

DiagnosticaVET

La sicurezza in diagnostica veterinaria



ANAPLASMA, EHRLICHIA, BORRELIA (LYME)

Test rapido per la scoperta degli anticorpi di Anaplasma, Borrelia (Lyme) e Ehrlichia canis

Su siero, plasma o sangue intero di cane

Il test ANA-LYE-EHR è un test immunocromatografico rapido volto alla scoperta degli anticorpi specifici per *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia Burgdoferi* (Malattia di Lyme) e *Ehrlichia canis* in campioni di siero, plasma o sangue intero con EDTA o eparina di 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.

BORRELIA (Malattia di LYME)

La malattia di Lyme o borreliosi canina è una malattia sostenuta da spirochete del complesso *Borrelia burgdorferi*. Le spirochete sono batteri particolari ed appartengono a questo gruppo anche le leptospire.

La malattia di Lyme è una zoonosi, cioè una malattia trasmissibile dagli animali all'uomo ma sempre e solo tramite un vettore che in questo caso è la zecca dura *Ixodes ricinus*. Le tre più importanti specie di *Borreliae* sono *B. burgdorferi* (Bss), *B. garinii* (Bg) e *B. afzelii* (Ba) che oltre gli animali colpiscono anche l'uomo.

Le *Borreliae* sono patogeni che non possono vivere al di fuori di un ospite; ciò fa sì che per passare da un ospite ad un altro, si servano di un vettore che è appunto la zecca. Gli ospiti in assoluto più importanti come riserva di *Borrelia burgdorferi* sono i roditori come i topi campagnoli, le arvicole, i ricci, i quali contraggono la borreliosi dal morso di una zecca infetta. Quando un'altra zecca si nutre del loro sangue assume la borrelia che trasmetterà poi ad altri animali o all'uomo. Ciò succede anche se la zecca cambia di forma evolutiva, cioè anche se passa da larva a ninfa o da ninfa ad adulta, ma la zecca adulta non passa la malattia alle sue uova.

Gli ospiti che fungono da riserva oltre ai piccoli roditori possono essere l'uomo, il cane, la lepre, uccelli, volpi, tassi, piccoli ruminanti tra cui i cervidi, bestiame domestico ecc...

Negli animali la malattia è subdola e difficilmente diagnosticabile. Da uno studio condotto recentemente pare che solo il 5% dei cani infettati presentino la malattia in quanto l'evoluzione clinica dell'infezione da borrelia dipende da numerosi fattori quali l'età del cane, il suo stato di salute generale, il suo sistema immunitario, la concomitante presenza di altre patologie, la quantità di *borreliae* veicolate dalla zecca o la concomitante inoculazione di altre malattie da parte della zecca stessa. La sintomatologia è spesso insidiosa e non correlata da una sintomatologia clinica specifica; possono aversi dolori muscolari e zoppia, artrite spesso associata a malessere generale con febbre. L'eliminazione completa dei patogeni è difficoltosa anche instaurando una terapia antibiotica specifica.

EHRlichia CANIS

L'agente eziologico dell'erlichiosi è la richettsia *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.

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".



Zona risultati



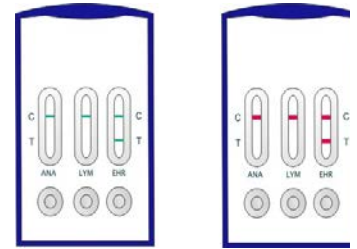
Alloggiamento campione

MATERIALE ACCLUSO

- cassette ognuna con un essiccante, contenuta in un involucro d'alluminio
- pipette
- diluente campione
- 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 (consigliato) o sangue intero.

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.

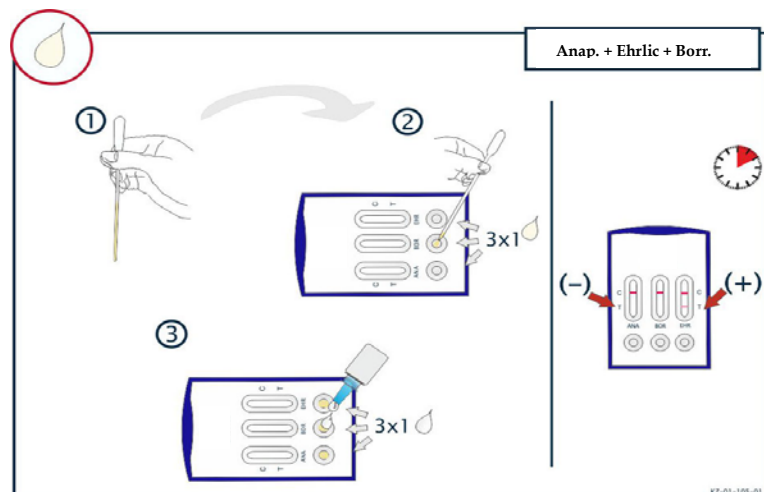
Suggerimenti per campioni di sangue intero. Si può anche prelevare campioni di sangue intero e lasciarli sedimentare. Il supernatante che si viene a formare dal sangue intero prelevato, può essere utilizzato seguendo le procedure su campioni di siero. Utilizzando campioni di sangue intero si ha una diminuzione della sensibilità del test.

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, Lyme e Ehrlichia. Assicurarsi che non vi siano bolle, nel caso rimuoverle con la pipetta.
3. Attendere qualche secondo (3-10) in modo che il campione sia completamente assorbito.
4. Aprire il contenitore della soluzione tampone e mettere **1 goccia** della soluzione tampone in ciascun alloggiamento campione.
5. Se il liquido non dovesse avanzare dopo 30 secondi, aggiungerne un'altra goccia.
6. Leggere i risultati da 5 a 10 minuti. Non leggere dopo 10 minuti.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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 vicina 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

Anaplasma phagocytophilum Anaplasma platys antibodies		ELISA		
		Positive	Negative	Total
Anaplasma test	Positive	46	2	48
	Negative	1	52	53
	Total	47	54	101
Sensitivity=		97,87%		
Specificity=		96,30%		

Evaluation study 2015

Canine Lyme Disease	WB		
Positive	23	1	24
Negative	1	16	17
Total	24	17	41

Sensitivität= 95,83 %
Spezifität= 94,12 %

Evaluation study 2011

Ehrlichia canis antibodies		IFAT		Total
		Positive	Negative	
Ehrlichia Canis test	Positive	48	1	49
	Negative	3	20	23
Total		51	21	72
Sensitivity=		94,12%		
Specificity=		95,24%		

Evaluation study 2011

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-Borelliose-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 Tryen 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, Dausgshies 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.

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

PRODOTTO:

Prodotto in Germania



Per domande, commenti o problemi tecnici, per favore contattate il ns. servizio tecnico allo 338 6249200

DiagnosticaVET

La sicurezza in diagnostica veterinaria

Viale Tunisia 46 - 20124 Milano MI
Tel 02 83979274 – info@diagnosticavet.com