

Utilizzo dei test antigenici e anticorpali nella diagnosi sierologica della filariosi cardiopolmonare del cane e del gatto

RIASSUNTO

Uno studio controllato (controlli negativi e positivi) e uno studio di campo sono stati eseguiti su campioni di siero di cane e di gatto al fine di valutare la capacità diagnostica di test antigenici e anticorpali rapidi (in-clinic) nei confronti della filariosi cardiopolmonare (FCP). Nel cane sono stati valutati 3 test antigenici (Witness Dirofilaria, Snap HTWM e Speed Diro) confrontandoli con un test su micropiastre (PetChek HTWM) utilizzando il protocollo di laboratorio, assunto quale test di riferimento. Nel gatto sono stati valutati i test antigenici Witness e PetChek in gatti positivi allo Snap e al test anticorpale HESKA e positivi con parassiti visualizzabili in ecocardiografia.

Nel cane, la specificità dei test utilizzati è stata del 100% e la sensibilità pari al 92% per Witness, 98% per Snap e 59% per Speed (nessuna differenza significativa tra Witness e Snap, entrambi differiscono da Speed; $p < 0,001$). Il valore predittivo positivo è pari al 100% per tutti i test con valori predittivi negativi del 97%, 98% e 87% per Witness, Snap e Speed. Nel gatto la sensibilità dei test è risultata pari al 76% per Witness, dell'81% per Snap, dell'85% per PetChek e del 95% per il test anticorpale HESKA (Witness vs Snap $p > 0,05$; Witness vs PetChek $p > 0,05$; Witness vs HESKA $p < 0,05$). Rapportando questi valori di performance a popolazioni feline con prevalenze per FCP pari al 6%, i valori predittivi positivi sono pari al 100% con una corretta classificazione di tutti i casi positivi. I valori predittivi negativi sono risultati del 98% per Witness e Snap e del 99% per PetChek.

**Claudio Genchi¹, Nicola Ferrari¹,
Luigi Venco², Monica Billi³,
Karine Savary Bataille⁴, Marco Genchi¹**

¹ DIPAV, Facoltà di Medicina Veterinaria, Milano

² Clinica Veterinaria Città di Pavia

³ Pfizer Animal Health, Roma

⁴ Pfizer Animal Health, Paris, France

INTRODUZIONE

Nella pratica veterinaria, la diagnosi della filariosi cardiopolmonare (FCP, *Dirofilaria immitis*) nel cane è per lo più condotta con test rapidi in grado di mettere in evidenza la presenza di antigeni derivati da femmine sessualmente mature del parassita. Questi test sono utilizzati sia per stabilire l'eventuale presenza del parassita all'inizio del programma annuale di prevenzione, sia dopo trattamento adulticida per valutare l'efficacia della terapia. Anche se le recenti segnalazioni di mancata efficacia dei lattomi macrociclici utilizzati per la prevenzione della FCP nei confronti delle microfilarie in cani dopo trattamento adulticida e risultati negativi ai test antigenici^{1,2} suggeriscono l'opportunità di abbinare a questi test un esame del sangue per la ricerca delle microfilarie (ad esempio il test di Knott) all'inizio di ogni programma di prevenzione e dopo il trattamento adulticida², non vi è dubbio che i test antigenici rimangano di gran lunga quelli preferiti dai veterinari per la rapidità e la facilità di esecuzione. In questi ultimi anni, la maggior parte degli studi sulla efficienza diagnostica di questi test sono stati indirizzati a valutare la loro capacità di diagnosi in caso di basse cariche parassitarie (1 o 2 femmine adulte all'esame necroscopico)^{3,4,5,6}, con sensibilità del 69-75% e specificità del 94-96% a seconda dei test utilizzati. Nonostante ciò, i test antigenici hanno alcuni limiti: funzionano solo in presenza di antigeni di femmine adulte dopo 6-7 mesi dall'infestazione^{4,5,7}; inoltre, dopo terapia adulticida alcuni cani sono risultati negativi sia in presenza di microfilarie, sia di parassiti adulti.^{1,2} Infine non è infrequente, soprattutto nel caso dei kit di immunomigrazione, che la lettura possa risultare difficoltosa sia per l'eccessiva colorazione di fondo della membrana di nitrocellulosa, sia per la debole colorazione della banda di reazione, che non permettono di discriminare in modo certo tra risposta positiva e negativa.

Nel gatto, l'utilizzo dei test antigenici è problematico a causa del consistente numero di infestazioni destinate ad abortire (in più del 50% dei casi il parassita non raggiunge lo stadio adulto)⁸, del basso numero di parassiti adulti che caratterizzano la malattia in questo ospite (mediamente 1-4) e dalla non infrequente presenza di soli parassiti maschi.⁹ In alternativa, l'uso di test sierologici volti a individuare gli anticorpi contro il parassita non è scevro da problemi. Infatti i test anticorpali sono positivi già in fase prepatente (dopo 2-3 mesi dall'infestazione) e possono rimanere tali anche dopo la morte dei parassiti.¹⁰ Inoltre non sono infrequenti risultati falsamente positivi.¹¹ Quindi appaiono più idonei ad accertare il rischio di infestazione in una popolazione di gatti che a confermare la reale presenza del parassita nell'apparato cardiopolmonare. Un valido aiuto nella diagnosi della FCP felina è dato dalla ecocardiografia e dalla radiografia toracica¹², ma nella pratica il potere disporre di un test sierologico rapido, dotato di suffi-

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 01/03/2012 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 14/05/2012”.

ciente sensibilità e specificità, può contribuire in modo significativo alla diagnosi di malattia.

Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare la sensibilità e la specificità di vari test antigenici del commercio per la diagnosi della FCP nel cane e nel gatto e confrontare la sensibilità e la specificità di alcuni test antigenici con un test anticorpale del commercio per la diagnosi della FCP del gatto. Una parte dello studio è stato condotto in modo controllato, utilizzando campioni selezionati, e una parte, di campo, su sieri ottenuti *random* da soggetti sottoposti a visita veterinaria.

MATERIALI E METODI

Cane

In totale sono stati esaminati 384 campioni di siero e/o sangue prelevati da cani di proprietà. 97 campioni provenivano da soggetti selezionati, tali da rendere possibile uno studio controllato; i rimanenti 287, prelevati *random*, sono stati utilizzati per uno studio di campo. Dei 97 campioni, 48 ottenuti da cuccioli di 4-6 mesi, di entrambi i sessi (26 maschi e 22 femmine) e di diverse razze (20 meticci e 28 di razza pura) sono stati utilizzati quale controllo negativo. Quali controlli positivi sono stati utilizzati 49 campioni di sangue raccolti da cani di età compresa tra i 4 e i 12 anni, di entrambi i sessi (18 femmine e 31 maschi) e diversa razza (31 incroci e 18 di razza), con diagnosi certa di FCP (positivi alla tecnica di Knott per microfilarie di *D. immitis* e all'esame ecocardiografico). Per lo studio di campo sono stati utilizzati 287 campioni prelevati da cani sottoposti a visita veterinaria prima dell'inizio del trattamento preventivo o dopo la stagione di profilassi. Tutti i cani erano residenti in un'area endemica per FCP (provincia di Pavia, prevalenza 25-30% nei cani non sottoposti a trattamento preventivo¹²).

Per la valutazione dei test antigenici è stato utilizzato il siero ottenuto dai vari campioni di sangue. Infatti, anche se generalmente i veterinari preferiscono per rapidità il sangue *in toto*, l'impiego del siero ha permesso la conservazione dell'intero pool di campioni a -20 °C fino al momento delle analisi, condotte in un breve lasso di tempo (2 giorni) e utilizzando gli stessi lotti dei vari test in modo da evitare possibili *bias*.

Gatto

In totale sono stati inclusi nello studio 178 sieri di sangue provenienti da gatti. Per lo studio controllato sono stati utilizzati 47 campioni di siero, 26 provenivano da gatti allevati in ambienti protetti (10 maschi e 16 femmine di 1-1½ anno di età), tali da escludere la presenza di culicidi (controllo negativo) e 21 sieri da gatti (10 maschi e 11 femmine di 1-1½ anno di età) infestati sperimentalmente con 50 larve ciascuno di *D. immitis* (control-

lo positivo). In entrambi i casi i sieri sono stati forniti da TRS Lab, Athens, USA. Per lo studio di campo sono stati analizzati 131 sieri raccolti nel corso di un'indagine volta a stabilire l'attesa di vita in gatti naturalmente infestati da *D. immitis*. I gatti erano risultati tutti positivi al test antigenico Snap e al test anticorpale HESKA e le filarie erano visualizzabili all'esame ecocardiografico.¹⁴ L'utilizzo del siero al posto del sangue *in toto* è stato reso necessario dalla difficoltà di raccogliere in tempi brevi una consistente campionatura da gatti naturalmente infestati e dalla provenienza dei campioni da gatti infestati sperimentalmente, oltre che dalla opportunità di esaminare in tempi brevi l'intera campionatura (2 giorni).

Kit antigenici e anticorpali

Per la ricerca degli antigeni circolanti nel cane sono stati utilizzati 2 test rapidi, *in-clinic*, basati su una tecnica di immunomigrazione su banda di nitrocellulosa (Witness® *Dirofilaria*, Symbiotics Europe, Lyon, France e Speed® *Diro*, BVT, La Seyne sur Mer, France), un test ELISA su membrana (Snap® HTWM, IDEXX Laboratories, Westbrook, ME) e un test ELISA su micro piastre, eseguito secondo la procedura di laboratorio e lettura della densità ottica (DO) in spettrofotometria a 650 nm (PetChek® HTWM antigen, IDEXX Laboratories, Westbrook, ME). Quest'ultimo test è stato assunto quale test di riferimento tenuto conto della elevata specificità (100%) e sensibilità (82-95% con 1 o 2 vermi femmina adulti e 96-100% con più di 2 femmine adulte).^{4,15} Tutti i test sono stati eseguiti seguendo le istruzioni delle ditte produttrici.

I sieri dei gatti sono stati analizzati per la ricerca degli antigeni con i test Witness, Snap e PetCheck e per la ricerca degli anticorpi con HESKA Solo Step® FH (HESKA Corp, Loveland, CO, USA) basato su una tecnica di immunomigrazione su membrana di cellulosa.

Analisi statistica

La sensibilità e la specificità dei test diagnostici sono state calcolate rispettivamente come il rapporto tra il numero di soggetti infetti e positivi al test rispetto al numero totale degli infetti e il rapporto tra soggetti negativi e sani rispetto al numero totale dei sani.¹⁶ L'intervallo di confidenza (IC) al 95% è stato calcolato attraverso lo *score confidence interval*.¹⁷ I test diagnostici sono stati confrontati tra loro con il test statistico di McNemar per valutare se le sensibilità differissero significativamente tra loro assumendo $p < 0,005$ quale valore di significatività.

RISULTATI

Cane

Nessuno dei 48 sieri provenienti da cuccioli (controlli negativi) ha reagito positivamente ai

test antigenici (specificità 100%). Tutti i 49 sieri raccolti da cani positivi al test di Knott per microfilarie circolanti e all'esame ecocardiografico sono risultati positivi al test PetChek per antigeni circolanti (DO min-max: 0,650-1,795; cut off DO 0,093-0,098; sensibilità 100%). 46 sieri hanno reagito positivamente al test Witness (sensibilità 94%; IC 82-98%), 48 allo SNAP (sensibilità 98%; IC 85-99%) e 28 allo Speed (sensibilità 57%; 63%-93%). La sensibilità del Witness e dello Snap non differiscono in modo significativo tra loro (McNemar $\chi_1=1$, $p=1$) mentre entrambi differiscono significativamente da Speed (McNemar $\chi_1=16,2$, $p<0,001$). Un campione è risultato negativo a tutti i test antigenici utilizzati, tranne al PetChek (DO 1.108). Quattro campioni positivi agli altri test sono risultati negativi allo Speed; 1 e 2 campioni, rispettivamente, sono risultati di difficile lettura (banda di reazione positiva debolmente colorata) al Witness e allo Snap. 16 campioni hanno dato risultati di difficile lettura allo Speed.

Dei 287 campioni da cani utilizzati per lo studio clinico, 162 erano meticci e 125 di razza pura, 129 erano maschi interi, 32 maschi castrati, 96 femmine intere e 30 femmine sterilizzate. L'età variava da 1 a 15 anni e il peso da 5 a 55 kg. 194 erano tenuti da compagnia, 71 da guardia e 22 erano soggetti utilizzati per la caccia. La maggior parte dei cani viveva prevalentemente in casa (140), 58 prevalentemente all'aperto e 89 sia in casa sia all'aperto. 213 cani non erano mai stati trattati con farmaci per la prevenzione della FCP, mentre 74 erano in prevenzione da uno o più anni. 58 cani presentavano microfilarie circolanti (20% dell'intero campione, 27% dei cani non trattati contro la FCP). Microfilarie della sola specie *immitis* sono state osservate in 35 cani (12% dell'intero campione, 16% dei cani non in prevenzione), di *immitis*

e *repens* in 10 cani (3,5% dell'intero campione e 5% dei cani non in prevenzione) e di sola *repens* in 13 soggetti (4,5% dell'intero campione e 6% dei cani non in prevenzione) (Tabella 1).

Tutti i cani in prevenzione per la FCP e i cani positivi alle sole microfilarie di *D. repens* sono risultati negativi ai vari test per la ricerca degli antigeni (specificità 100%).

Dei 73 cani positivi al test PetChek (73/287, 25%), considerato quale *gold standard*, 43 vivevano sia all'interno sia all'esterno (43/73, 59%), 20 (20/73, 27%) soprattutto all'esterno e 9 (9/73, 12%) prevalentemente all'interno ($\chi^2=37,36$, $p<0,001$).

Per quanto riguarda il confronto dei risultati dei vari test antigenici *in-clinic* con quelli ottenuti con PetChek, Witness ha dimostrato una sensibilità pari al 92% (67/73, IC 82-96%), Snap del 98% (71/73, IC 92-100%) e Speed del 59% (43/73, IC 47-69%). La sensibilità di Witness non è risultata significativamente differente da quella di Snap (McNemar $\chi_1=1$, $p=1$), mentre entrambi i test differiscono significativamente da Speed (McNemar $\chi_1=26$, $p<0,001$; $\chi_1=31$, $p<0,001$) (Tabella 2). Rapportando le specificità dei test a condizioni di popolazioni con prevalenze del 25%, otteniamo un valore predittivo positivo del 100% per tutti i test, ovvero la totalità dei sieri che danno esito positivo provengono da soggetti realmente infestati. Le sensibilità invece danno valori predittivi negativi del 97%, 98% e 87% rispettivamente per Witness, Snap e Speed test, ovvero su 100 sieri risultati negativi al test Witness 3 risultano provenire da soggetti in realtà positivi, 2 nel caso di Snap e 13 nel caso di Speed (falsi negativi).

Gatto

Nessun siero di gatti tenuti in ambiente isolato da culicidi è risultato positivo ai test antigenici e anticorpali (specificità 100%).

TABELLA 1
Presenza di microfilarie in 287 campioni di sangue di cani residenti in un'area endemica di filariosi cardio-polmonare

Numero soggetti microfilariemici e prevalenza sull'intero campione 58/287, 20%	Prevalenza nei soggetti non trattati contro la FCP 58/213, 27%
Numero soggetti positivi solo a mf di <i>D. immitis</i> e prevalenza sull'intero campione 35/287, 12,3%	Prevalenza nei soggetti non trattati contro la FCP 35/213, 16,4%
Numero soggetti positivi solo a mf di <i>D. repens</i> e prevalenza sull'intero campione 13/287 ² , 4,5%	Prevalenza nei soggetti non trattati contro la FCP 13/213, 6%
Numero soggetti positivi a mf di <i>D. immitis</i> e <i>D. repens</i> prevalenza sull'intero campione 10/287 ¹ , 3,5%	Prevalenza nei soggetti non trattati contro la FCP 10/213, 4,7%

TABELLA 2
Cane: confronto dei test rapidi *in-clinic* Witness, Snap e Speed con PetChek micropiastre

Test	Numero campioni positivi	Sensibilità	Risultati non validi per difficile lettura	Negativi
PetChek	73			
Witness	67	92%	4; 5,4%	2; 2,6%
Snap	72	98%	1; 1,4%	0
Speed	43	59%	21; 29%	9; 12%

Nella Tabella 3 sono riassunti i risultati dei vari test nei gatti infestati sperimentalmente. Nei 3 gatti infestati solo da parassiti di sesso maschile, tutti i test antigenici sono risultati negativi; un solo siero ha reagito positivamente al test anticorpale. Nei 3 gatti infestati da 1 sola femmina, il PetChek è risultato positivo in tutti i campioni esaminati; Witness è risultato positivo in 1 campione di siero e lo Snap in 2 campioni. Il test anticorpale ha rilevato la presenza dell'infestazione in tutti campioni di siero. I rimanenti 15 campioni di siero provenienti da soggetti infestati con 1 o più femmine e 1 o più maschi, hanno reagito positivamente a tutti i test antigenici. Il test anticorpale è risultato positivo in tutti i campioni, tranne che in 1 proveniente da un gatto infestato da 1 maschio di filaria. La sensibilità dei test è risultata pari al 76% per Witness (IC 64-88%), dell'81% per SNAP (IC 70-92%), dell'85% per PetChek (IC 77-95%) e del 95% per il test anticorpale HESKA (IC 89-100%). I valori di Witness sono statisticamente differenti da quelli di HESKA (McNemar $\chi_1=4$, $p<0,05$) ma non da quelli ottenuti con Snap (McNemar $\chi_1=1$, $p>0,05$) e con PetChek (McNemar $\chi_1=1$, $p>0,05$).

Inoltre PetChek e HESKA non sono risultati differenti tra loro (McNemar $\chi_1=2$, $p>0,05$). Rapportando questi valori di performance a popolazioni feline con prevalenze del 6%¹⁴, osserviamo valori predittivi positivi del 100% ovvero una corretta classificazione di tutti i casi positivi. I valori predittivi negativi sono risultati del 98% per Witness e Snap e 99% per PetChek, ovvero solo 1 o 2 soggetti su 100 risultano falsi negativi.

Dei 131 gatti positivi al PetChek, all'HESKA e all'ecocardiografia, 130 sono risultati positivi allo SNAP (99%) e 127 al Witness (97%) (χ^2 0,816, $p>0,05$).

DISCUSSIONE

Per quanto riguarda il cane, i dati di prevalenza osservati nel corso dello studio in 287 cani di proprietà dimostrano che le infestazioni da *Dirofilaria* sono tutt'ora diffuse (73 soggetti antigene positivi, di cui 35 microfilarie, pari al 48%; 13 soggetti positivi alle sole microfilarie di *D. repens*, pari al 4,5%). Va inoltre considerato che una consistente

TABELLA 3
Efficienza dei test antigenici e anticorpali nella diagnosi della filariosi cardio-polmonare in gatti infestati sperimentalmente con *Dirofilaria immitis*

No gatti	No e sesso parassiti	Test antigenici			Test anticorpale ESKA
		Witness	Snap	PetChek	
2	1M	2N	2N	2N	1N, 1P
1	3M	1N	1N	1N	1P
3	1F	2N, 1P	1N, 2P	3P	3P
5	2F	5P	5P	5P	5P
1	3F	P	P	P	1P
1	1F, 1M	P	P	P	1P
2	2F, 1M	2P	2P	2P	2P
3	3F, 1M	3P	3P	3P	3P
2	3F, 2M	2P	2P	2P	2P
1	4F, 1M	1P	1P	1P	1P
21		5N 16P	4N 17P	3N 18P	1N 20P

M: maschio; F: femmina; numero di campioni negativi (N) e positivi (P).

quota di cani testati era microfilarmico (20%), quindi in grado di agire da *reservoir* nei confronti dei culicidi ospiti intermedi.

Per quanto riguarda la specificità dei test per la ricerca degli antigeni, tutti sono stati in grado di discriminare correttamente tra infestazioni causate da *D. immitis* e *D. repens*. Infatti nessun campione di siero proveniente da cani positivi al test di Knott per microfilarie di *D. repens* ha reagito positivamente alla ricerca degli antigeni. Similmente i sieri ottenuti dai cuccioli di età inferiore ai 6 mesi, quindi non in grado di albergare una infestazione patente, e i sieri provenienti da cani sottoposti a trattamento profilattico nei confronti della FCP, hanno dato risultati negativi, confermando la specificità dei test utilizzati.

Nel complesso più che buona è stata la capacità diagnostica del test Witness e dello Snap, sia nei cani infestati sperimentalmente (rispettivamente 94 e 98%), sia nei cani sottoposti ad esame per FCP dai veterinari (rispettivamente 92 e 98%), risultati positivi al test di Knott e al PetChek o solo a quest'ultimo test. Da notare che i valori positivi predittivi sono per tutti i test pari al 100% e quelli negativi tra il 97% e il 98% tranne per lo Speed per il quale il valore cala all'87%. Per entrambi i test Witness e Snap la capacità diagnostica è risultata significativamente superiore al test Speed, che si è dimostrato in grado di diagnosticare correttamente solo il 59% delle infestazioni.

Per quanto riguarda il gatto, nessun siero dei gatti allevati in condizioni tali da escludere una possibile infestazione da *D. immitis* ha reagito positivamente ai test antigenici *in-clinic* (Witness, e Snap), al PetChek e al test anticorpale HESKA (specificità 100%). Nessun siero prelevato da gatti infestati sperimentalmente e risultati infestati da soli vermi maschi ha reagito positivamente ai test per la ricerca degli antigeni e un solo siero ha reagito positivamente al test anticorpale. Dei rimanenti 18 sieri provenienti da gatti risultati infestati da 1-4 femmine adulte e 1 o più maschi, complessivamente il test anticorpale e lo Snap sono risultati positivi in 17 campioni (94%), il Witness in 16 campioni (89%) e il PetChek in tutti i campioni (100%) (χ^2 0,630, $p=0,763$). Molto elevati sono anche risultati i valori predittivi negativi, pari al 98% e 99% per i due test. Parimenti entrambi i test antigenici Witness e Snap hanno dimostrato una buona sensibilità (98-99%) quando testati nei 131 sieri di gatti positivi al test antigenico PetChek e all'esame ecocardiografico per FCP.

In conclusione, nel cane la capacità diagnostica sia del Witness, sia dello Snap è di ottimo livello, non significativamente differente dal PetChek su micropiastre, utilizzando il protocollo di laboratorio e con lettura spettrofotometrica in grado di discriminare tra positivi e negativi grazie al calcolo del cut off e dei valori di DO, in accordo con le osservazioni di altri autori.^{3,4,5,6,15} Inoltre, vale la pena di sottolineare che, accanto all'ottima *performance* di Witness, il

test è di rapida esecuzione e in solo quattro casi ha dato un risultato di difficile lettura rispetto ai 21 casi dell'altro test rapido utilizzato (Speed). Chiari e di facile lettura i risultati ottenuti con Snap, anche se i tempi di esecuzione e la quantità di sangue/siero sono superiori a quelli necessari per Witness e Speed. Nel gatto, i nostri risultati confermano le osservazioni di Lee et al. e Berdoulay et al.^{6,11}, almeno per quanto riguarda i test Witness e Snap. Concordiamo con quanto suggerito da altri autori^{6,11} sul fatto che l'uso combinato di un test antigenico con un test anticorpale possa aumentare la sensibilità diagnostica in quei casi dove l'infestazione sia sostenuta da un sola femmina adulta di *D. immitis*.

Parole chiave

Filariosi cardiopolmonare, cane, gatto, test antigenici rapidi, capacità diagnostica.

■ Evaluation of the performance of heartworm antigen test kits and heartworm antibody test kits for the diagnosis of the infection in dogs and cats

Summary

A controlled study (negative and positive controls) and a field study were carried out on canine and feline serum samples to assess the diagnostic value of antigen and antibody *in-clinic* test kits for the diagnosis of heartworm infection. Overall 384 canine serum samples have been examined by 3 antigen tests (Witness *Dirofilaria*, Snap HTWM e Speed Diro) in comparison with antigen PetChek HTWM following the laboratory protocol, assumed as gold standard. One hundred seventy height feline serum samples have been examined by Witness, Snap antigen kits and HESKA antibody in cats experimentally infected and PetChek positive and/or with worms visualized by echocardiography. In the dog, the specificity of antigen kits was 100% and the sensitivity was 92%, 98% and 59% for Witness, Snap and Speed, respectively (Witness vs Snap $p>0.05$, both kit vs Speed $p<0.001$). The positive predictive value was 100% for all the kits; the negative predictive values were 97%, 98% and 87% for or Witness, Snap and Speed, respectively. In the cat, Witness showed a sensitivity of 76%, Snap of 81%, PetChek of 85% and HESKA antibody of 95% (Witness vs Snap $p>0.05$; Witness vs PetChek $p>0.05$; Witness vs HESKA $p<0.05$). Considering a heartworm prevalence of 6%, the positive predictive values are 100%, the predictive negative values were 98% for Witness and Snap and 99% for PetChek, respectively.

Key words

Heartworm infection, dog, cat, antigen test kits, diagnostic value.

BIBLIOGRAFIA

1. Bowman DD, Mannella C: Macrocytic lactones and *Dirofilaria immitis* microfilariae. *Top. Companion Anim Med* 26: 160-172, 2011.
2. Bourguinat C, Keller K, Bhan A et al: Macrocytic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol* 181: 388-392, 2011.
3. Courtney CH, Zeng Q-Y: Comparison of heartworm antigen test kits in dogs having low heartworm burdens. *Vet Parasitol* 96: 317-322, 2001.
4. McCall JW, Supakorndej N, Donoghue AR et al: Evaluation of the performance of canine heartworm antigen test kits licensed for use by veterinarians and canine heartworm antigen tests conducted by diagnostic laboratories. In: *Recent Advances in Heartworm Disease*. Ed Seward RL. Batavia, IL, American Heartworm Society, 2001, pp. 97-104.
5. Atkins CE: Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burden. *JAVMA* 222: 121-123, 2003.
6. Lee ACY, Bowman DD, Lucio-Forster A et al: Evaluation of a new in-clinic method for detection of canine heartworm antigen. *Vet Parasitol* 177: 387-391, 2011.
7. McTier TL, McCall JW, Supakorndej N: Features of adult heartworm antigen test kits. In: Soll, M.D., Knight, D.H. (Ed.). *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*. Eds Soll MD, Knight DH. Batavia, IL, American Heartworm Society, 1995, pp. 115-120.
8. Venco L, Genchi M, Genchi C, Gatti D, Kramer L: Can heartworm prevalence in dogs be used as provisional data for assessing the prevalence of the infection in cats? *Vet Parasitol* 176: 300-303, 2011.
9. Genchi C, Cody B, Pengo G et al: Efficacy of a single milbemycin oxime administration in combination with praziquantel against experimentally induced heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in cats. *Vet Parasitol* 122: 287-293, 2004.
10. Prieto G, Ceciliani F, Venco L et al: Feline dirofilariasis: antibody response to antigenic fractions containing specific 20 to 30 kD polypeptides from the adult *Dirofilaria immitis* somatic antigen. *Vet Parasitol* 103: 341-353, 2002.
11. Berdoulay P, Levy JK, Snyder PS et al: Comparison of serological tests for the detection of natural heartworm infection in cats. *JAAHA* 40: 376-384, 2004.
12. McCall JW, Genchi C, Kramer LH et al: Heartworm disease in animals and humans. *Adv Parasitol* 66: 193-285, 2008.
13. Genchi C, Rinaldi L, Cascone C et al: Is heartworm disease really spreading in Europe? *Vet. Parasitol.* 133: 1337-2148, 2005.
14. Genchi C, Venco L, Ferrari N et al.: Feline heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection: a statistical elaboration of the duration of the infection and life expectancy in asymptomatic cats. *Vet Parasitol* 156: 177-182, 2008.
15. Courtney CH, Zeng, Q-Y: Comparison of heartworm antigen test kits in dogs having low heartworm burdens. *Vet Parasitol* 96: 317-322, 2001.
16. Zhou H., McClish DK & Obuchowski NA: *Statistical Methods in Diagnostic Medicine*, Wiley Online Library, John Wiley & Sons Ltd. 2009.
17. Agresti A, Coull B: Approximate is better than "exact" for interval estimation of binomial proportions. *Am Stat* 52: 119-126, 1998.

COMPRAVENDITA DI ATTREZZATURE PROFESSIONALI VETERINARIE

VET-EXCHANGE è il servizio telematico, libero e gratuito riservato ai soli medici veterinari. Questo servizio ha l'unico scopo di consentire un più facile contatto tra soggetti interessati alla compravendita di attrezzature professionali veterinarie. **Non è consentito l'accesso alle aziende del settore.**

Dal 1° gennaio al 30 giugno 2010 sono state inviate n. 37 newsletter per un totale di n. 392 inserzioni.

Per inserire la propria offerta o richiesta è necessaria la registrazione al servizio tramite un modulo on-line. Al ter-

mine della registrazione il sistema fornirà all'utente un codice che, insieme alla password, consentirà di accedere all'area riservata per modificare/integrare/cancellare la propria scheda prodotti e la scheda dati personale. Le inserzioni permangono in rete per 90 giorni; alla scadenza di questo periodo vengono rimosse automaticamente.

Registrazione e condizioni d'uso dettagliate al sito: <http://www.vetexchange.it/>

VET-EXCHANGE
IL MERCATO ITALIANO DELLE ATTREZZATURE PROFESSIONALI VETERINARIE
Servizio on-line dell'AN.I.V.I.