iniziale - 6-7 mesi/anni) per:
 - Bassa quantità di anticorpi
 - Poca sensibilità analitica del test
 - Lesioni localizzate (uomo)
 - Errori tecnici







[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Cutanea

DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI


Sierologia

- IFAT  

 - Vantaggi:
 - Titolazione
 - Alta sens / spec
 - Svantaggi:
 - Soggettività!!!
- ELISA 

 - Vantaggi:
 - Migliore standardizzazione / interpretazione
 - Svantaggi:
 - Sensibilità variabile (migliore se utilizzati multi antigeni o promastigoti totali)
- Immunomigrazione   

 - Vantaggi:
 - Praticità / velocità
 - Svantaggi:
 - Media specificità
 - Sensibilità bassa (30-70%)




[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Cutanea

DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI

Sierologia

	SENS	SPEC
•IFAT	ALTA (>98%)	ALTA (100%)
•ELISA	ALTA (>95%)	ALTA (100%)
•Immunomigrazione	BASSA (30-70%)	MEDIA (50-70%)

TITOLO!!!
ALTO = 4 volte oltre il limite di riferimento del lab
Scegliere stesso metodo e stesso laboratorio





Prima il cane, poi il laboratorio

[GSLC] Gruppo di Studio sulle Infestazioni Canine


The diagram illustrates a diagnostic cycle. On the left is a cartoon of a doctor in a white coat with a stethoscope, holding a blue device. A blue arrow points from the doctor to a photograph of a small dog. Another blue arrow points from the dog to a gel electrophoresis image showing several lanes of DNA bands. A final blue arrow points from the gel back to the doctor, completing the cycle.

At the bottom of the slide, there is a row of logos and images: the HHS logo, a micrograph of purple-stained cells, a photograph of a mosquito, a micrograph of blue-stained cells, a photograph of a fly, and the scivac logo.

[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

Con il termine **infezione** si intende la penetrazione e la moltiplicazione di microrganismi (virus, batteri, miceti, protozoi, metazoi) in un macrorganismo (pianta, animale, uomo). L'infezione è la premessa per una malattia infettiva

Una **malattia** infettiva è una malattia determinata da agenti patogeni che entrano in contatto con un individuo. Tali agenti causali possono Essere batteri, virus, miceti, elminti, muffe e protozoi. La malattia è il risultato della complessa interazione tra il sistema immunitario e l'organismo estraneo




[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

Definizioni:

Un cane **infetto** da *L. infantum* è un soggetto nel quale sia dimostrabile la presenza del parassita, con metodi diretti (microscopia, coltura, PCR) o con metodi indiretti (messa in evidenza di anticorpi specifici)

Un cane infetto può essere definito **malato** quando mostra uno o più segni clinici di leishmaniosi, incluse alterazioni ematologiche, ematobiochimiche ed urinarie




Quando è chiesta la diagnosi?

[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

CANE PORTATO A VISITA:

1. Presenta segni clinici
2. Non presenta segni clinici ma vive o ha soggiornato in area ad elevato rischio (endemica)



DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI


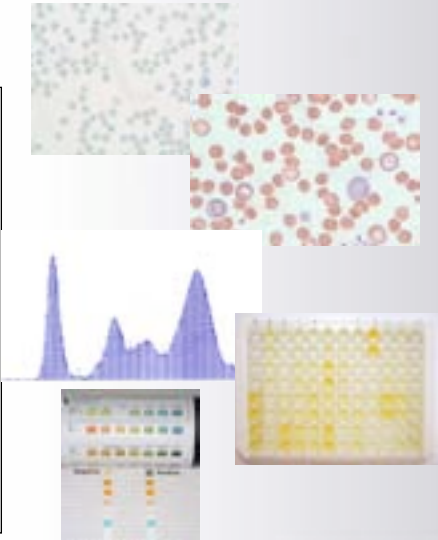
[GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

- Segnalamento
- Anamnesi
 - Remota
 - Recente
 - Ambientale
 - Farmacologica
- **Reperti fisici (box n. 1)**
 - Diagnostica per immagini
 - Alterazioni di laboratorio



DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI [GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina


- Segnalamento
- Anamnesi
 - Remota
 - Recente
 - Ambientale
 - Farmacologica
- Reperti fisici
- Diagnostica per immagini
- **Alterazioni di laboratorio (box n. 2)**



Per la diagnosi: [GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

- 1) identificare il parassita
- 2) valutare la risposta immunitaria del cane

Per questo motivo, devono essere integrati tra loro **diversi metodi** di diagnosi



IL cane presenta segni clinici [GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina


Integrazione dei dati
IN CANI CON SEGNI CLINICI E DI LABORATORIO

SIEROLOGIA	+ / ++	-	++	+*
CITOLOGIA	+	+	-	-

↓

ANIMALE MALATO

*se segni clinici o di laboratorio riferibili a leishmaniosi
e PCR positiva (positività istologica / immunohistochimica
in presenza di lesioni cutanee)



Il cane non presenta segni clinici ma vive o ha soggiornato in area ad elevato rischio (endemica) [GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

ELISA


test di immunomigrazione rapida

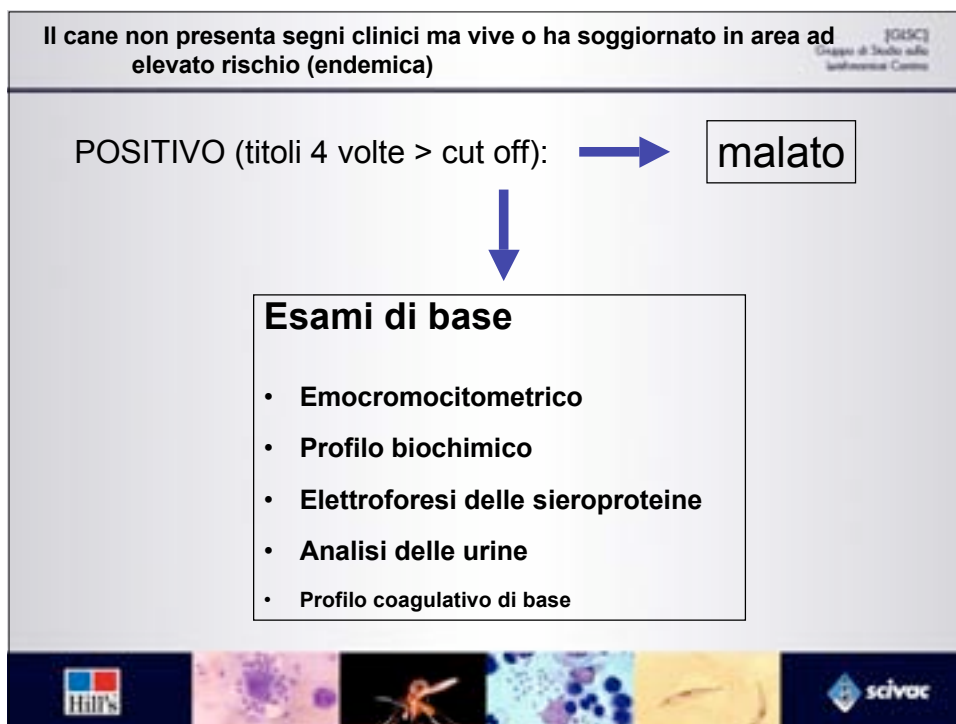
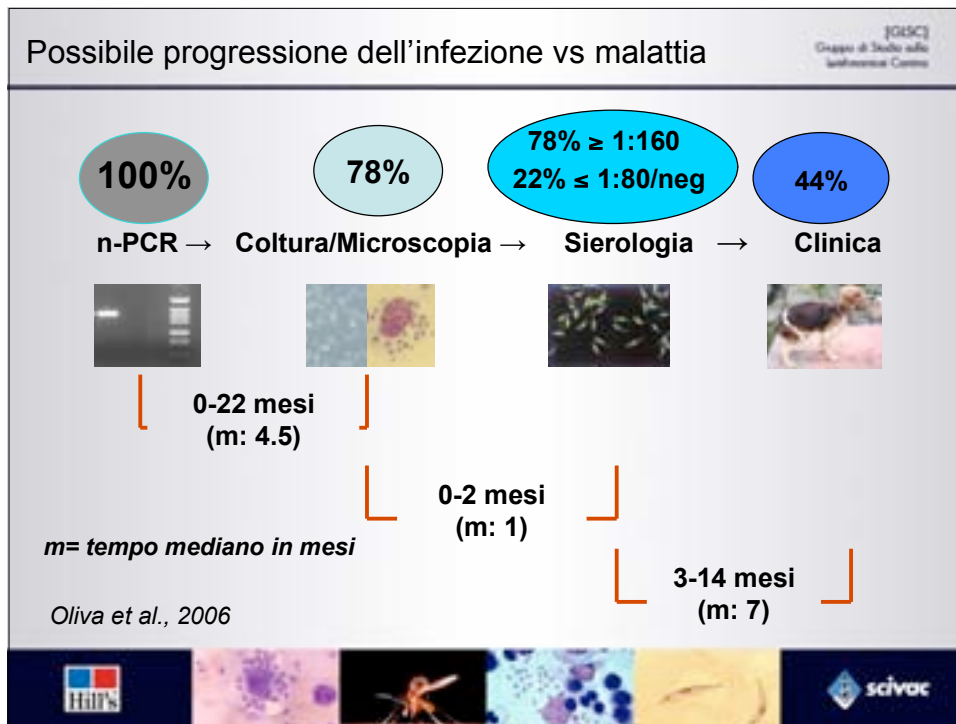
IFAT

In genere positivi dopo

4 – 5 mesi dalla/e


puntura/e infettante/i





Il cane non presenta segni clinici ma vive o ha soggiornato in area ad elevato rischio (endemica) [GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

NEGATIVO: Controllo dopo 6 mesi – 1 anno	POSITIVO (basso titolo) Esami di base <ul style="list-style-type: none">• Emocromocitometrico• Profilo biochimico• Elettroforesi delle sieroproteine• Analisi delle urine• Profilo coagulativo di base Se tutto nella norma: controllo dopo 2-3 mesi
---	---



DIAGNOSI DI LEISHMANIOSI [GSLC]
Gruppo di Studio sulla
Leishmaniosi Canina

IN CANI CON ALTERAZIONI DI LABORATORIO

SIEROLOGIA + (basso)

se alterazioni di laboratorio compatibili con leishmaniosi

↓

PCR (linfonodo, midollo)

↓ ↓

PCR negativa esposto	PCR positiva infetto/malato
-------------------------	--------------------------------

