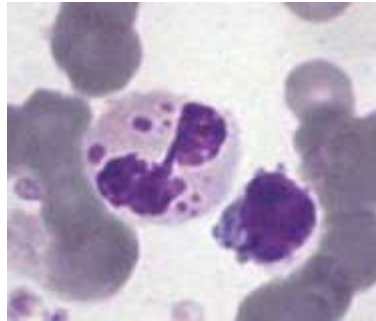


MALATTIE TRASMESSE DA VETTORI: RICKETTSIE ED ALTRI BATTERI INTRACELLULARI NEGLI ANIMALI E NELL'UOMO.

*Coxiella burnetii* e *Anaplasma* spp.



*Anaplasma* spp.:

aspetti generali e diagnostica di laboratorio

Manuela Scarpulla

Roma, 10 ottobre 2017

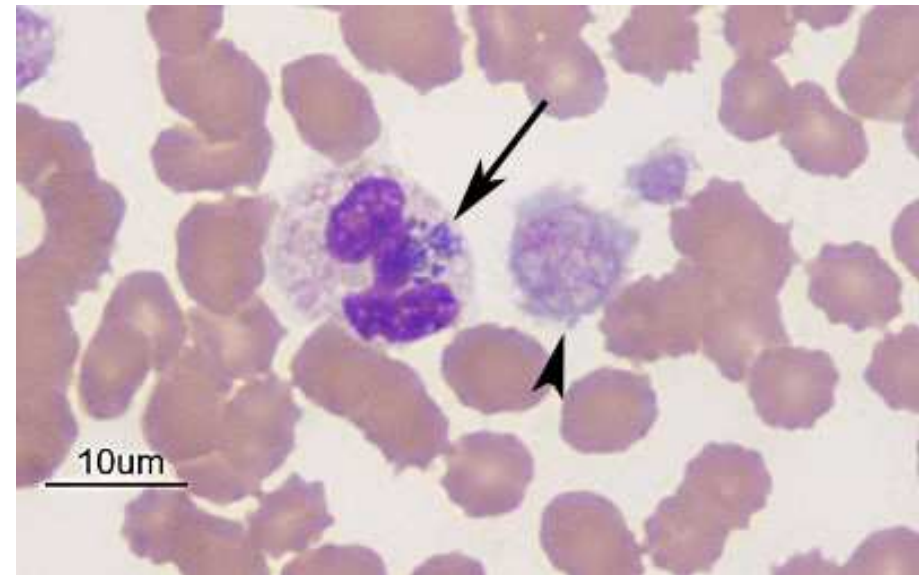




## *Anaplasma* spp

dal greco *an* “assenza” e *plasma* “cosa plasmata, forma”

- piccoli batteri pleomorfi, solitamente coccoidi (0,4-1,5  $\mu\text{m}$ )
- Gram negativi
- non mobili
- intracellulari obbligati (cellule eucariote)

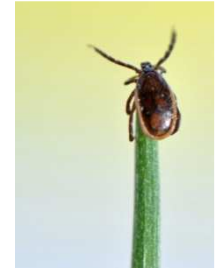


<http://www.eclinpath.com/june-2012-case-of-the-month/figure-4/>

“**morule**” (dal latino *morum* “mora”): inclusioni all’interno di vacuoli citoplasmatici della cellula ospite, composte da ammassi di batteri che occasionalmente prendono la forma di bacca di gelso



## *Anaplasma spp*



- malattie trasmesse da zecche, con rilevante impatto sulla salute umana e animale (ruminanti, equini, cani, gatti)
- sintomatologia poco specifica
- causa di ingenti perdite economiche negli allevamenti
- diffusi in tutto il mondo





# Anaplasma spp

Ordine: Rickettsiales

Famiglia: *Anaplasmataceae*

Genere

*Ehrlichia*

***Anaplasma (1910)***

*Neorickettsia*

*Wolbachia*

*Aegyptianella*

*"Candidatus Neoehrlichia"*

Specie

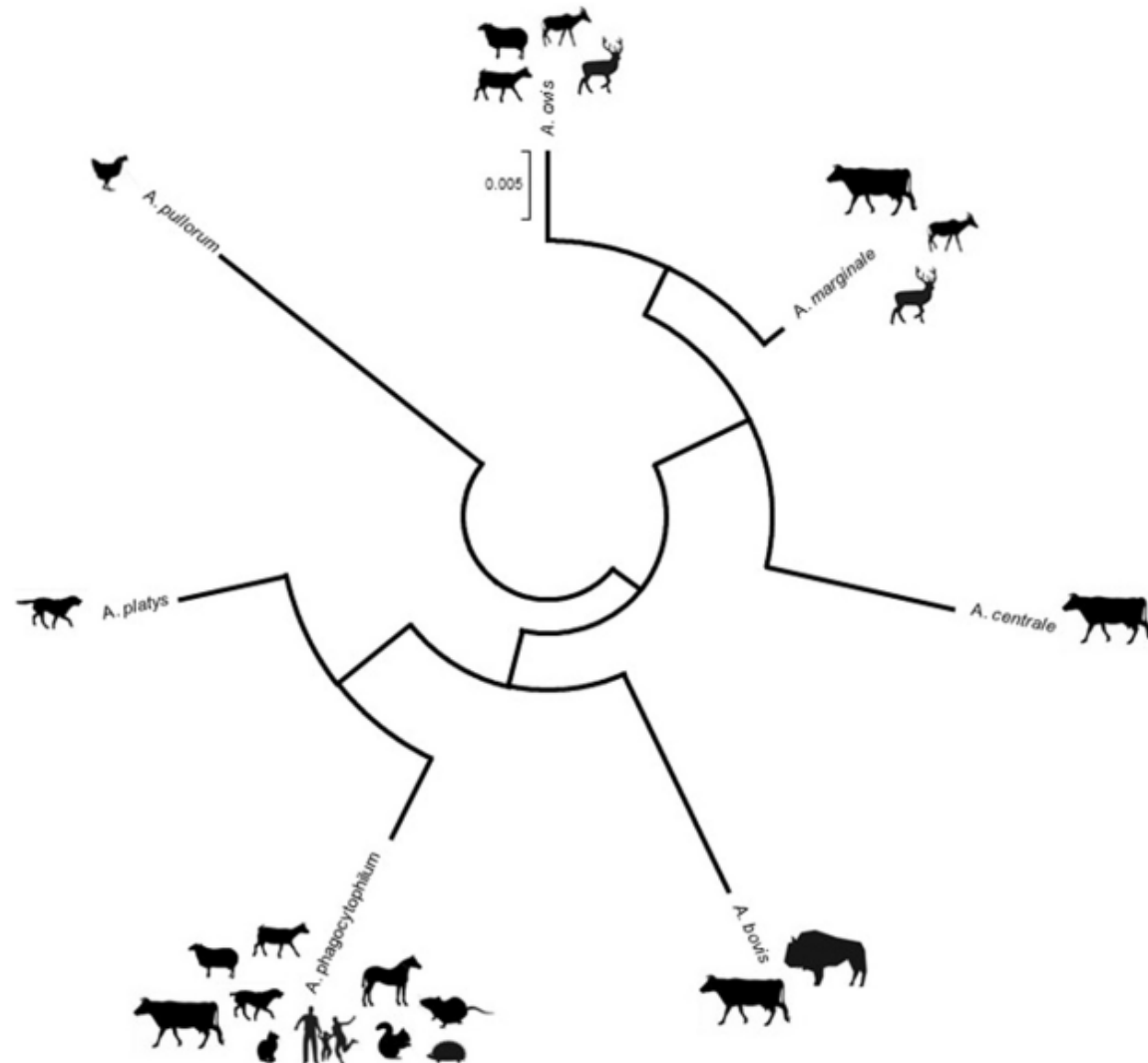
- *Anaplasma bovis*
- *Anaplasma centrale*
- *Anaplasma marginale*
- *Anaplasma phagocytophilum*
- *Anaplasma platys*
- *Anaplasma ovis*
- *Anaplasma odocoilei*
- *Anaplasma capra*

Classificazione fam. *Anaplasmataceae* in accordo con Dumler et al. 2001



# Albero filogenetico del genere *Anaplasma* basato sulla sequenza del rRNA 16S

M. Battilani et al. Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*. Infection, Genetics and Evolution 49 (2017) 195–211



## *Anaplasma spp*

- Infetta vertebrati e zecche ixodidae
- Serbatoi > ospiti vertebrati (infezioni persistenti > fonte di infezione per le zecche vettrici)
- vettori principali > zecche
  - primo ciclo replicazione intestinale, secondo nelle ghiandole salivari
- vie di trasmissione:
  - > saliva rilasciata dalla zecca durante il pasto di sangue su un ospite vertebrato
  - > trasferimento meccanico tramite altri artropodi ematofagi o materiale contaminato
  - > trasfusioni
- Infetta elementi cellulari del sangue periferico di vertebrati, uomo compreso
- le diverse specie differiscono per tropismo cellulare, diffusione geografica, ospiti, vettori e patogenicità



**Table 1**  
Characteristics of *Anaplasma* spp., main hosts and diseases.

Species	Disease(s)	Main hosts	Host cells	Primary vectors	Distribution	Old name(s)
<i>A. bovis</i>	Bovine anaplasmosis	Cattle, buffaloes	Monocytes	<i>Amblyomma</i> spp. <i>Rhipicephalus</i> spp. <i>Hyalomma</i> spp. <i>Haemaphysalis</i> spp.	Africa, USA, Europe, South America, Asia	<i>Ehrlichia bovis</i>
<i>A. centrale</i>	Mild anaplasmosis in cattle (vaccine strain)	Cattle	Erythrocytes	<i>Rhipicephalus simus</i>	Worldwide in tropical and subtropical regions	<i>Anaplasma centrale</i>
<i>A. marginale</i>	Bovine anaplasmosis	Cattle, wild ruminants	Erythrocytes	<i>Ixodes</i> spp. <i>Dermacentor</i> spp. <i>Rhipicephalus</i> spp.	Worldwide in tropical and subtropical regions	<i>Anaplasma marginale</i>
<i>A. ovis</i>	Ovine anaplasmosis	Sheep, goats, wild ruminants	Erythrocytes	<i>Dermacentor</i> spp. <i>Rhipicephalus</i> spp. <i>Melophagus ovinus</i>	Africa, Asia, Europe, USA	<i>Anaplasma ovis</i>
<i>A. phagocytophilum</i>	Human granulocytic anaplasmosis (HGA), equine anaplasmosis, tick-borne fever of ruminants, anaplasmosis of dogs and cats	Humans, horse, ruminants, rodents, carnivores, insectivores	Granulocytes, endothelial cells	<i>Ixodes</i> spp.	Worldwide	<i>Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila</i> , HGE agent, <i>E. equi</i>
<i>A. platys</i>	Cyclic thrombocytopenia in dogs	Dogs	Platelets	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Worldwide	<i>Ehrlichia platys</i>

M. Battilani et al. Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*. Infection, Genetics and Evolution 49 (2017) 195–211



## *Anaplasma phagocytophilum*

- infetta i **granulociti neutrofili** (raramente gli **eosinofili**)
- si replica all'interno di vacuoli citoplasmatici formando microcolonie (morule)

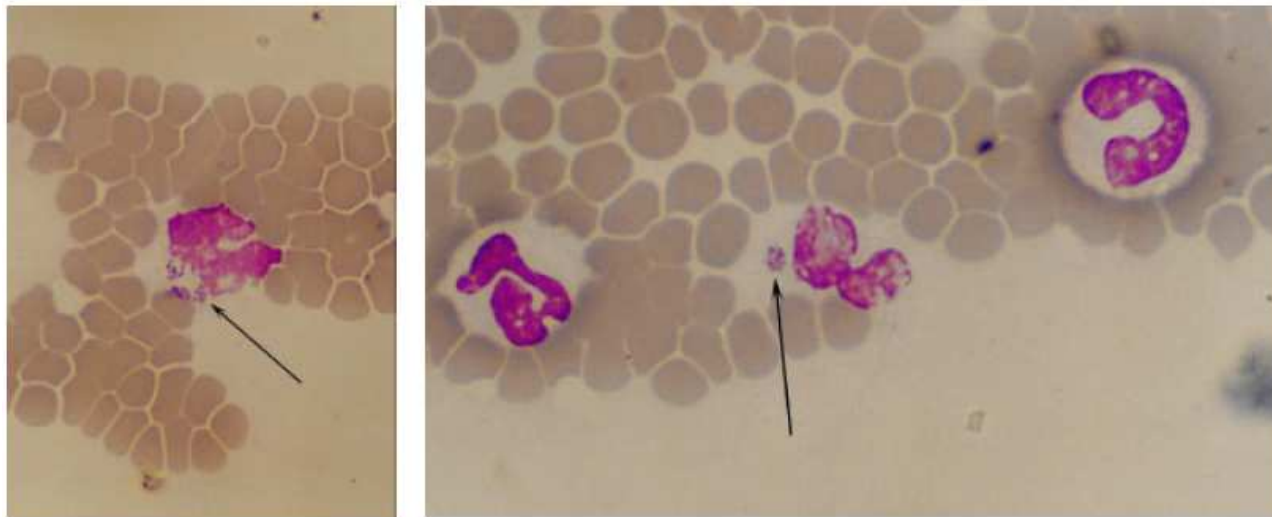
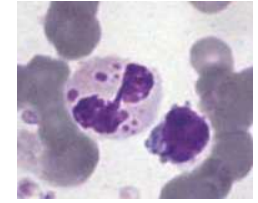


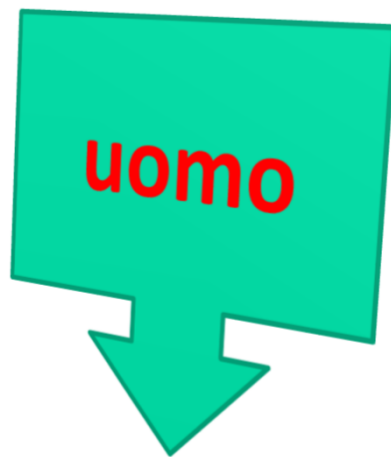
Figure 1 : Morulae (flèches) d'*Anaplasma phagocytophilum* dans des granulocytes équins –  
May Grünwald Giemsa X 1000 (Bermann Fet al., 2002)



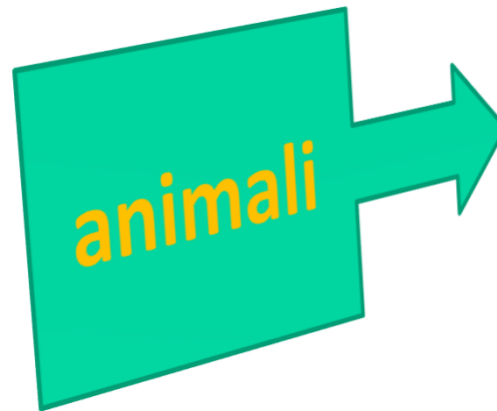




## *Anaplasma phagocytophilum*



**HGA:** Ehrlichiosi/Anaplasmosi  
granulocitica umana

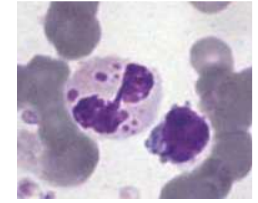


**TBF:** febbre trasmessa da zecche  
negli ovini, caprini e bovini

**EGA:** Anaplasmosi granulocitica  
equina

**CGA:** Anaplasmosi granulocitica  
canina



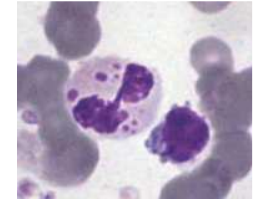


## *Anaplasma phagocytophilum*

- **1940** ipotizzata una *Rickettsia* quale responsabile della *Tick Borne Fever* (TBF) che colpì alcuni ovini in Scozia nel 1932 (Gordon et al., 1932; Gordon et al., 1940)
- **1951** *Rickettsia phagocytophila* (Foggie, 1951)
- **1962** *Cytoecetes phagocytophila* (Foggie, 1962)
- **1974** *Ehrlichia phagocytophila* (Philip, 1974)
- **1969** *Ehrlichia equi* in pazienti equini, ospite-specifico (Gribble, 1969)
- **1994** agente dell'ehrlichiosi granulocitica umana (HGE) in pazienti umani, ospite-specifico (Chen et al., 1994)
- **2001** Dumler e colleghi, studi di analisi filogenetica, proposta di unificazione delle ehrlichie granulocitiche in un'unica specie: *Anaplasma phagocytophilum* (Dumler et al., 2001)

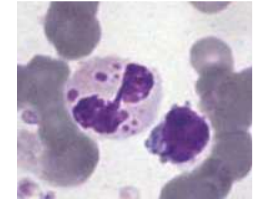


## *Anaplasma phagocytophilum*



- responsabile di una **zoonosi**, anaplasmosi granulocitaria umana (HGE), che coinvolge, oltre l'**uomo**, numerose specie animali sia domestiche che selvatiche (**carnivori, ruminanti, roditori, insettivori, uccelli e rettili**)
- trasmissione mediante puntura di zecche del genere *Ixodes*, in Europa ***I. ricinus*** (zecca dei boschi)
- il DNA di *A. phagocytophilum* è stato trovato anche in altre specie di zecca ma il loro ruolo come vettori non è stato ancora chiarito
- in *I. ricinus* avviene unicamente la trasmissione trans-stadiale e non quella trans-ovarica > non può essere considerata un serbatoio ma unicamente un **vettore**
- **piccoli roditori** e **cervi** hanno un ruolo come **serbatoi** di questi agenti patogeni



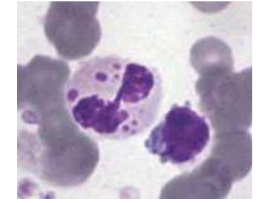


## *Anaplasma phagocytophilum*

- incubazione da 3 a 14 giorni
- sono necessarie almeno 24h di permanenza della zecca infetta sull'ospite recettivo perché avvenga l'infezione
- insorgenza primaverile-estiva
- leucopenia, neutropenia, riduzione della funzionalità dei neutrofili > immunodepressione > infezioni opportunistiche
- forme asintomatiche o sintomatiche
- nella pecora è un importante agente abortigeno







## *Anaplasma phagocytophilum*

- trasmesso dal vettore all'ospite in circa 24 – 48h.
- penetra nel derma e diffonde attraverso il sistema vascolare sanguigno e linfatico, durante la sua diffusione incontra i granulociti neutrofili ai quali si lega utilizzando un recettore superficiale per la selectina
- penetra all'interno della cellula tramite endocitosi, la membrana cellulare si invagina verso l'interno formando un fagosoma
- una volta penetrato inibisce la fusione del fagosoma con i lisosomi, blocca l'ossidazione cellulare e inibisce l'apoptosi
- i granulociti neutrofili non sono capaci di distruggere il batterio e fungono anche da veicolo facilitandone la diffusione in numerosi organi quali milza, fegato e polmoni



# *Anaplasma phagocytophilum*

microscopia  
elettronica

Esistono due forme intracellulari:

- **forma densa** più piccola e con cromatina addensata, *dense-cored cells* (0.4–0.6  $\mu$ m)
- **forma reticolare** con filamenti di cromatina dispersi, ribosomi e aspetto omogeneo, *reticulate cells* (0.4–0.6  $\mu$ m)

> Le forme dense sono quelle infettive che penetrano all'interno della cellula ospite.

> 24h dopo l'infezione si trasformano in forme reticolari e iniziano a dividersi per scissione binaria.

> Il ciclo intero di sviluppo si completa in 72h quando le forme reticolari maturano e si trasformano nuovamente in forme dense che vengono rilasciate per andare a infettare nuove cellule.

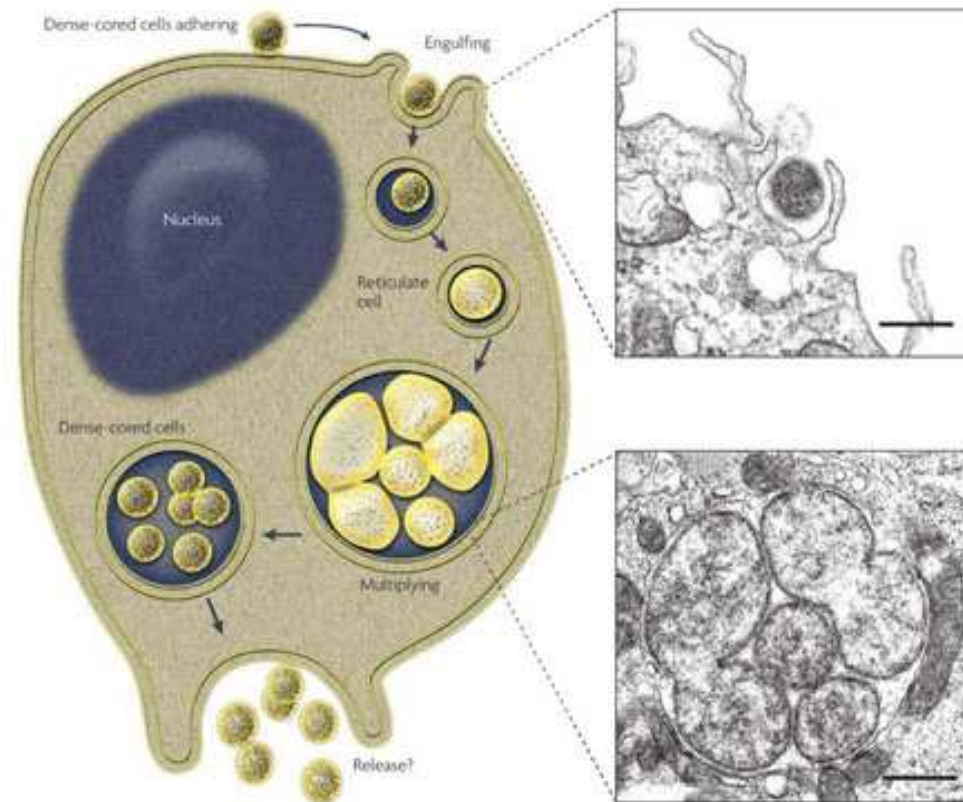
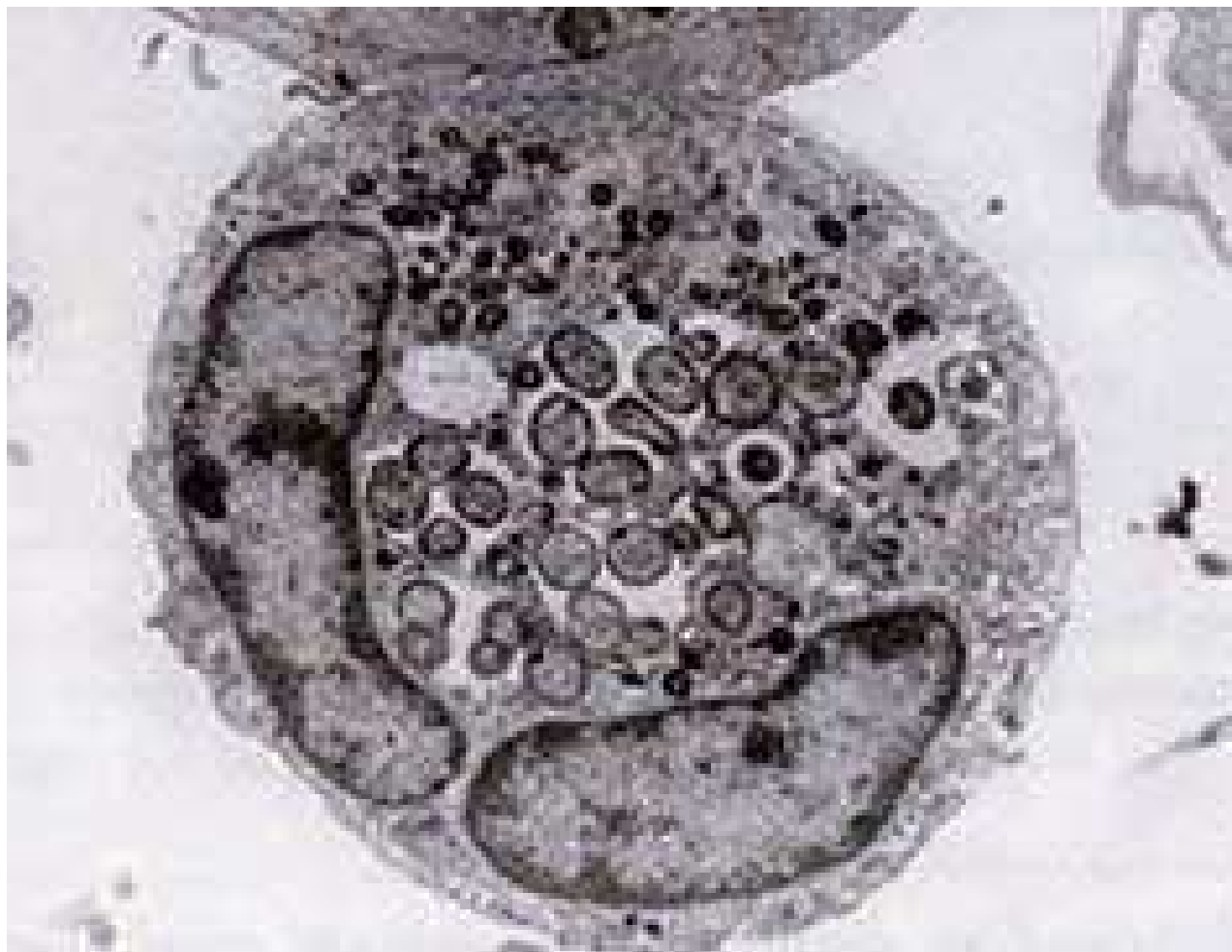


Figure 5 | Proposed intracellular development cycle of *Ehrlichia chaffeensis*. The dense-cored cells enter host cells and develop into reticulate cells, which replicate and mature into dense-cored cells. Later, a mixture of dense-cored cells and reticulate cells (not shown) is liberated by exocytosis or rupture of host cells. The electron micrographs show *Ehrlichia chaffeensis* bound to the surface of host cells (top panel) and replicating in a morula (bottom panel). The scale bar represents 0.5  $\mu$ m. Electron micrographs are modified, with permission, from REF. 112 © (2007) Blackwell Science.

Rikihisa, Yasuko. "Anaplasma phagocytophilum and Ehrlichia chaffeensis: subversive manipulators of host cells." *Nature Reviews Microbiology*, vol. 8, no. 5, 2010, p. 328+. *Academic OneFile*, Accessed 8 Oct. 2017.



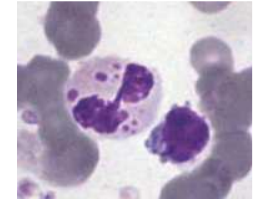
## *Anaplasma phagocytophilum*



Ultrastructure of *A. phagocytophilum* by transmission electron microscopy. Photo by V. Popov, reprinted from Dumler S. et al. 2005. Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. Emerg Infect Dis;11:1828-34.



## *Anaplasma phagocytophilum*



uomo



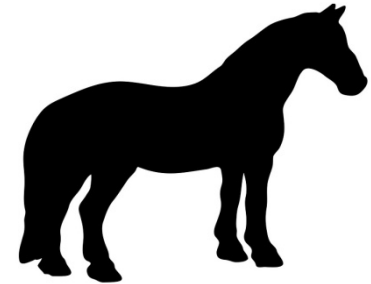
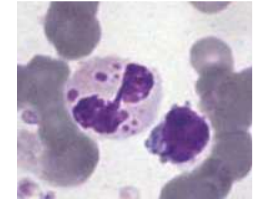
- Human Granulocytic Ehrlichiosis/Anaplasmosis (HGA)
- descritta per la prima volta negli Stati Uniti nel 1994
- i sintomi compaiono in media 9 giorni dopo la puntura di zecca
- forme asintomatiche o sintomatiche: febbre, malessere, mal di testa, mialgia, torcicollo, nausea e tosse; in rari casi complicazioni anche mortali quali sindrome da shock tossico, sindrome da insufficienza respiratoria acuta e infezioni opportunistiche
- considerato un patogeno emergente, soprattutto nell'emisfero Nord





## *Anaplasma phagocytophilum*

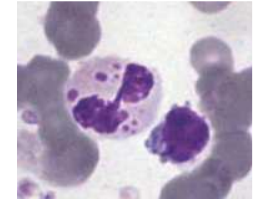
### equino



- Ehrlichiosi granulocitica equina (EGE)
- descritta la prima volta in cavalli californiani nel 1969
- forma acuta o subclinica
- nei cavalli adulti la forma clinica si presenta con febbre, apatia, inappetenza, edema degli arti, petecchie, ittero, atassia, andatura rigida e rifiuto di muoversi
- alterazioni ematologiche: leucopenia, trombocitopenia e anemia
- bassa mortalità (infezioni secondarie in seguito a ferite dovute all'incoordinazione motoria)
- il trattamento con tetracicline determina la guarigione



## *Anaplasma phagocytophilum*



cane

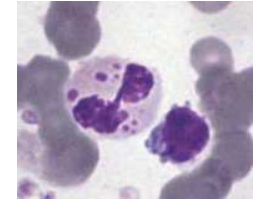
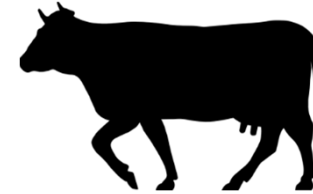
- Ehrlichiosi granulocitica canina
- descritta per la prima volta in Europa alla fine degli anni 80, in Svizzera ed in Svezia, poi in Gran Bretagna ed Italia
- infezioni asintomatiche o cliniche: febbre alta, letargia, anoressia, splenomegalia e difficoltà motorie; segnalate anche zoppie, artropatie, vomito, diarrea, poliuria/polidipsia e lesioni del sistema nervoso centrale (deficit propriocettivo)
- terapia: doxicillina (10mg/kg per os per tre settimane)
- Le forme gravi della malattia richiedono un trattamento prolungato. E' stato dimostrato sperimentalmente che il cane può essere infettato in forma cronica per molti mesi



## *Anaplasma phagocytophilum*



Ovini/caprini/bovini

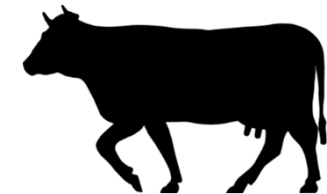
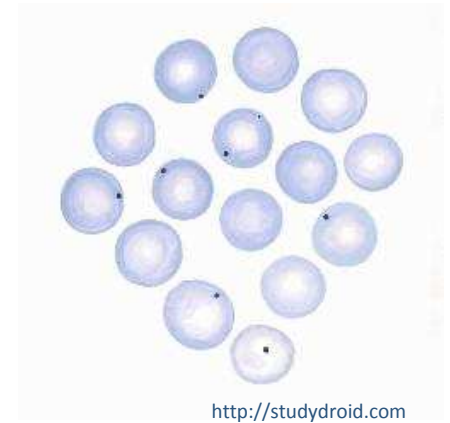


- febbre trasmessa da zecche (TBF)
- febbre anche oltre 42°C, neutropenia importante, debolezza, anoressia e aborto
- calo della produzione latte
- aumento dell'incidenza di infezioni secondarie
- può causare infezione persistente nelle pecore, che fungono da serbatoio ospite per *A. phagocytophilum* da una stagione di pascolo alla seguente.
- il numero delle cellule ematiche infettate nelle pecore infettate persistentemente è variabile e non sempre l'infezione è svelabile con l'osservazione di uno striscio di sangue periferico.
- le varianti genetiche di *A. phagocytophilum* caratterizzate in base alla sequenza del gene 16S per l'rRNA possono causare diversi sintomi clinici.



## *Anaplasma marginale*

- infetta gli **eritrociti** dei **ruminanti**
- agente eziologico della **anaplasmosi bovina**
- descritti nel 1910 da Sir Arnold Theiler che, osservando strisci di sangue colorati di bovini malati, osservò delle piccole inclusioni intraeritrocitarie in posizione marginale
- nel 1893 erano state descritte inclusioni simili da Smith e Kilbourne erroneamente ascritte al ciclo vitale di *Babesia bigemina*
- presente in tutto il mondo, specialmente nelle aree tropicali, subtropicali e a clima temperato
- in Italia: Lazio, Marche, Campania, Puglia, Basilicata, Calabria, Lombardia, Toscana, Umbria e Sicilia
- in via di espansione (movimentazione bovini da aree endemiche a non endemiche, surriscaldamento climatico globale > vettori)

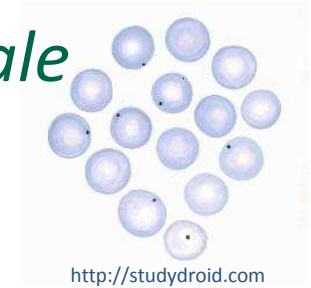






bovini

## *Anaplasma marginale*



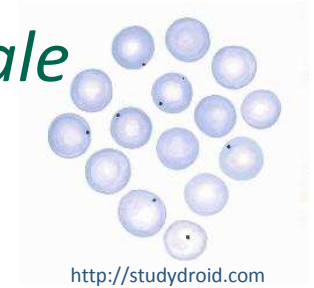
- infetta molte specie di ruminanti (ad es. bovini, ovini, bufali, bisonti, cervi) ma nei bovini provoca l'**anaplasmosi bovina**, malattia potenzialmente mortale
- importante impatto economico negli allevamenti bovini colpiti (elevate perdite dovute a mortalità e calo di produzione)
- trasmissione
  - biologica: molte specie di zecche coinvolte, in Italia principalmente appartenenti ai generi *Ixodes*, *Boophilus*, *Dermacentor*, *Hyalomma* e *Rhipicephalus*
  - meccanica (particolarmente importante dove non sono presenti i vettori biologici): fomiti inquinati da sangue, artropodi succhiatori
  - transplacentare: nascono vitelli infetti (no malattia)





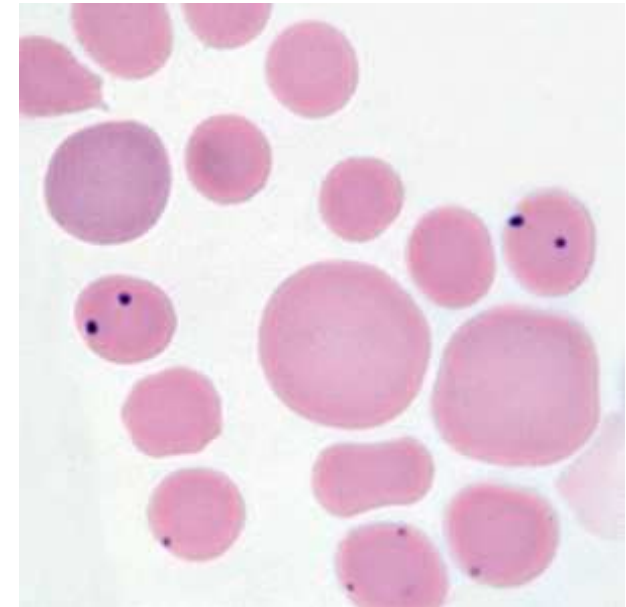
bovini

## *Anaplasma marginale*



<http://studydroid.com>

- incubazione da 7 a 60 gg (dipende dalla dose infettiva)
- *A. marginale* invade gli eritrociti > eritrociti infetti fagocitati e distrutti dalle cellule del sistema reticolo-endoteliale > anemia emolitica extravascolare
- febbre, pallore delle mucose, perdita di peso, calo della produzione latte, letargia, ittero, sintomi gastrointestinali, aborto e morte
- animali più anziani mostrano sintomatologia più grave rispetto ai giovani
- i bovini che superano l'infezione acuta rimangono persistentemente infetti > **serbatoi**

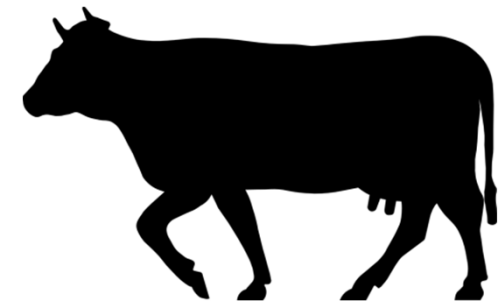
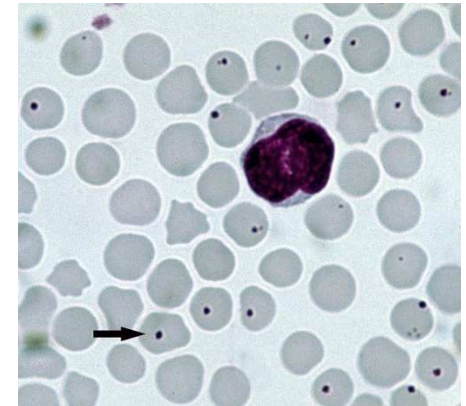


<http://www.eclinpath.com>



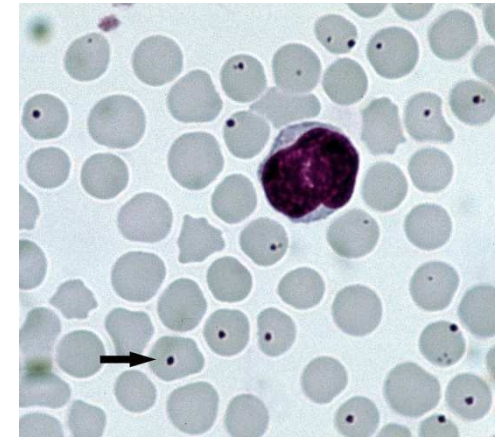
## *Anaplasma centrale*

- infetta gli **eritrociti** dei **bovini** e di altri ruminanti
- descritta per la prima volta nel 1911 da Sir Arnold Theiler come *A. marginale* (var. centrale)
- specie molto affine ad *A. marginale*, dotata però di un potere patogeno inferiore e caratterizzata da inclusioni più piccole e in posizione più centrale rispetto all'eritrocita
- presente in tutto il mondo, principalmente nelle aree tropicali e subtropicali
- trasmissione
  - biologica: zecche vettrici (*Rhipicephalus simus*)
  - meccanica: artropodi succhiatori

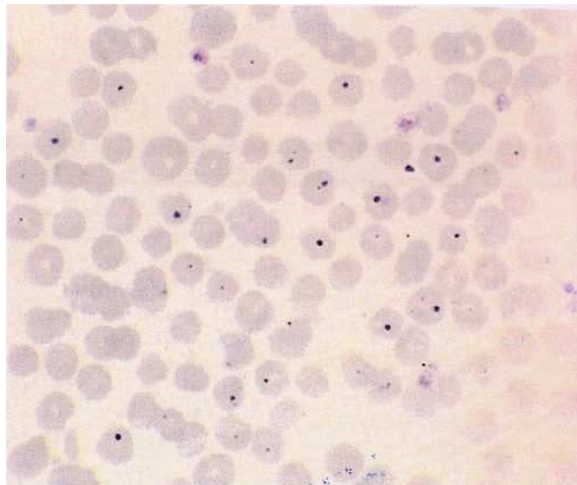


## *Anaplasma centrale*

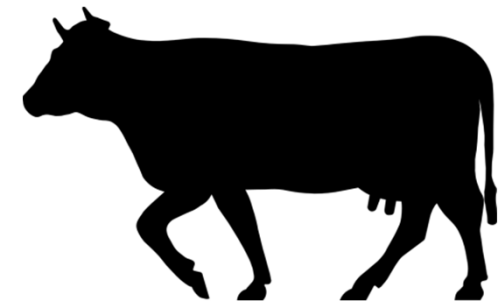
- infezione lieve o inapparente
- conferisce immunità protettiva nei confronti di *A. marginale*
- è utilizzato come vaccino vivo per il controllo dell'anaplasmosi bovina (Africa, Australia, Sud America, Israele)



<https://es.wikipedia.org>



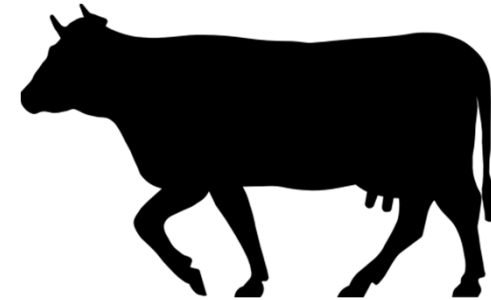
<http://dico-sciences-animales.cirad.fr>







## *Anaplasma bovis*



- infetta i **monociti** dei ruminanti, principalmente **bovini e bufali**
- descritta per la prima volta nel 1936 nel bovino
- presente in Africa, USA, Sud Europa, Sud America e Asia
- trasmissione biologica: zecche vettrici, principalmente *Amblyomma* spp., *Rhipicephalus* spp., *Hyalomma* spp. e *Haemaphysalis* spp.
- malattia lieve, raramente grave
- febbre, debolezza, perdita di peso, mucose pallide, linfadenite dei linfonodi prescapolari, occasionalmente morte



## *Anaplasma bovis*

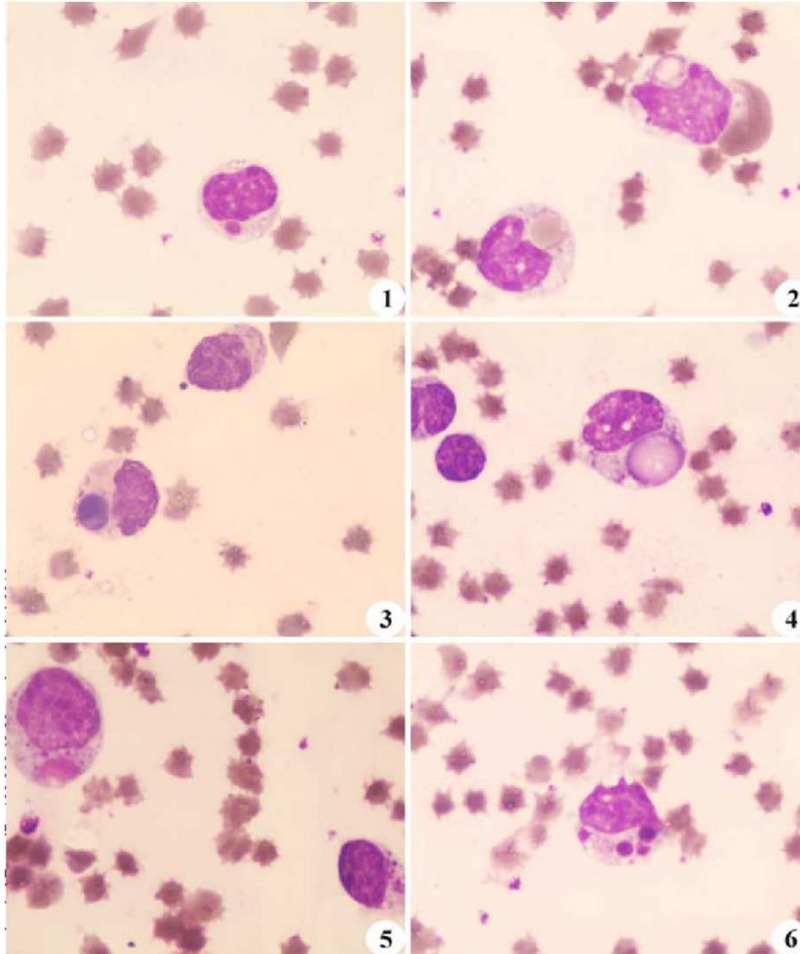


Fig.1. Compact spherical body of *Anaplasma bovis* in monocyte. Leishman-Giemsa x400;

Fig.2. Pale red morulae surrounded by clear halo (Left bottom); Clear vacuolar Inclusion body rimmed by pink margin (Right top) of *Anaplasma bovis* in monocyte. Leishman- Giemsa x400;

Fig.3. Dark purple compact body of giant morulae of *Anaplasma bovis* in monocyte. Leishman-Giemsa x400;

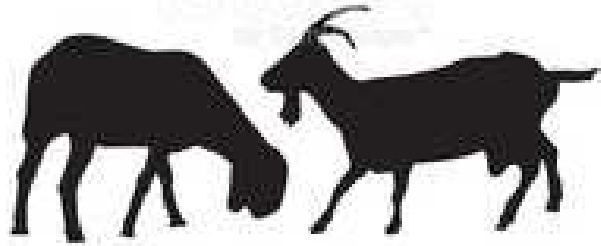
Fig.4. Pale purple compact body of giant morulae of *Anaplasma bovis* in monocyte. Leishman-Giemsa x400;

Fig.5. Pink stained morulae (Left top); Heterogenous initial bodies (Right bottom) of *Anaplasma bovis* in monocyte. Leishman-Giemsa x400;

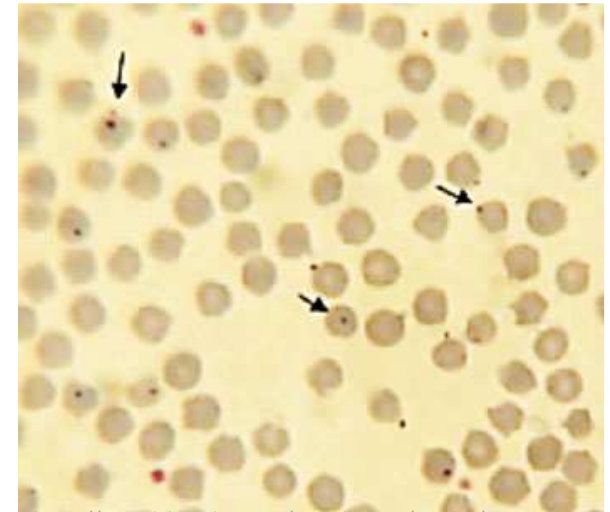
Fig.6. Four morulae in a monocyte of *Anaplasma bovis* in monocyte. Leishman-Giemsa x400.

Occurrence of *Anaplasma bovis* ( *Ehrlichia bovis* ) with varying morphology in a crossbred cow in Tamilnadu, India. Available from:  
[https://www.researchgate.net/publication/304529120\\_Occurrence\\_of\\_Anaplasma\\_bovis\\_Ehrlichia\\_bovis\\_with\\_varying\\_morphology\\_in\\_a\\_crossbred\\_cow\\_in\\_Tamilnadu\\_India](https://www.researchgate.net/publication/304529120_Occurrence_of_Anaplasma_bovis_Ehrlichia_bovis_with_varying_morphology_in_a_crossbred_cow_in_Tamilnadu_India) [accessed Oct 8, 2017]





## *Anaplasma ovis*



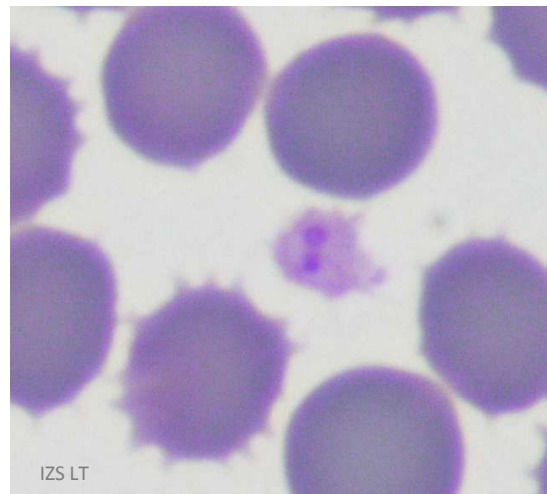
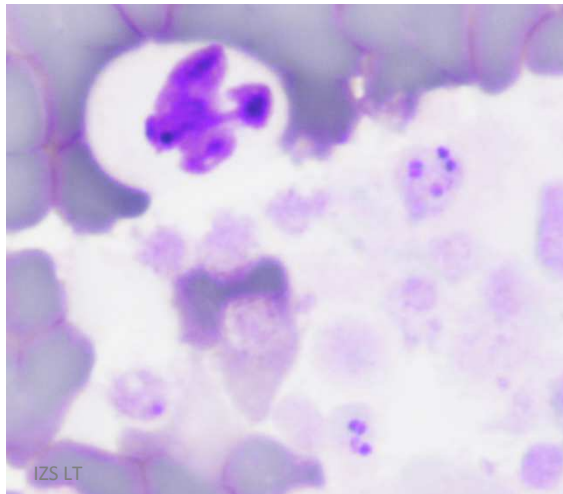
<https://www.labmedica.com/microbiology/articles/294758243>

- infetta gli **eritrociti** di **ovini**, **caprini** e ruminanti selvatici
- descritta per la prima volta nel 1912 da Bevan nell'ovino
- presente in Africa, Asia, Europa e USA
- recentemente è stata segnalata una variante di *A. ovis* in un paziente umano, suggerendo il **potenziale zoonotico** di questo organismo
- trasmissione biologica: zecche vettrici, principalmente *Dermacentor* spp. e *Rhipicephalus* spp.
- malattia lieve, in presenza di co-infezioni o stress forma più grave
- febbre, anoressia, debolezza, mucose pallide, diminuzione produzione latte, tosse, dispnea, atonia del rumine, aborto e morte



## *Anaplasma platys*

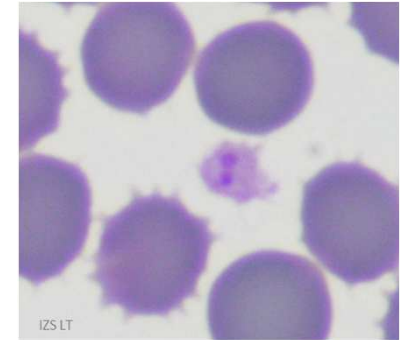
- parassita obbligato delle **piastrine** di cani, gatti, volpi, cervi, bovini e uomo
- descritto per la prima volta in una pubblicazione da Harvey, J.W. *et al.* nel 1978 in un cane della Florida
- diffuso in tutto il mondo
- vettore principale *Rhipicephalus sanguineus*, ma rilevato anche in *Dermacentor* spp., *Ixodes* spp., *Haemaphysalis* spp., *Rhipicephalus* spp.







## *Anaplasma platys*



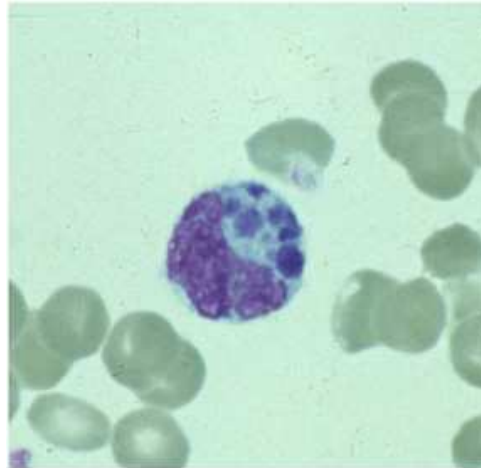
- nel **cane** è agente causale della **trombocitopenia infettiva ciclica (TIC) canina**
- episodi ciclici di parassitemia e trombocitopenia ogni 8-15 gg
- danno diretto alle piastrine e meccanismi immunomediati
- Dopo 8 – 15 gg dall'infezione compaiono le morule del parassita nelle piastrine ed entro 7 gg si sviluppa la trombocitopenia che può essere severa (<20000/ul). La parassitemia è ciclica (ogni 10 – 14gg) e dopo ogni picco si assiste ad una drastica diminuzione del numero delle piastrine che dura 3-4 gg
- tende a risolversi spontaneamente
- l'infezione può rimanere asintomatica o sviluppare segni clinici: febbre, letargia, diminuzione dell'appetito, perdita di peso, mucose pallide, petecchie emorragiche di cute o mucosa orale, epistassi e linfadenomegalia



## *Diagnosi*

### Diretta: microscopia

- negli strisci di sangue colorati con colorazioni tipo Romanowsky (May-Grunwald Giemsa, colorazioni rapide per ematologia) gli anaplasmi si evidenziano come inclusioni di colore dal blu al porpora

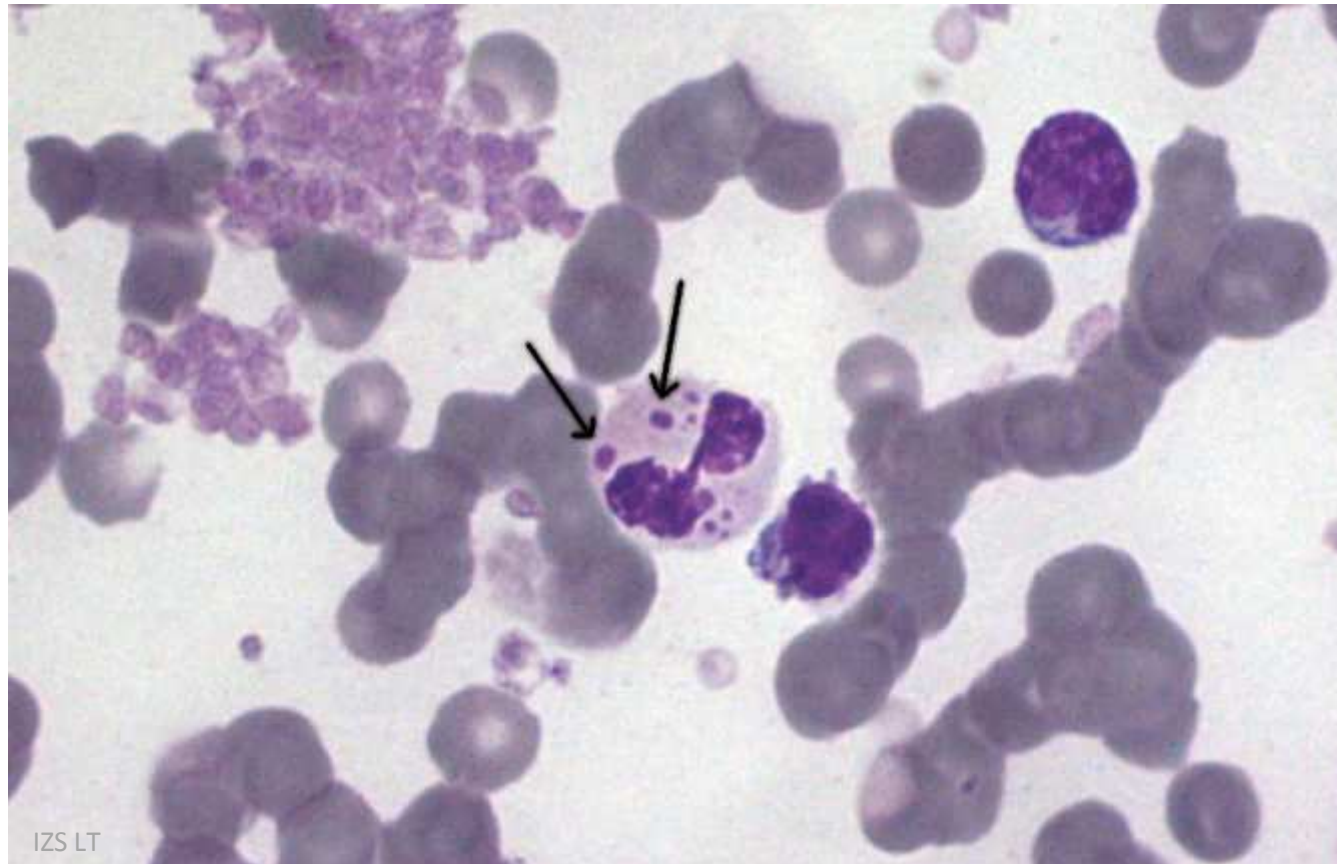


<https://www.cdc.gov>

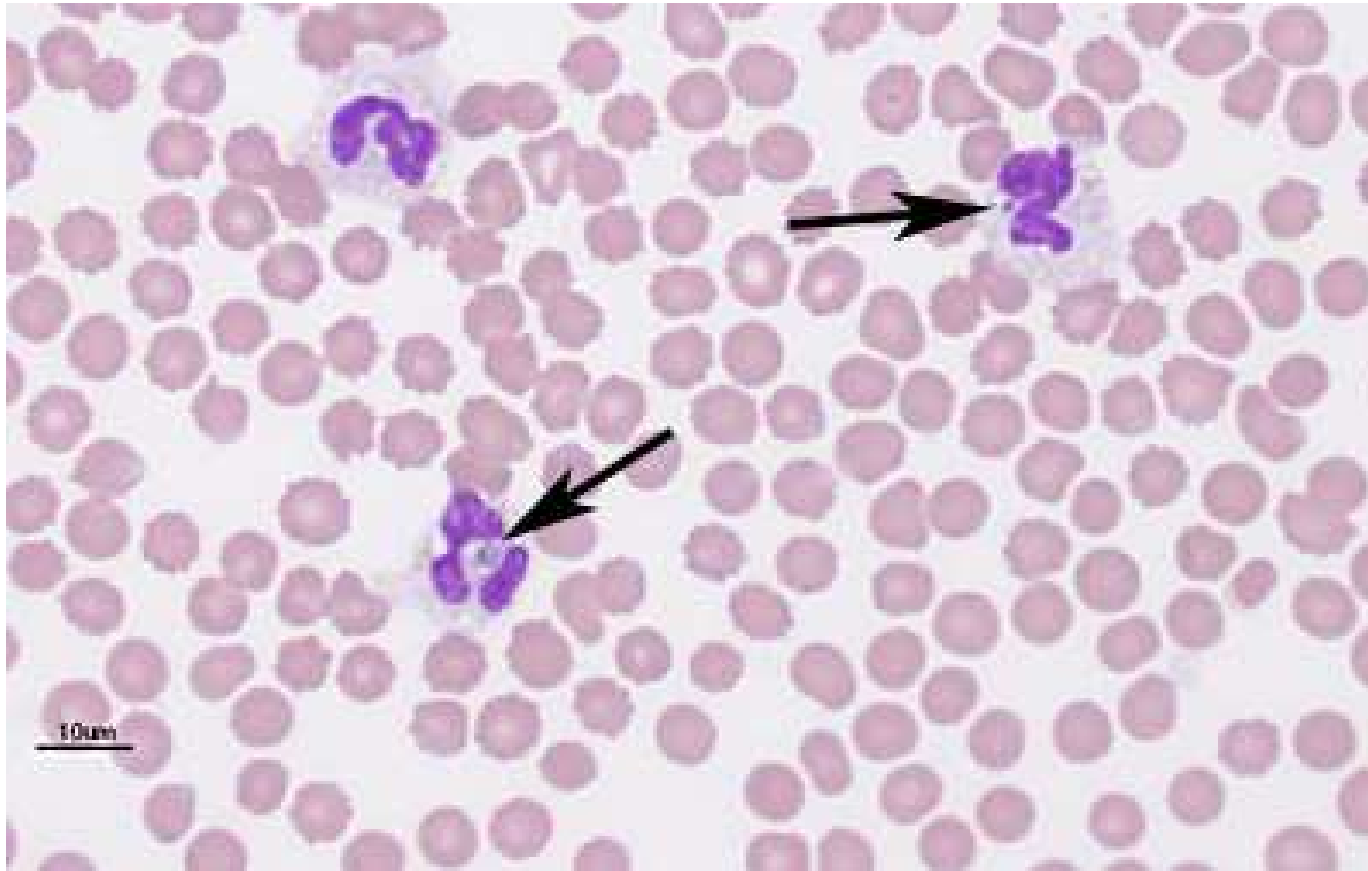


## *Anaplasma phagocytophilum*

inclusioni nel citoplasma di granulociti neutrofili o eosinofili



## *Anaplasma phagocytophilum*



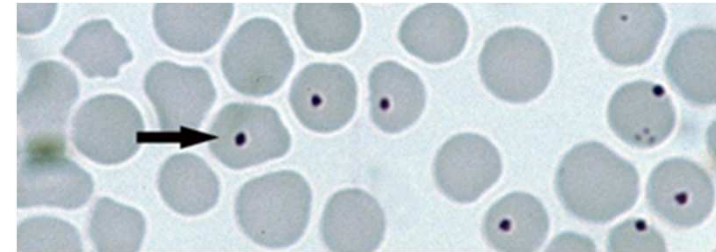
<http://www.eclinpath.com/june-2012-case-of-the-month/figure-3/>





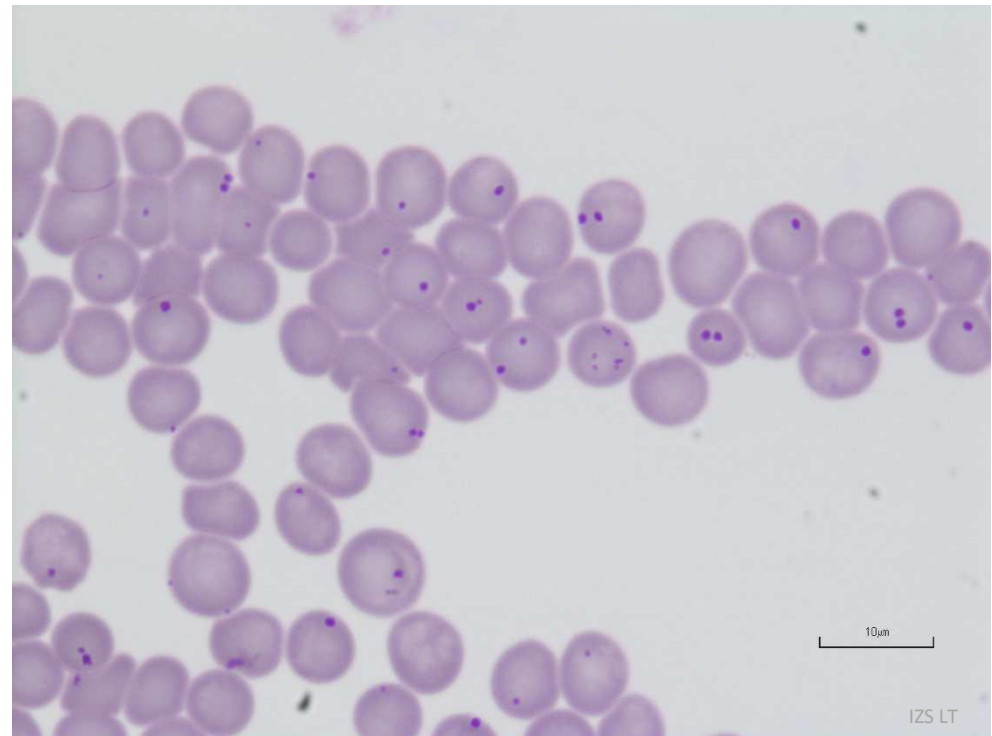
## *Anaplasma marginale e centrale*

- colorati uniformemente dal rosso al blu
- dimensioni 0,3 – 0,5  $\mu\text{m}$
- all'interno dei globuli rossi (bovini)
- la posizione centrale o marginale consente di distinguerne la specie



*A. centrale.*

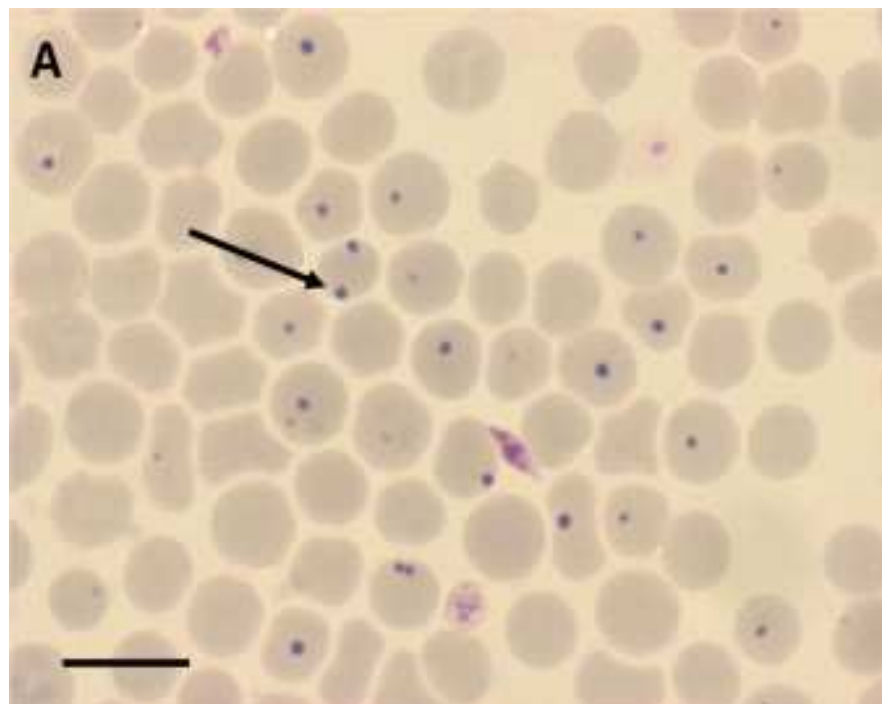
<https://es.wikipedia.org>



*A. marginale in sangue di bovino.*



## *Anaplasma centrale*

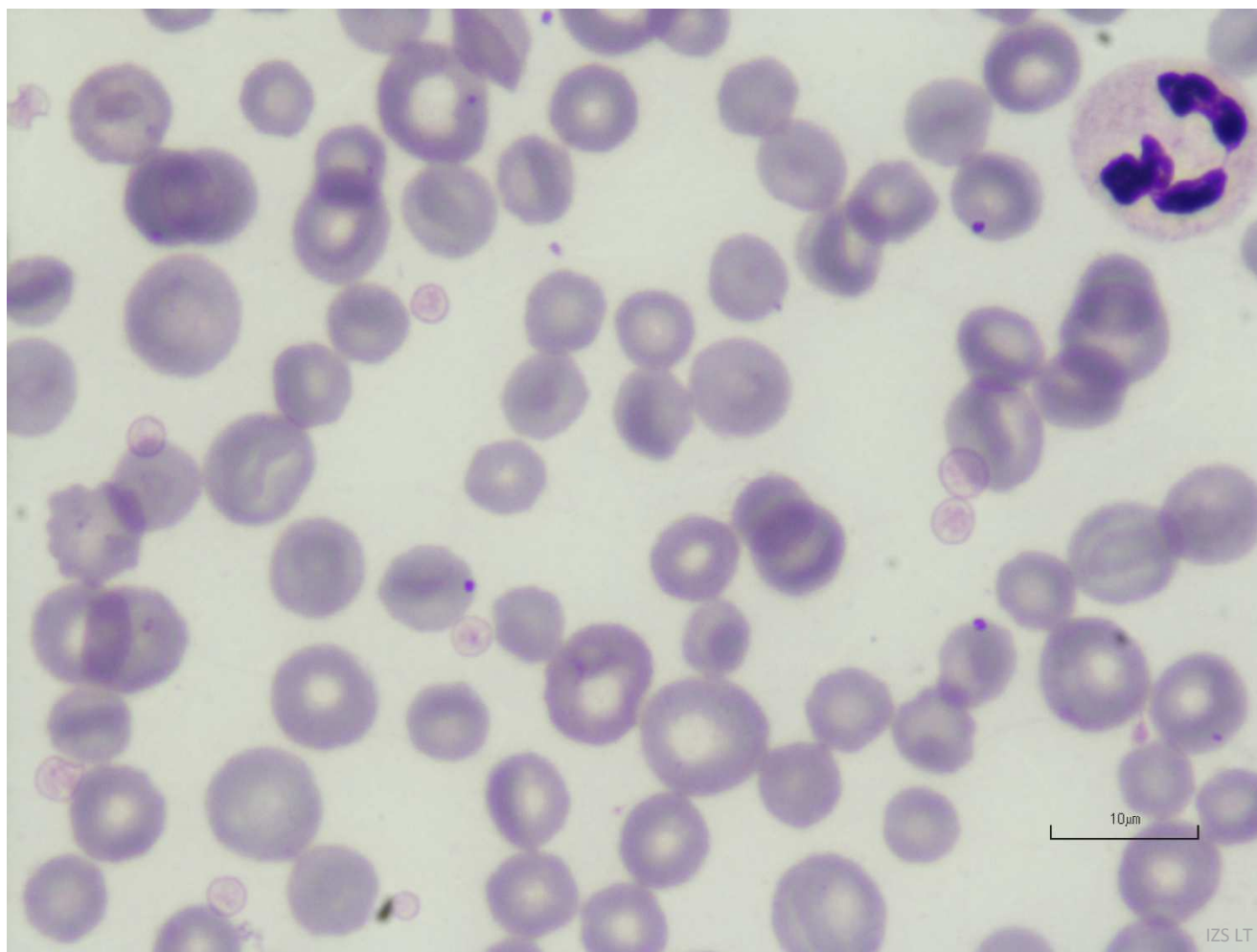


*A. centrale.*

Foto pubblicata in: L. Bell-Sakyi, et al., Propagation of the Israeli vaccine strain of *Anaplasma centrale* in tick cell lines, Vet. Microbiol. (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.008>



## *Anaplasma marginale*

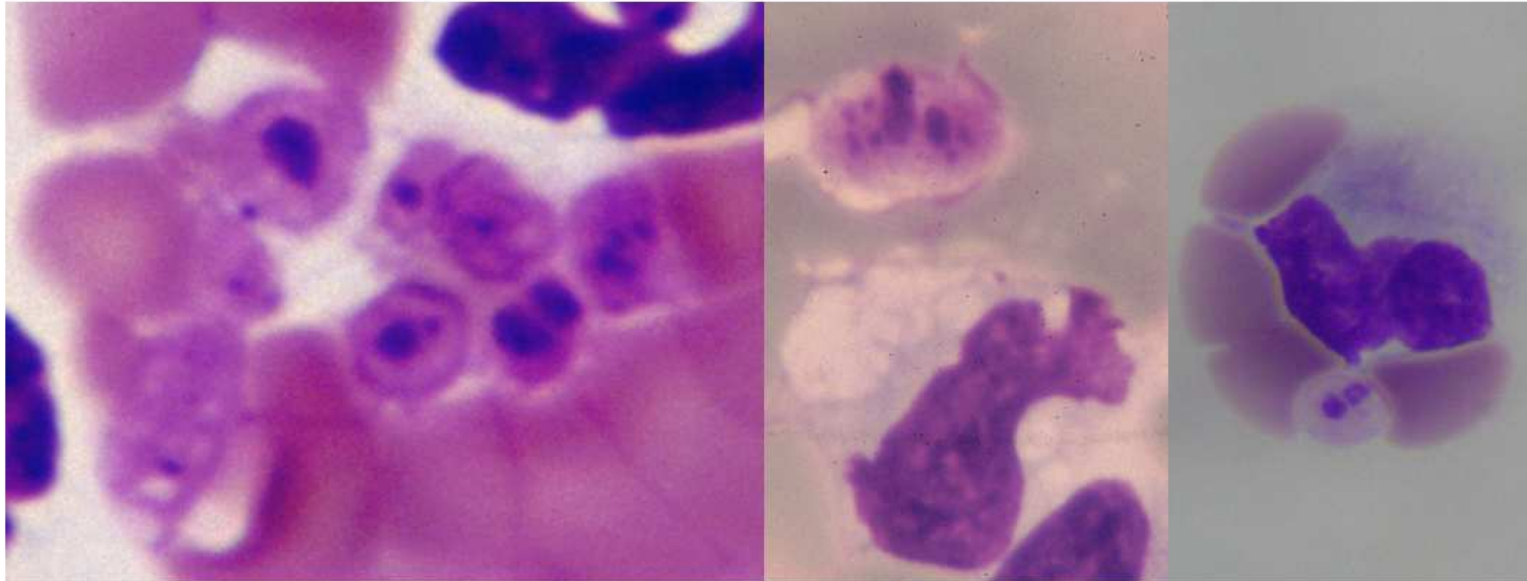


*A. marginale* in sangue di bovino.





## *Anaplasma platys*



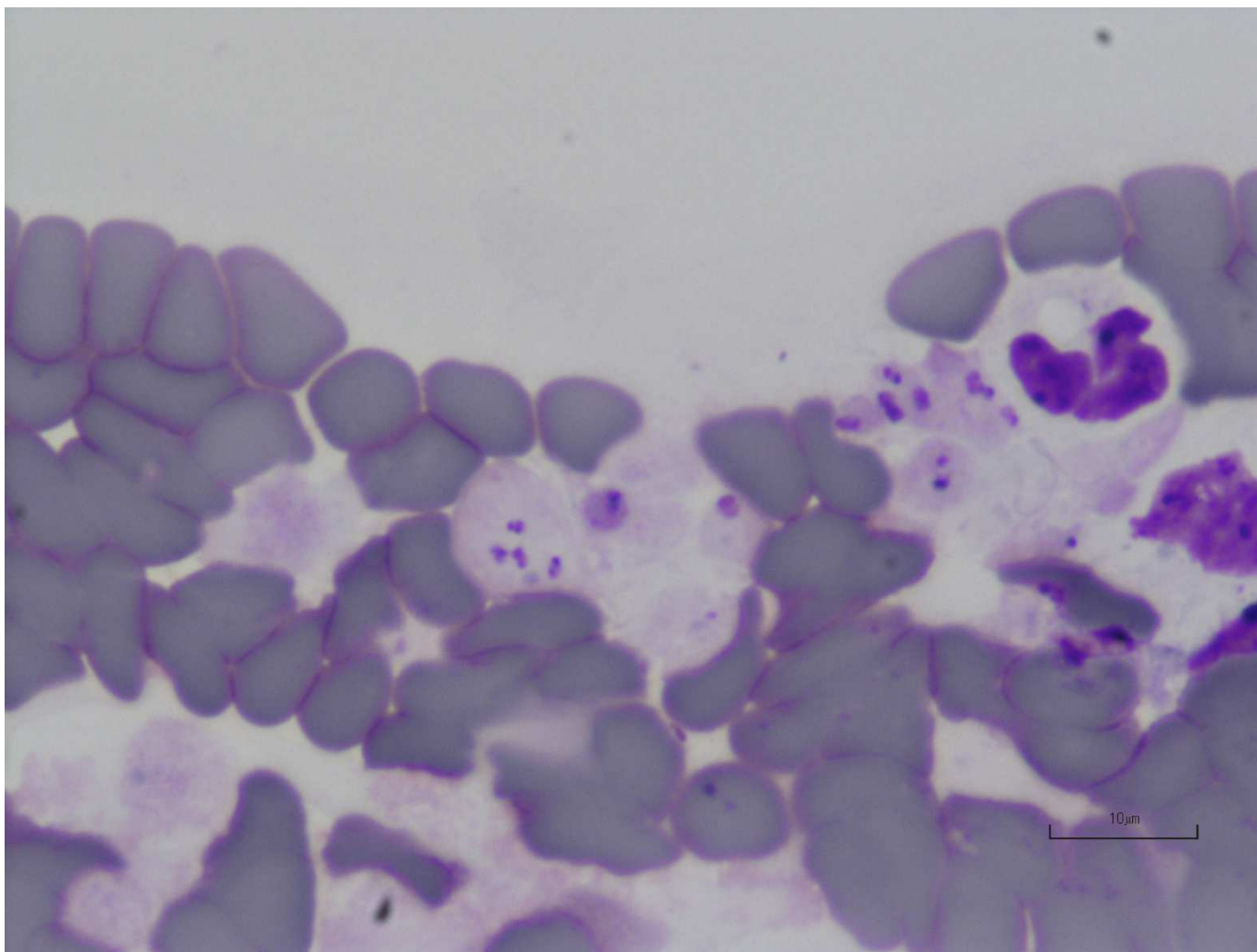
*Photo de gauche : amas de plaquettes, dont la plupart sont infectées par Anaplasma platys. Centre : grande plaquette contenant plusieurs morulas ou corps élémentaires d'A. Platys. Photos de droite : deux inclusions, dont la structure en morula est bien visible, à l'intérieur d'une plaquette sanguine.*

<http://www.cliniqueveterinairecalvisson.com>

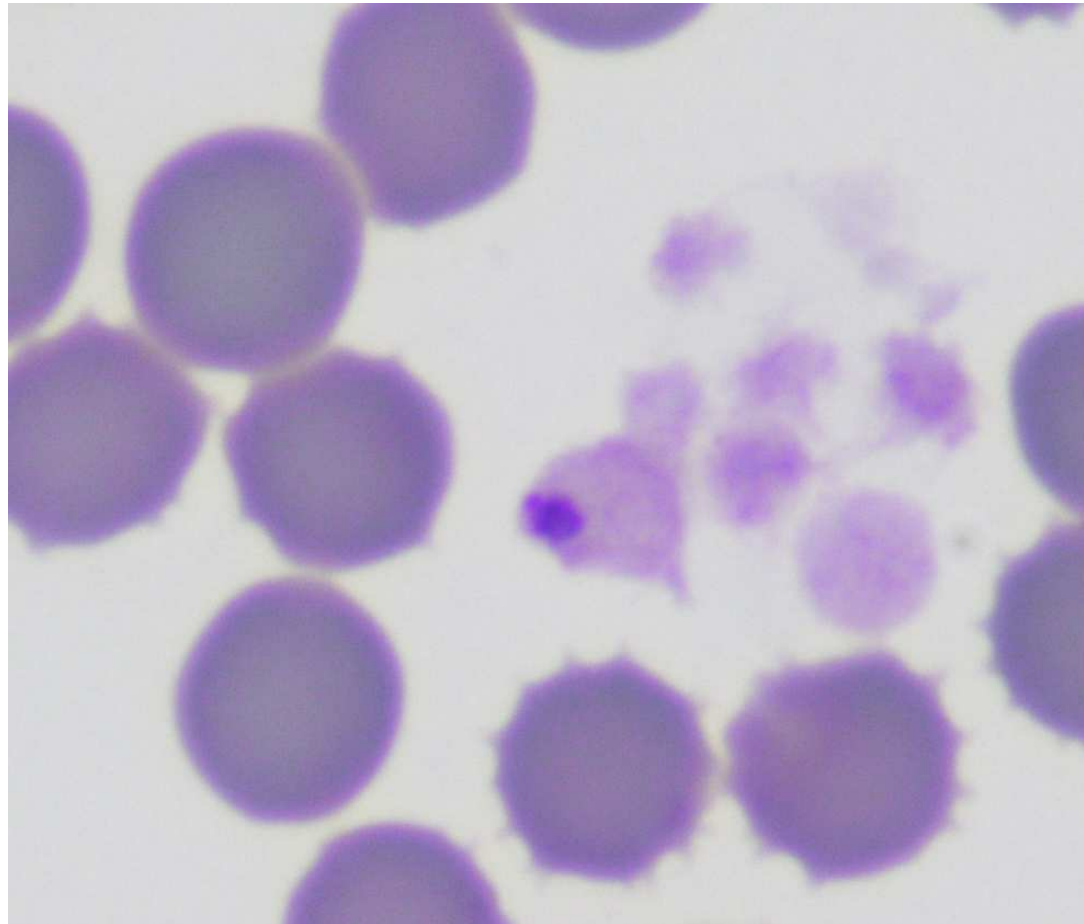




## *Anaplasma platys*



## *Anaplasma platys*



## *Diagnosi*

### Diretta: tecniche biomolecolari (PCR)

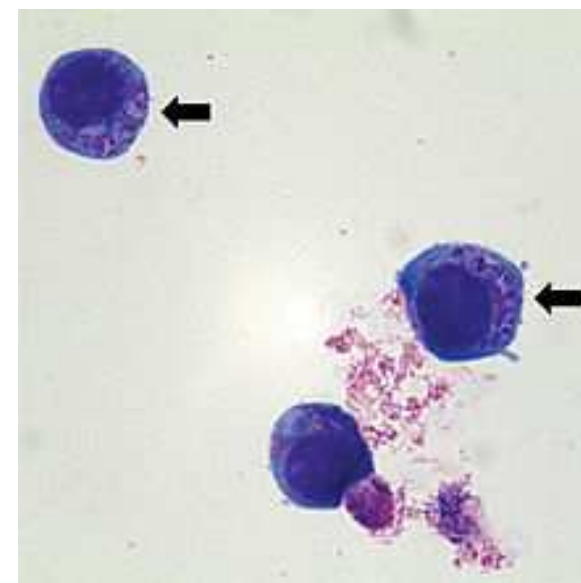
- molto più sensibili e specifiche della microscopia
- permettono di arrivare all'identificazione di specie
- saranno oggetto di una relazione in un successivo modulo del corso



## Diagnosi

### Diretta: isolamento in coltura

- Non sempre applicabile a tutti gli anaplasmi
- non utilizzato per gli esami di routine
- necessario per ottenere sufficienti quantità di DNA genomico per il sequenziamento finalizzato alla caratterizzazione genetica
- finalizzato alla produzione di antigene (vetrini IFI)



Human HL60 cells containing *Anaplasma phagocytophilum* (indicated by arrows) which are basophilic intracytoplasmic inclusions when stained with Wright-Giemsa stain.  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Anaplasma\\_phagocytophilum](https://en.wikipedia.org/wiki/Anaplasma_phagocytophilum)





## *Diagnosi Anaplasma spp.*

### Indiretta: tecniche sierologiche (IFI/ELISA anticorpi)

- gli anticorpi compaiono dopo circa 1 settimana dall'esposizione, 2 - 5 giorni dalla comparsa delle morule.
- presenza di cross-reattività tra *A. phagocytophilum*, *A. platys* ed *Ehrlichia canis*
- falsi negativi: possibili nelle fasi precoci dell'infezione
- falsi positivi: possibili in caso di cross infezione con altri organismi correlati
- la positività è indice di presenza di anticorpi: potrebbe semplicemente indicare un precedente contatto e non una malattia in atto > verificare se c'è sierconversione



## *Diagnosi Anaplasma spp.*



- **Sieroconversione:**

da valutarsi con la ripetizione dell'esame a distanza di 4 settimane

- passaggio dallo stato di sieronegatività (assenza di anticorpi nel siero di sangue) allo stato di sieropositività (presenza di anticorpi nel siero di sangue)

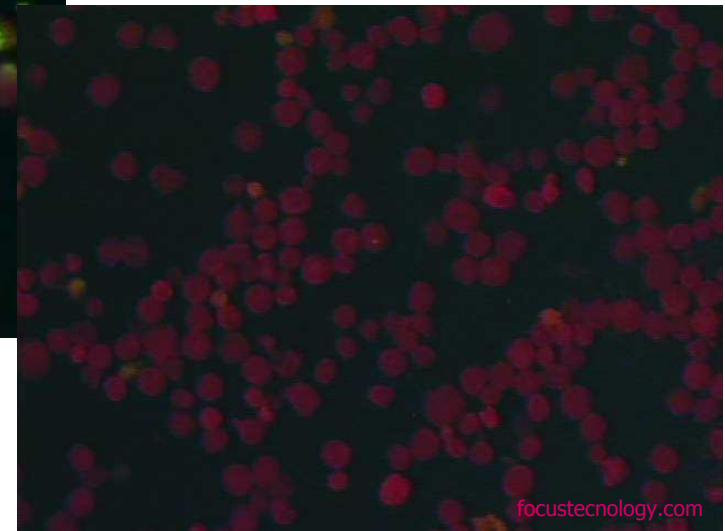
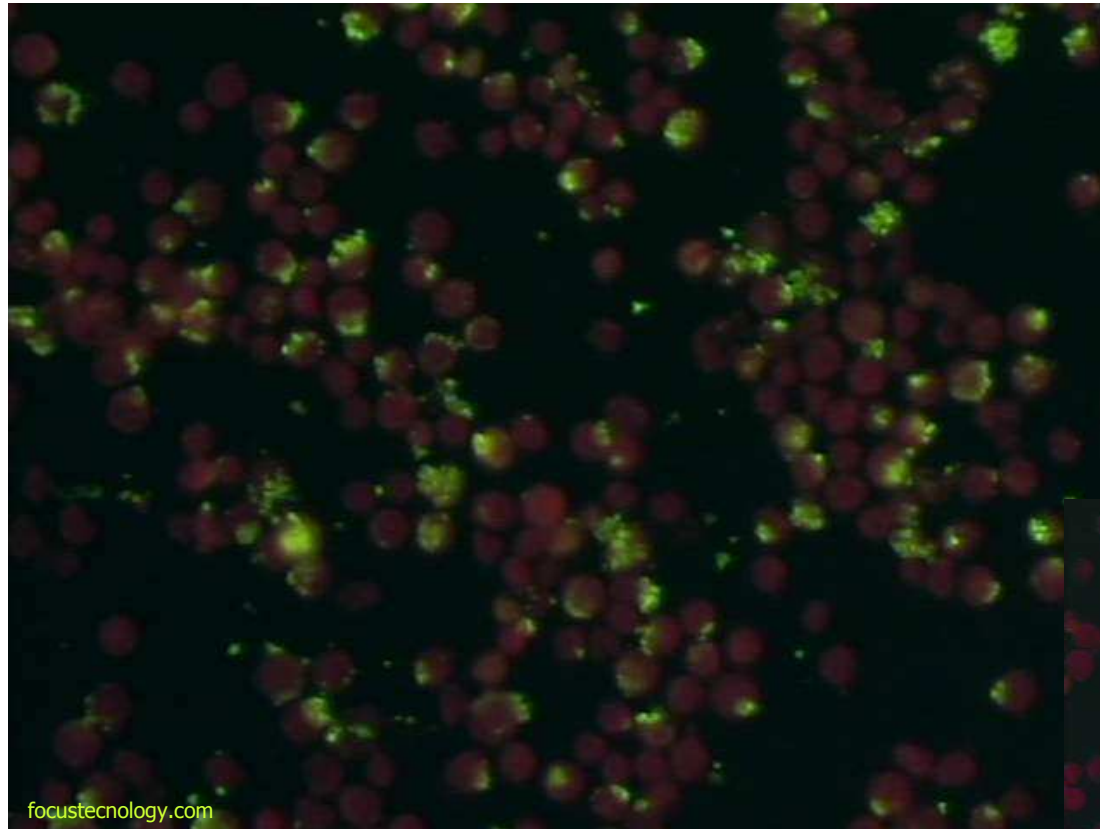
oppure:

- aumento di almeno 4 volte il titolo iniziale



tecniche sierologiche

# *Anaplasma Phagocytophilum*

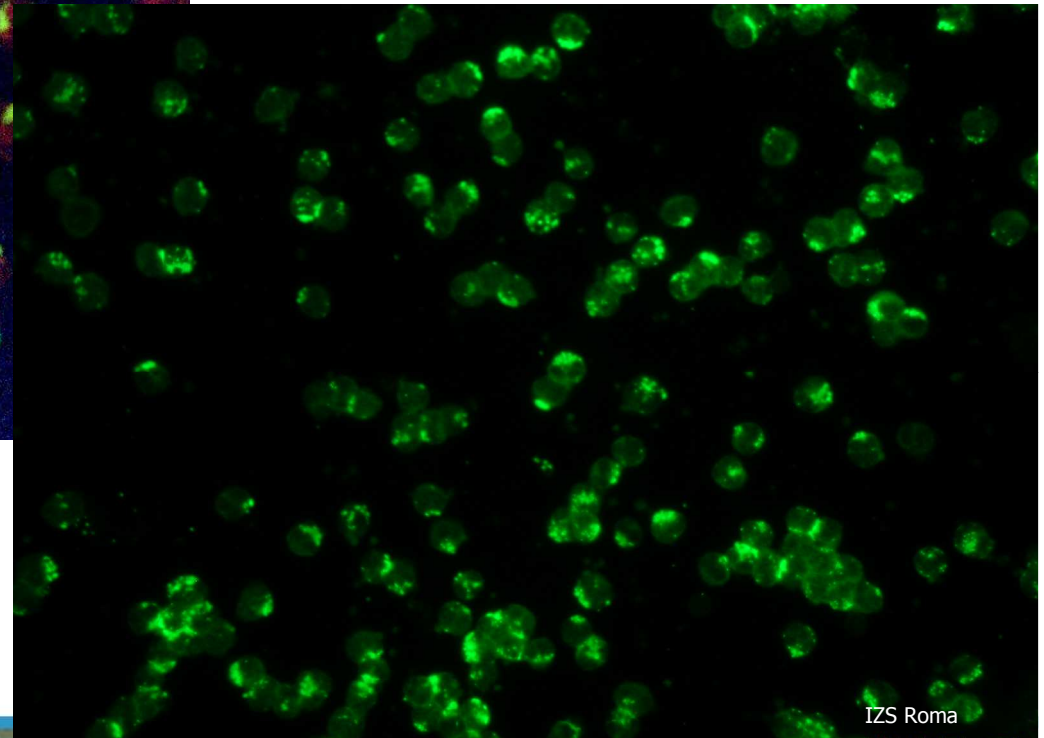
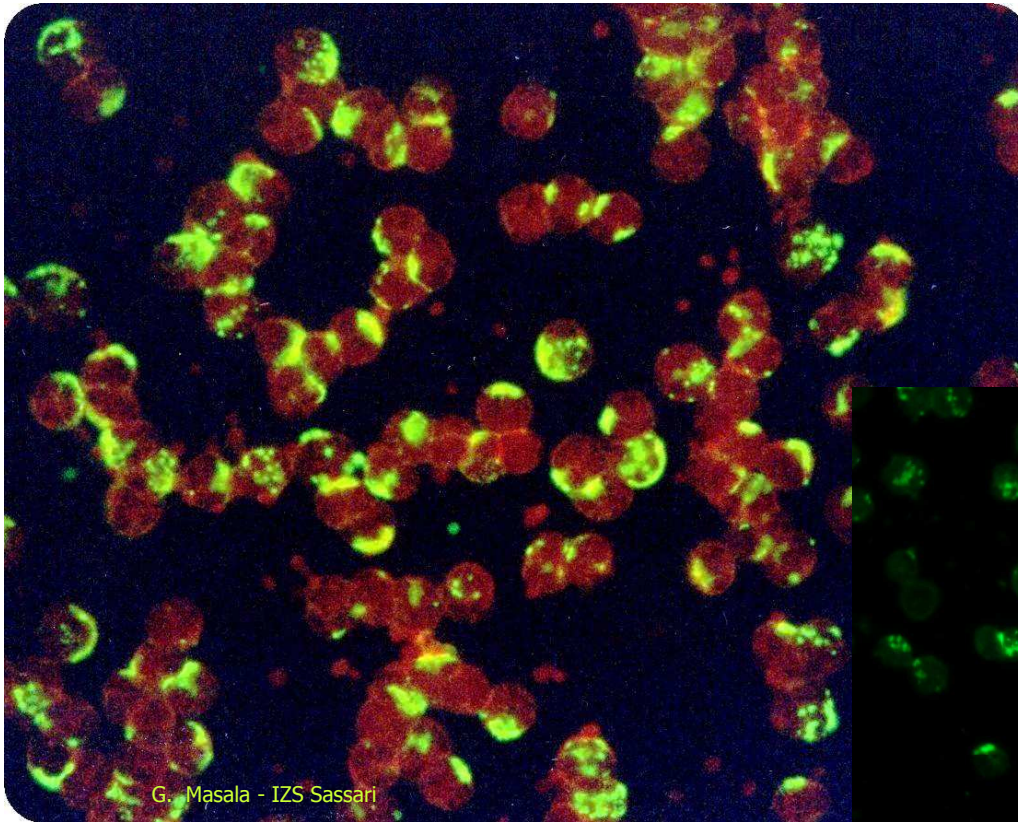




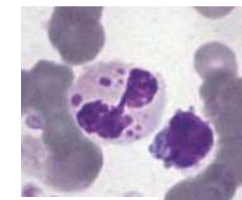
Emoparassiti

tecniche sierologiche

# *Anaplasma Phagocytophilum*







## Diagnosi *Anaplasma phagocytophilum* nell'uomo

**Table 2**  
**Modified case definitions for HGA**

Case Definition	Laboratory Test Result
Supportive HGA	Morulae present in peripheral blood-smear neutrophils, <sup>a</sup> or Single serum <i>A phagocytophilum</i> IgG titer by IFA <sup>b</sup> $\geq 640$
Confirmed HGA	<i>A phagocytophilum</i> IFA IgG seroconversion, <sup>c</sup> or Positive <i>A phagocytophilum</i> PCR <sup>d</sup> of blood, or Isolation of <i>A phagocytophilum</i> from blood, <sup>e</sup> or <i>A phagocytophilum</i> antigen present in tissue sample by immunohistochemistry

Definitions depend on a presentation with manifestations clinically consistent with HGA.

**Abbreviation:** IFA, immunofluorescent antibody test.

<sup>a</sup> Light microscopy of Wright-stained peripheral acute phase blood.

<sup>b</sup> Indirect immunofluorescent antibody test with *A phagocytophilum* antigen.

<sup>c</sup> At least 4-fold change in serum antibody titer.

<sup>d</sup> PCR with specific *A phagocytophilum* primers.

<sup>e</sup> Isolation of *A phagocytophilum* from blood incubated in HL-60 human promyelocytic cell line.

From Ehrlichiosis and anaplasmosis 2008 case definition. Centers for Disease Control and Prevention, 2008. 2014. Available at: <http://wwwn.cdc.gov/nndss/script/casedef.aspx?CondYrID=667&DatePub=1/1/2008>. Accessed September 19, 2014.

Da: Bakken JS and Dumler JS. 2015. Human Granulocytic Anaplasmosis. Infect Dis Clin N Am 29:341–355

