

## European Society of Veterinary Clinical Pathology (ESVCP/ECVCP)



### ESTUDIO COMPARATIVO DE TESTS SEROLÓGICOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CANINOS ANTI-*LEISHMANIA INFANTUM*

L. Solano-Gallego<sup>1</sup>, S. Villanueva-Saz<sup>1</sup>, M. Carbonell<sup>1</sup>, T. Furlanello<sup>2</sup>, A. Natale<sup>3</sup>, M. Trotta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departament de Medicina i Cirurgia Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Laboratorio Privato Veterinario San Marco, (Padova, Italy)

<sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (Padova, Italy)

El objetivo de este estudio fue evaluar las medidas de rendimiento diagnóstico de seis tests serológicos para la detección de anticuerpos frente el antígeno de *Leishmania infantum*. Fueron analizados tres ELISA cuantitativos disponibles comercialmente (Leiscan®, ID Screen® y *Leishmania* 96®), un test cualitativo (Speed Leish K®) y dos técnicas serológicas cuantitativas (ELISA UAB e IFI) no comerciales.

Se estudiaron perros clínicamente enfermos (n=36), perros seropositivos aparentemente sanos clínicamente (n=18), perros seropositivos con niveles de anticuerpos de bajos a altos (n=53), perros no infectados por *L. infantum* de áreas endémicas (n=32), perros no infectados áreas no endémicas (n=50) y perros seropositivos a otros patógenos (n=14).

Se caracterizaron los grupos de perros en base a historia clínica, exploración física completa, pruebas de laboratorio rutinarias, serología cuantitativa y/o PCR en tiempo real. Las medidas de rendimiento analizadas para cada prueba fueron: sensibilidad, especificidad, exactitud, análisis de área bajo la curva e índice Kappa.

- El ELISA UAB resultó ser el test más sensible (1.000), seguido de Leiscan® e ID Screen® (0.953), *Leishmania* 96® (0.925) e IFI (0.869), mientras que Speed Leish K® fue el menos sensible (0.636).
- La máxima especificidad (1.000) se obtuvo para todas las pruebas diagnósticas excepto el IFI (0.917) y *Leishmania* 96® (0.896).
- El ELISA UAB mostró la mayor precisión con un valor de 1.000 seguido por Leiscan® e ID Screen® (0.975) y *Leishmania* 96® (0.911). Los resultados más bajos de precisión los mostraron el IFI (0.891) y Speed Leish K® (0.808).
- En relación al área bajo la curva ROC, el valor máximo fue obtenido por el ELISA UAB (1.000), seguido por ID Screen® (0.993), Leiscan® (0.990), *Leishmania* 96® (0.962), IFI (0.926) y Speed Leish K® (0.818).
- Para el índice Kappa, el mejor resultado se obtuvo mediante el método ELISA UAB (1.0) y el resultado más bajo por Speed Leish K® (0.622).

En general, el ELISA UAB, Leiscan® y ID Screen® obtuvieron medidas de rendimiento diagnóstico superiores que el IFI ( $P<0,05$ ), y todas las pruebas serológicas cuantitativas resultaron superiores ( $P<0,05$ ) en comparación con el único test rápido cualitativo evaluado (Speed Leish K®).

Estos resultados tienen importantes implicaciones en la práctica clínica debido al hecho de que Speed Leish K® (una prueba cualitativa rápida con bajo rendimiento diagnóstico) se utiliza para hacer el diagnóstico de leishmaniosis clínica y como test de *cribado* antes de la vacunación con CaniLeish®.

# A COMPARATIVE STUDY OF SEROLOGICAL TESTS FOR THE DETECTION OF CANINE ANTI-*LEISHMANIA INFANTUM* ANTIBODIES

Solano-Gallego, L<sup>1</sup>; Villanueva-Saz, S.<sup>1</sup>; Carbonell, M<sup>1</sup>; Furlanello, T<sup>2</sup>; Natale, A<sup>3</sup>; Trotta, M<sup>2</sup>

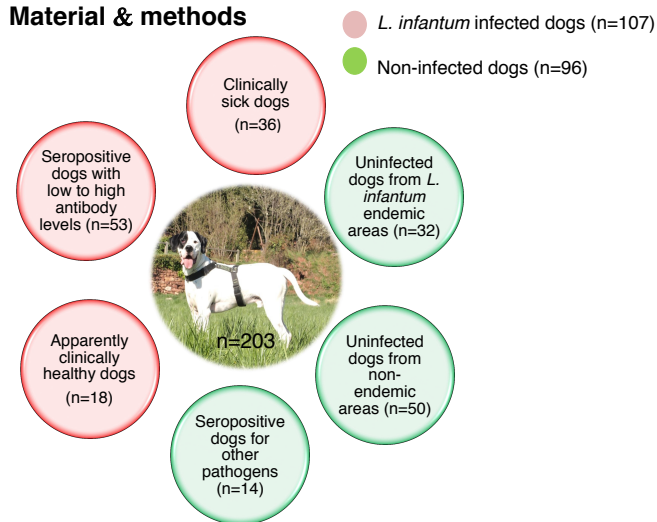
<sup>1</sup>Departament Medicina i Cirurgia Animals. Facultat Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona (Barcelona, Spain)

<sup>2</sup>Laboratorio Privato Veterinario San Marco, (Padova, Italy)

<sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, IZSV (Padova, Italy)

The **Aim** of this study was to evaluate the diagnostic performance of five serological tests for the detection of canine antibodies against *Leishmania infantum* antigen in dogs in different stages of infection.

## Material & methods



## Serological tests:

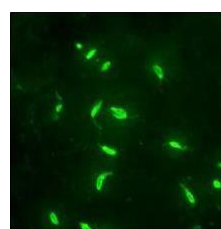


### Commercial ELISAs

- ✓ ID Screen ®
- ✓ Leiscan ®
- ✓ Leishmania 96®



### Qualitative test: Speed Leish K®



### IFAT performed in IZSV

All dogs were characterized based on a combination of some or all of the following: clinical history, complete physical examination, routine laboratory tests and *L. infantum* ELISA in house UAB and real-time PCR.

## Results

Table 1. Diagnostic performance measures results.

	ID Screen ®	Leiscan ®	Leishmania 96 ®	IFAT	Speed Leish K ®
Accuracy	0.975	0.975	0.911	0.892	0.808
Sensitivity	0.953	0.953	0.925	0.869	0.636
Specificity	1.000	1.000	0.896	0.917	1.000
Youden index	0.953	0.953	0.821	0.786	0.636
Kappa agreement	0.951	0.951	0.822	0.783	0.622

Table 2. Area under receiver-operating curve (AUC-ROC) analysis

AUC-ROC (CI, 95%)	
ID Screen ®	0.993 (0.983-1.000)
Leiscan ®	0.990 (0.975-1.000)
Leishmania 96 ®	0.962 (0.938-0.985)
IFAT in house	0.926 (0.886-0.966)
Speed Leish K ®	0.818 (0.757-0.878)

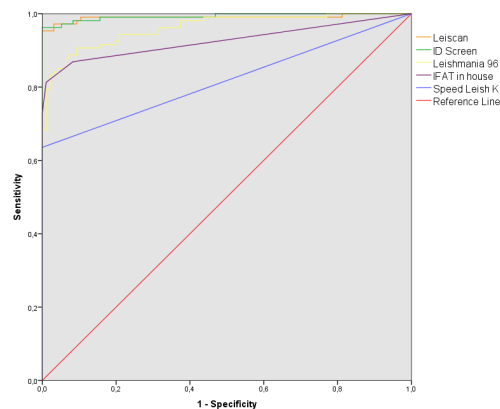


Figure 1. Roc-Curve.

Leiscan® and ID Screen® had superior diagnostic performance measures than IFAT ( $P < 0.05$ ) and all quantitative serological tests were superior ( $P < 0.05$ ) when compared to the only qualitative rapid test evaluated (Speed Leish K®).

Tables 3 and 4. Number of seropositive animals and antibody levels (ELISA in house UAB and IFAT) of dogs classified as seronegative by the Speed Leish K®

TITERS IFAT	ELISA in house UAB				N° cases	Low positive (% positivity; Mean ±SD) ELISA Unit (EU)	Medium positive (228.21 ± 50.93) EU	High positive (327.51 ± 36.93) EU
	1:40	1:80	1:160	1:320				
N° cases	6	8	13	1	2			

Of the 107 infected dogs, a total of 18 (16.82%) with a positive result by all quantitative serological tests were classified as seronegative based on Speed Leish®. These dogs were false negatives by this rapid test.

## Conclusions

- All tests evaluated presented a good specificity. In contrast, sensitivity was variable between tests.
- Speed Leish K® seems not to be a good screening test for detecting seronegative dogs prior to vaccination with CaniLeish® vaccine.
- Use of the Speed Leish K® may result in vaccination of seropositive dogs and in some cases seropositive sick dogs.