

DiagnosticaVET

La sicurezza in diagnostica veterinaria



Anaplasma Ehrlichia Leishmania

Test rapido per la scoperta degli anticorpi di Anaplasma, Ehrlichia canis e Leishmania

PRINCIPIO

Il test ANA-EHR-LEI è un test immunocromatografico rapido volto alla scoperta degli anticorpi specifici per *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis* e *Leishmania infantum* in campioni di siero, plasma o sangue intero con EDTA o eparina, dei cani.

ANAPLASMA

L'*Anaplasma phagocytophilum* è un batterio Gram negativo intracellulare trasmesso dalla puntura di zecche (*Ixodes scapularis*) infette. I cani affetti presentano una malattia febbrile acuta con trombocitopenia, leucopenia e anemia. Possono essere infettati anche i gatti. La vecchia classificazione differenziava l'*Ehrlichia equi* dall'*Ehrlichia phagocytophila* e dall'agente granulocitario dell'uomo. In seguito, a causa dell'omogeneità genetica, dalla presenza di omologhi antigeni e da caratteristiche biologiche comuni, sono stati raggruppati sotto un nome comune della singola specie: *Anaplasma phagocytophilum*.

Anaplasma platys trasmesso da una particolare zecca (*Rhipicephalus sanguineus*) è un organismo intracellulare obbligato che colpisce le piastrine. *A. platys* è generalmente considerato come un patogeno a bassa virulenza, spesso in associazione con altre infezioni o malattie. La maggior parte dei cani infetti non presentano alcuna sintomatologia ad eccezione di una trombocitopenia ciclica. In una indagine effettuata nei Caraibi il 20% dei cani testati presentava una infezione da *A. platys* ed il 25% da *E. canis* in quanto in quelle zone l'unica zecca conosciuta è il *R. sanguineus*.

La sintomatologia è associata a episodi febbrili, letargia, inappetenza e debolezza; in casi gravi si possono avere disturbi gastrointestinali o al sistema nervoso centrale. In laboratorio si possono osservare anche trombocitopenia, linfopenia, anemia, valori elevati di fosfatasi alcalina e ipoalbuminemia.

La trasmissione dell'infezione avviene entro le prime 24 ore dalla puntura della zecca ed in molti casi il periodo di incubazione della malattia è di una-due settimane.

EHRlichia CANIS

L'agente eziologico dell'erlichiosi è la rickettsia *Ehrlichia canis*: batterio Gram negativo, parassito obbligato dei monociti circolanti. Si presenta sotto forma di morule, aggregati citoplasmatici. È generalmente trasmessa dalla puntura di zecche (*Rhipicephalus sanguineus*). Dopo un periodo di incubazione che può variare dagli 8 ai 20 giorni, l'evolversi della malattia è diviso in tre fasi: la prima, fase acuta, in cui i segni clinici non sono patognomonicamente e spesso vi è una sintomatologia clinica aspecifica con presenza di apatia, letargia e anoressia, febbre, aumento del volume dei linfonodi e dispnea. Il patogeno infetta i linfociti e i monociti. La seconda fase, quella subclinica, può durare da alcuni mesi ad anni ed è caratterizzata dalla presenza del microorganismo patogeno con aumento della produzione di anticorpi e dall'assenza di una malattia clinica evidente. La terza fase è una fase di malattia cronica in cui sono presenti manifestazioni cliniche multiple, spesso indotte da una inefficace risposta immunologica verso il batterio. Pertanto possono aversi glomerulonefriti immuno-mediate, atropatie, splenomegalia o sintomatologia neurologica. Si hanno anche sintomi non specifici come febbre, anoressia, apatia. In presenza di questa sintomatologia si dovrebbe effettuare un test sierologico per la ricerca di questo e degli altri due patogeni correlati. La presenza di anticorpi si ha a partire dal settimo giorno dall'infezione. Cani trattati a cui viene eliminata l'infezione, possono risultare debolmente positivi ancora per parecchi mesi anche se sierologicamente negativi.

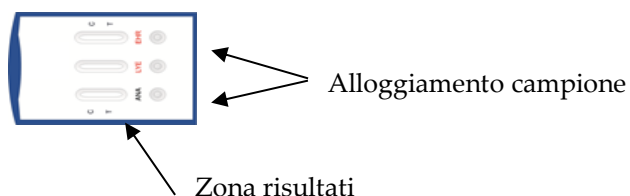
LEISHMANIA

La *Leishmania* è l'agente che provoca la leishmaniosi viscerale specialmente nei cani del Sud Europa. Vi sono più di 500 specie conosciute di flebotomi, ma è stato dimostrato che solo circa 30 sono in grado di trasmettere la leishmaniosi. Fra questi solo i flebotomi femmina trasmettono i parassiti. Le femmine dei flebotomi hanno bisogno del sangue per poter sviluppare le uova e poter diventare infestanti quando succhiano poi il sangue a un cane o ad un uomo. Gli stessi cani possono sviluppare la leishmaniosi e diventare fonte potenziale di contaminazione verso altri cani o uomini. Dopo un periodo che va dai 4 ai 25 giorni, i parassiti si sviluppano nei flebotomi. Quando il flebotomo femmina infetto punge succhiando il sangue, inocula il parassita all'uomo o all'animale; il ciclo vitale è completato.

Più della metà dei cani infettati non sviluppa una sintomatologia, ma questi cani asintomatici sono potenziali vettori come quelli che presentano i sintomi classici della malattia. La sintomatologia clinica della leishmaniosi può essere diversificata

PRINCIPIO DEL TEST

Le strisce reattive sono inserite in una cassetta di plastica. Il pozzetto del campione è indicato alla destra del disegno. Il campo di reazione si trova nel centro della finestra. "C" e "T" indicano la zona "test" e la zona di "controllo".



MATERIALE ACCLUSO

- cassette ognuna con un essiccante, contenuta in un involucro d'alluminio
- pipette
- diluente campione con 2.5 ml di reattivo per *Anaplasma* (verde)
- diluente campione con 2.5 ml di reattivo per *Leishmania* e *Ehrlichia* (rosso)
- Istruzioni per l'uso

PRECAUZIONI

1. Per ottenere ottimi risultati, attenersi scrupolosamente alle istruzioni.
2. Solo per uso professionale veterinario.
3. Tutti i componenti devono essere trattati come materiale potenzialmente infetto.
4. Non aprire o togliere il test dal suo involucro se non immediatamente prima dell'uso.
5. Non usare più volte lo stesso test.
6. Tutti i reattivi devono essere portati a temperatura ambiente (25°C) prima dell'uso.
7. Non usare reattivi dopo la data di scadenza indicata sulla confezione.
8. Tutti i componenti del kit sono stati validati con controllo di qualità per lo stesso lotto. Non mischiare reattivi di lotti differenti.

CONSERVAZIONE E STABILITA'

Il test Fassisi® ANA-LYE-EHR può essere conservato a temperatura ambiente o in frigorifero (2-30°C). Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. **NON SURGELARE**. Non esporre il kit alla luce diretta del sole.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il test è stato sviluppato per l'esame su campioni di siero e/o plasma.

Notizie generali:

- Per evitare l'emolisi, separare appena possibile il siero ed il plasma.
- Per l'estrazione del plasma si possono usare come anticoagulante, l'eparina o l'EDTA.
- Usare solo campioni non emolizzati.
- I campioni dovrebbero essere sottoposti al test immediatamente dopo la loro raccolta. Non lasciare a lungo i campioni a T ambiente.

Tutti i campioni devono essere portati a T ambiente prima della loro esecuzione.

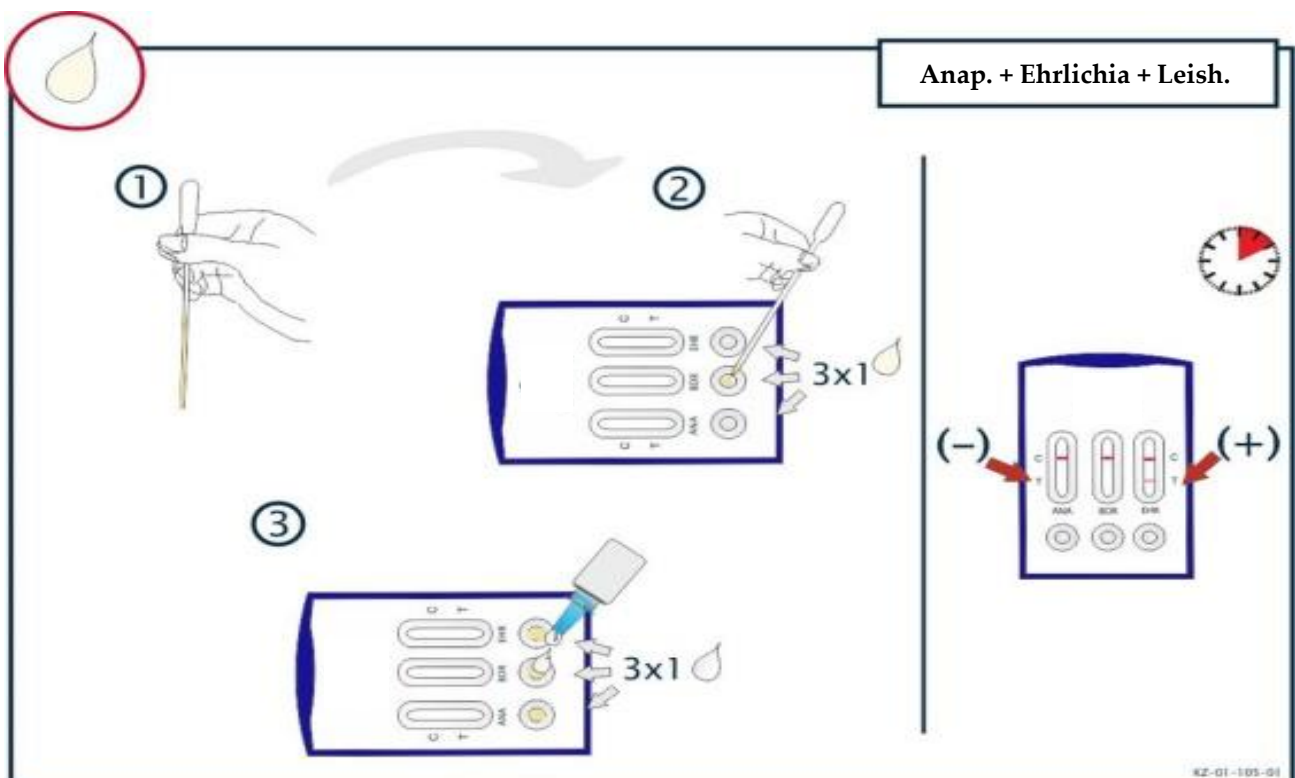
Suggerimenti per campioni di sangue intero. Si può anche prelevare campioni di sangue intero e lasciarli sedimentare. Il supernatante che si viene a formare dal sangue intero prelevato, può essere utilizzato seguendo le procedure su campioni di siero. La centrifugazione per ottenere il siero non è pertanto in questo caso necessaria

Per "sangue intero" si intende sempre sangue prelevato e trattato con anticoagulante EDTA o eparina.

Tutti i campioni devono essere trattati come potenzialmente infetti.

PROCEDURA

1. Aprire l'involucro d'alluminio contenente il test, con la pipetta acclusa e prendere il campione da esaminare.
2. Mettere **1 goccia** (30 µl) di campione da esaminare nei tre alloggiamenti campione, rispettivamente per Anaplasma, Leishmania e Ehrlichia. Assicurarsi che non vi siano bolle, nel caso rimuoverle con la pipetta.



3. Attendere qualche secondo in modo che il campione sia completamente assorbito.

- Aprire il contenitore delle soluzioni tampone e mettere **1 goccia** della soluzione tampone in ogni alloggiamento. Se il liquido non dovesse avanzare dopo 30 secondi, aggiungerne un'altra goccia.
- Leggere i risultati da 5 a 10 minuti. Non leggere dopo 10 minuti.

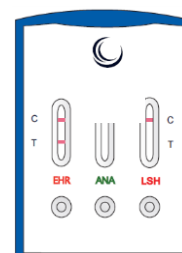
INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Ana – Ehr - Leish

Positivo: La presenza di due bande colorate, una vicina alla lettera "C" ed una alla lettera "T", indica un risultato **positivo** al test. Nel campione in esame sono stati trovati gli anticorpi per Anaplasma. L'intensità della colorazione rossa nella zona test varia a seconda della concentrazione dell'antigene presente nel campione in esame.

Negativo: La presenza nella finestra dei risultati di una sola banda vicino alla lettera "C" indica un risultato **negativo**.

Risultato non valido: Se appare una linea in corrispondenza con la lettera "T" o non appaiono bande colorate, il test non è valido e va ripetuto.



ATTENZIONE: i risultati del test devono essere letti entro 10 minuti dall'esecuzione del test. Dopo questo periodo di tempo, qualsiasi risultato deve considerarsi non valido

TEST PERFORMANCE

Test	Sensibilità	Specificità
Anaplasma Ab	97,67 %	95,00 %
Ehrlichia Ab	92,50	96,67 %
Leishmania Ab	95,45 %	97,78 %

BIBLIOGRAFIA

- Melissa J. Beall, Ramaswamy Chandrashekar, Matthew D. Eberts, Katie E. Cyr, Pedro Paulo V.P. Diniz, Celine Mainville, Barbara C. Hegarty, John M. Crawford, and Edward B. Breitschwerdt. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. August 2008, 8(4): 455-464. doi:10.1089/vbz.2007.0236.
- Eberts MD, DVM, Diniz PPVP, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. Typical and Atypical Manifestations of Anaplasma phagocytophilum Infection in Dogs. JAAHA 2011;47.
- Gaunt S, Beall M, Stillman B, Lorentzen L, Diniz P, Chandrashekar R, Breitschwerdt E. Experimental infection and co-infection of dogs with Anaplasma platys and Ehrlichia canis: hematologic, serologic and molecular findings. Parasit Vectors. 2010;3:33.
- Jensen, J., Simon, D., Escobar, H. M., Soller, J. T., Bullerdiek, J., Beelitz, P., Pfister, K. and Nolte, I. (2007), Anaplasma phagocytophilum in Dogs in Germany. Zoonoses and Public Health, 54: 94–101. doi: 10.1111/j.1863-2378.2007.01028.x.
- R. K. Straubinger, N. Pantchev (2010): „Die Lyme-Borreliose-Impfung beim Hund-kontrovers diskutiert“, Kleintier Konkret, Enke Verlag, Stuttgart, 5:8-11.
- H. J. Selbitz, U. Tryen, P.V. Weigand (2010): „Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre“, 9. Aufl. Enke Verlag, Stuttgart.
- Gary P. Worms and Ira Schwartz (2009): “Antibiotica Treatment of animals infected with Borrelia burgdorferi”, Clinical microbiology reviews, July 2009, 387-395.
- Selbitz HJ Truyen U (2011): 16.3.4. Gattung Ehrlichia in: Mayr A., M. Rolle (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Enke Verlag, Stuttgart, 9. Auflage.
- Bauer C, Brahm R, Dauschies A, Kietzmann M, Kohn B, Moritz A, Schnieder T, Wendland B (2011): Empfehlung zur Bekämpfung von durch Vektoren übertragenen Krankheiten bei Hunden und Katzen. Kleintierpraxis 56 (7): 373-385.
- Naucke T J, Lorentz S, Menn B, Mencke N (2011); Prävalenz von durch Ektoparasiten übertragenen Infektionskrankheiten (CVBDs) bei Import- und Reisebegleitenden Hunden in Deutschland und Prävention von CVBDs. Tierärztliche Umschau 66: 311-317.

SIMBOLI

	Only for one use		Read user instruction carefully
	Content		Storage temperature
	Lot number		Expiry date

Disclaimer

The Entire Risk Of Liability In Connection With The Use Of This Product Is With The Buyer. The Manufacturer Is Not Liable For Any Indirect, Special Or Consequential Damages Of Any Sort Resulting From Use Of This Product And The Test Evaluation

DiagnosticaVET srl

La sicurezza in diagnostica veterinaria

Tel. 02 83979274

20124 MILANO MI

info@diagnosticavet.com – www.diagnosticavet.com