



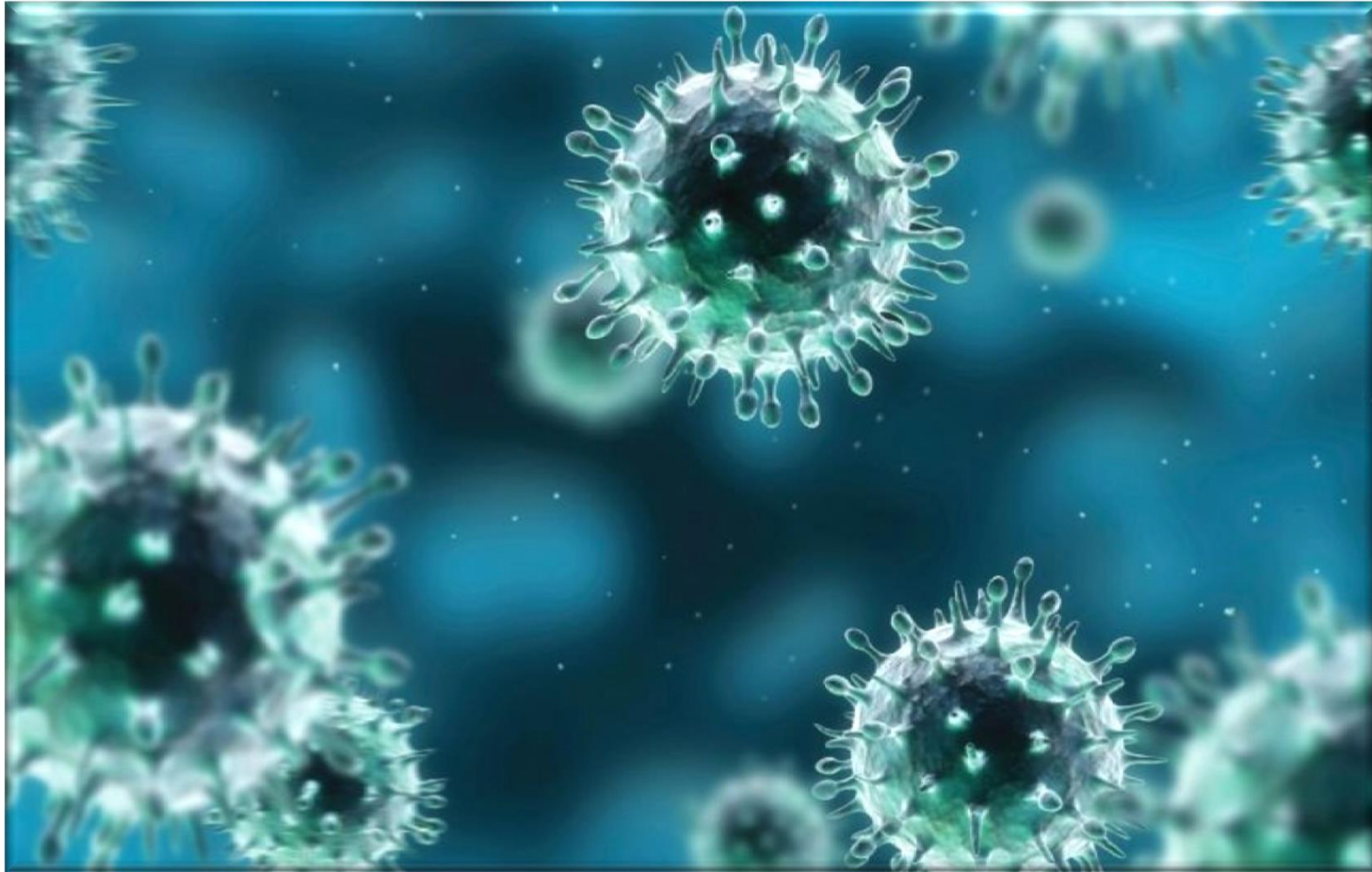
SIEROLOGIA INFETTIVA

EBV, CMV, TOXO, RUB e Bartonella

M.Rita Rossi

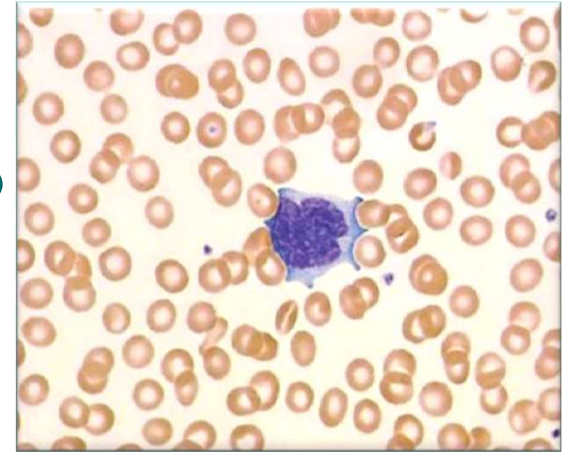
UO Semplice di Microbiologia e Sierologia
Laboratorio Unico Provinciale AOU S.Anna Ferrara

Mononucleosi infettiva



Epstein – Barr Virus

Mononucleosi infettiva?



Alterazioni ematologiche

- **Linfomonocitosi:**
 - aumento assoluto e relativo ($> 50\%$) delle cellule mononucleate periferiche con 10-20% di **linfociti atipici**.
 - Il n. GB = 10-20.000 per mm³ a partire dalla 2-3 sett; può arrivare a 50.000 facendo pensare ad una reazione leucemoide.
- Presenza di **anticorpi eterofili:**
 - reagiscono con gli antigeni di superficie delle emazie di montone e di cavallo, non con le cellule renali di cavia = test di Pul Bunnell-Davidsohn.
- **Risposte anticorpali non specifiche** (FR, crioglobuline....).

Diagnosi sierologica

- **Monotest:** identifica la presenza di anticorpi eterofili specifici;
 - test rapido; falsi positivi rari, falsi negativi nel 10-15% dei casi (positività del 40% alla 1 sett., 60% alla 2 sett, 80-90% alla 3 sett.)
- **Sierologia per EBV** (ELISA per IgG ed IgM)

Monotest per ricerca IgM

I valori di sensibilità (buoni per il giovane adulto) sono insufficienti nei bambini fino a 12 anni e cioè in quella fascia di età dove la diagnosi clinica è più difficile e l'apporto del test sarebbe più utile.

Linderholm e al. J Clin Microbiol 1994; inoltre dobbiamo considerare che l'utilizzo del test, in un ambulatorio pediatrico del primo livello di assistenza, sarebbe poco frequente per la bassa prevalenza della malattia.





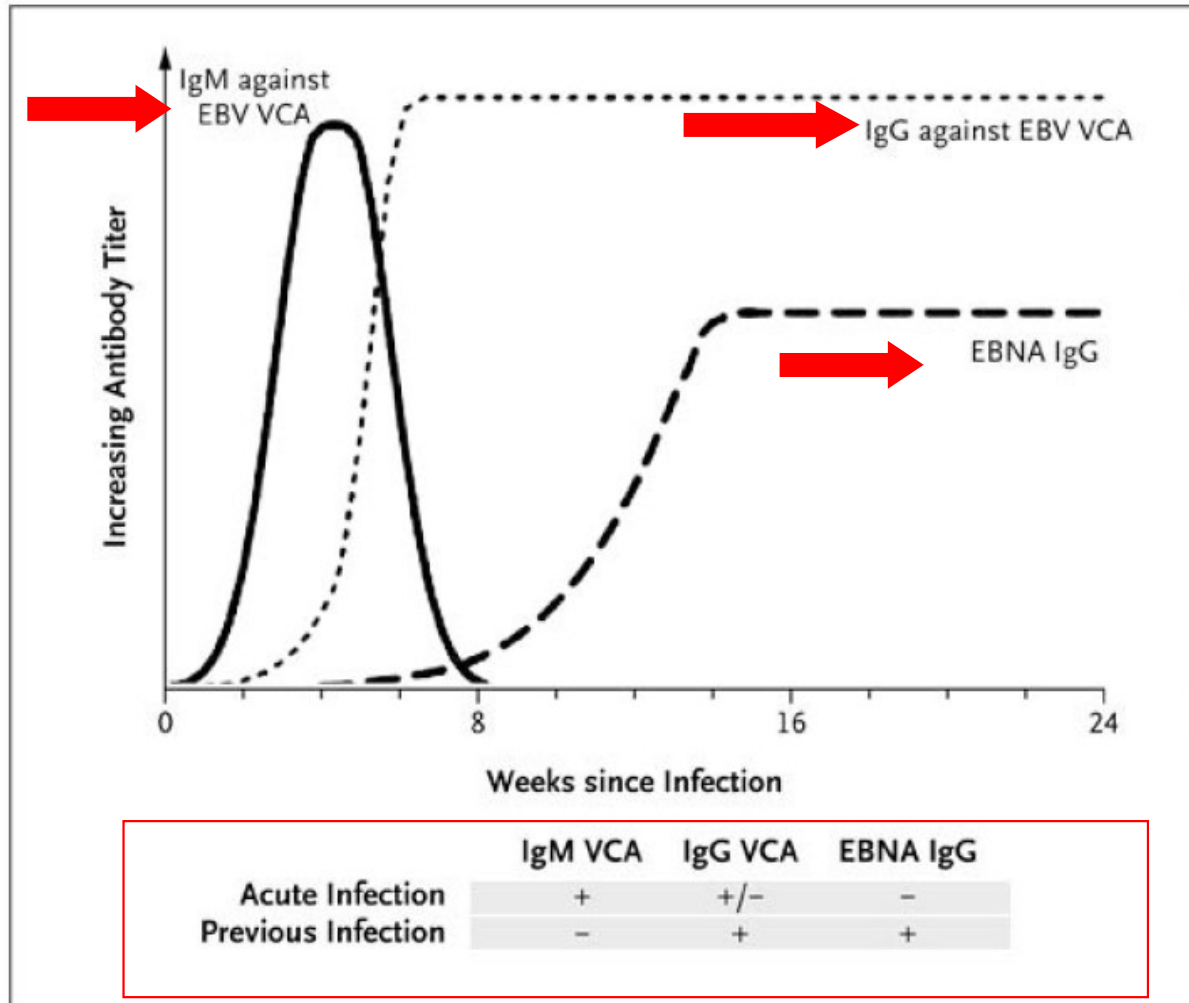
Mononucleosi infettiva

Diagnosi indiretta (sierologia)

Ricerca anticorpi diretti verso:

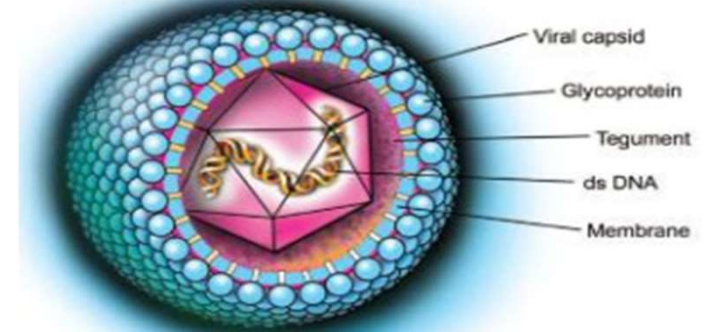
- **VCA** (*Viral Capsid Antigens*)
 - gp110 e gp 350 del pericapside e del nucleocapside
 - **IgM** compaiono precocemente e scompaiono dopo 4-6 settimane
 - **IgG** compaiono nella fase acuta con un picco dopo 2-4 settimane e declinano lentamente persistendo tutta la vita
- **EA** (*Early Antigens*) antigeni precoci
 - Precocissimi BZLF1
 - Precoci BALF2, BHRF1, BMRF1 e BSMLF1
 - IgG prodotte durante le fasi iniziali dell'infezione sia in fase acuta che cronica
- **EBNA** (*Epstein Barr nuclear Antigens*)
 - **IgG** compaiono diverse settimane o mesi dopo l'infezione e persistono

Infezione da EBV cinetica anticorpale



- Anticorpi IgM contro l'antigene viro-capisdico (VCA-IgM): sono presenti nell'infezione primaria e scompaiono in 1-2 mesi.
- Anticorpi IgG contro l'antigene viro-capisdico (VCA-IgG): compaiono immediatamente dopo le VCA-IgM e la comparsa dei sintomi, persistono a titoli bassi per tutta la vita.
- Anticorpi contro l'antigene nucleare (EBNA): compaiono dopo 3-4 settimane dall'insorgenza della MI e perdurano per tutta la vita.

Sindrome simil-mononucleosica da CMV



HCMV Human Cytomegalovirus

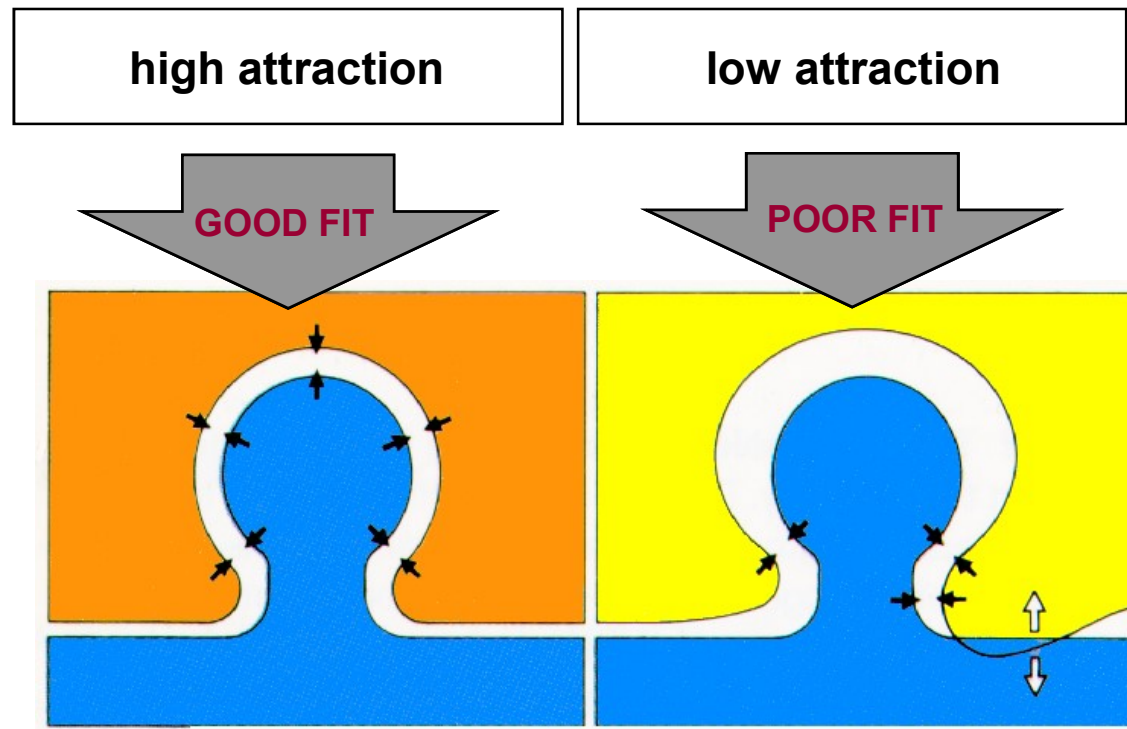
- 5-10% di tutti i casi di sindrome similmononucleosica è legata ad infezione da CMV
- Differenze cliniche con la MI da EBV
 - Interessa persone più anziane (età compresa tra 25-35 anni)
 - Bassa incidenza di faringite e linfadenopatia
 - Splenomegalia meno evidente

○ Diagnosi

- Monotest negativo
- Positività anticorpi IgM anti CMV
- Bassa avidità per anticorpi IgG anti CMV (nei casi con positività IgG/IgM anti CMV)

Avidità delle IgG

Il termine avidità anticorpale indica la forza con cui un anticorpo multivalente si lega ad un antigene multivalente



Adattamento tra determinanti antigenici e sito di legame degli Ab

RISPOSTA PRIMARIA

RISPOSTA SECONDARIA

AVIDITA' ANTICORPALE

BASSA

⇒ ⇒ ⇒ ⇒ ⇒

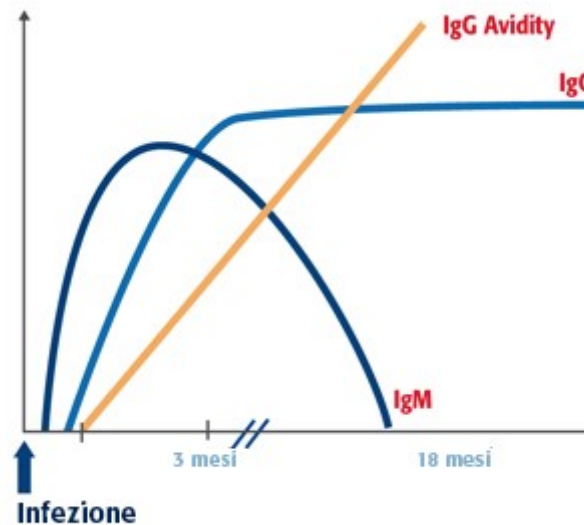
MEDIA

⇒ ⇒ ⇒ ⇒ ⇒

ALTA

Maturazione della risposta immune

Il grado di avidità degli anticorpi aumenta progressivamente e lentamente nel tempo ed è sinonimo di maturazione della risposta immune.



Segnale ottenuto con reattivo dissociante

x 100 = % INDICE DI AVIDITA'

Segnale ottenuto senza reattivo dissociante

La presenza nel siero di IgG ad alta avidità indica **assenza** di infezione in atto, infezione pregressa

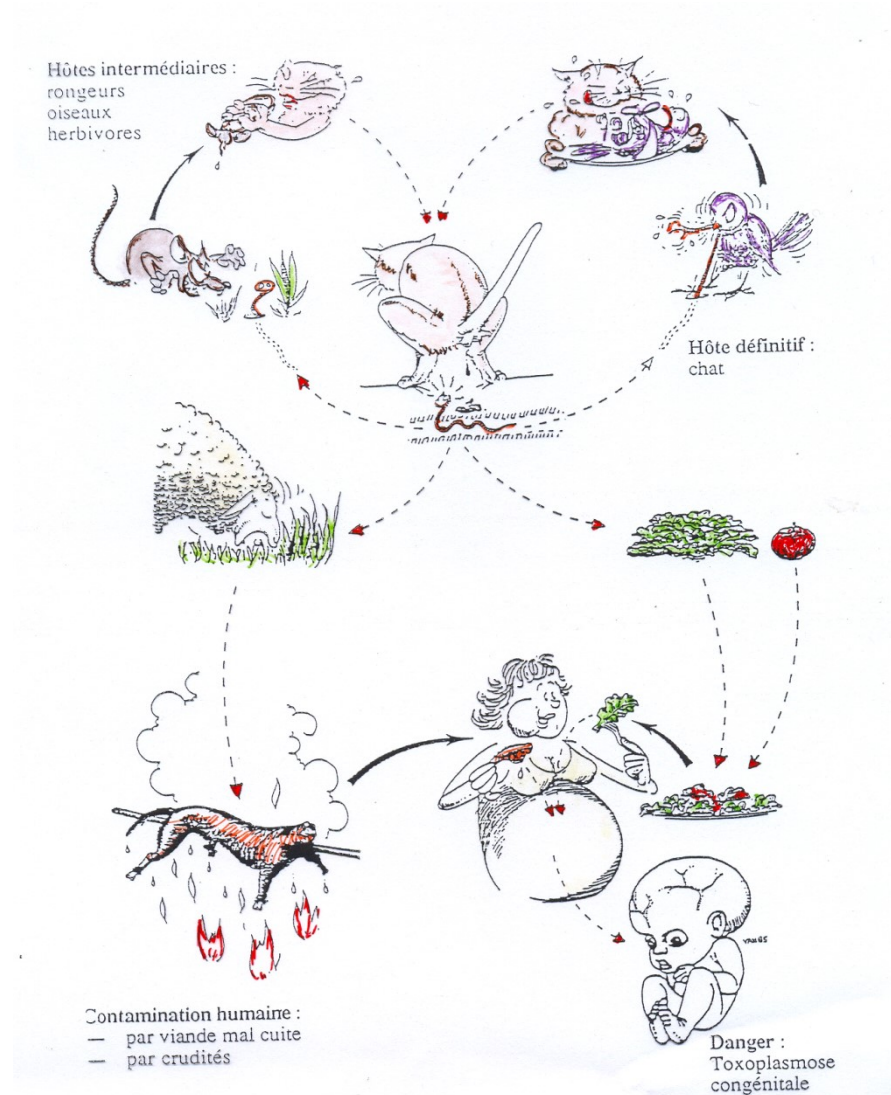
Bassi indici di avidità delle IgG sono da ascrivere ad infezioni in atto/recenti

La soglia di avidità varia a seconda del kit

La conferma di laboratorio dell'infezione da Toxoplasma

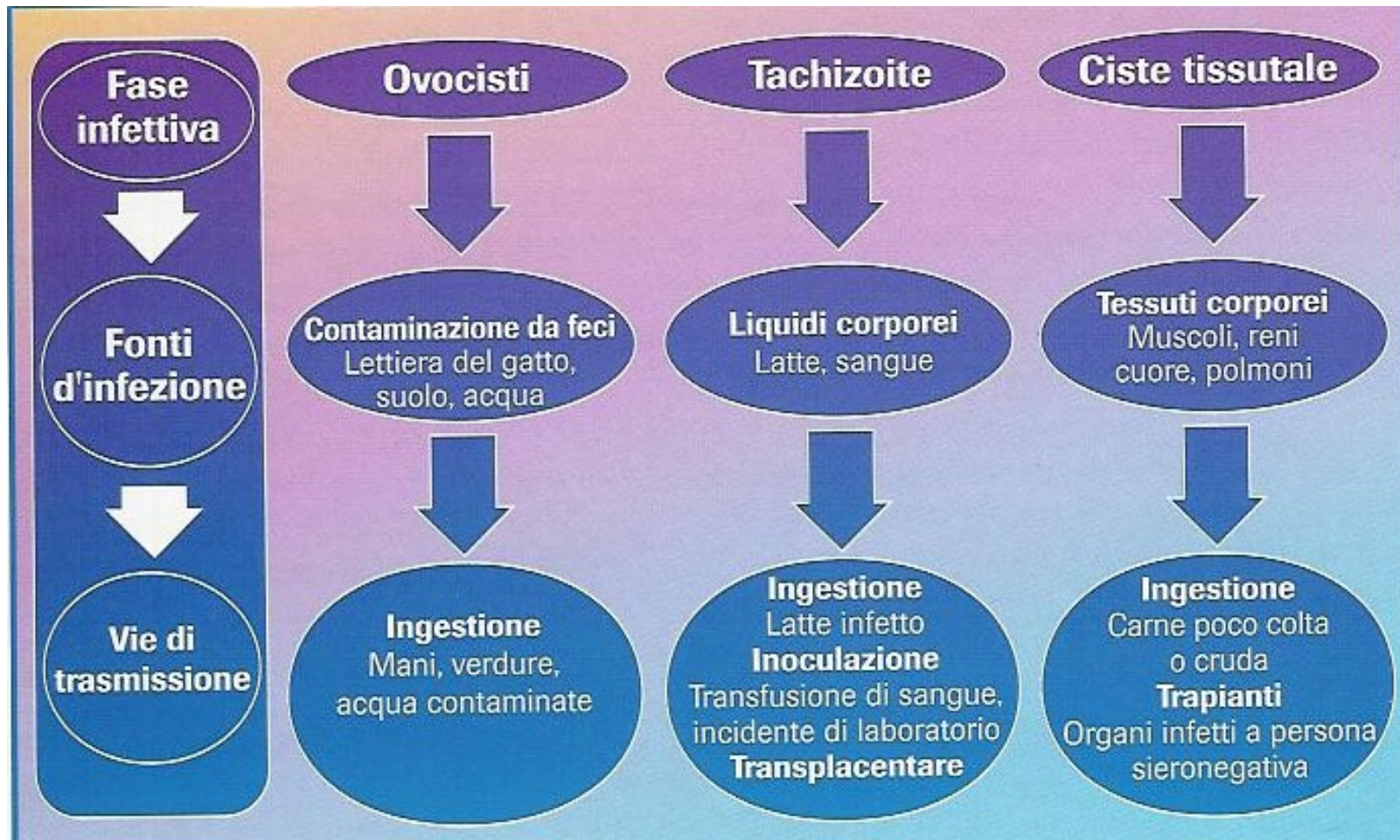


Toxoplasma: fonti di infezione

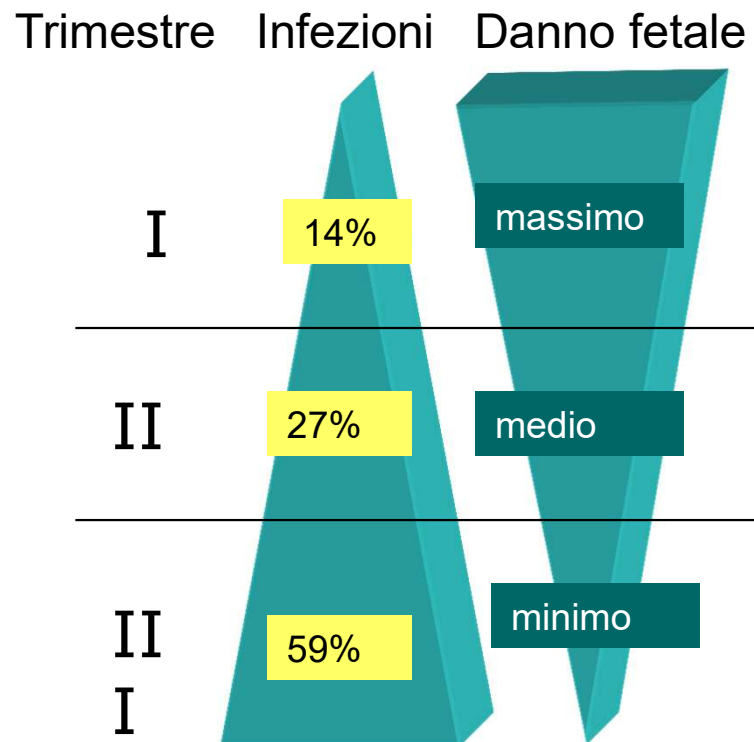


- Il gatto elimina oocisti (migliaia) per 1-2 settimane
- Le oocisti sporulano nell'ambiente (divengono infettanti) in 1-5 giorni
- Le oocisti sopravvivono nell'ambiente per diversi mesi
- Le oocisti resistono ai disinfettanti, congelamento e disseccamento
- Muoiono a 70°C per 100 minuti
- L'uomo può infettarsi per ingestione di oocisti, di bradizoiti (carne)
- Per trapianto d'organo o trasfusione di sangue (inoculazione accidentale di tachizoiti)
- Il parassita nei tessuti sopravvive per tutta la vita dell'ospite

Infezione da Toxoplasma



Toxoplasmosi congenita



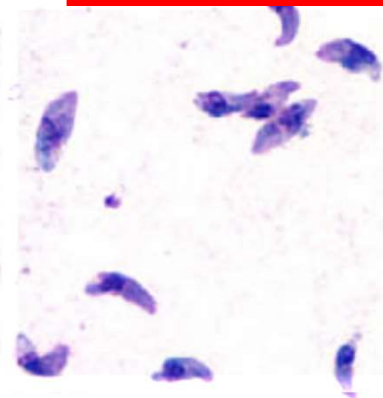
Il rischio clinico **diminuisce** con l'avanzare della gravidanza

Il rischio di trasmissione **aumenta** con l'avanzare della gravidanza

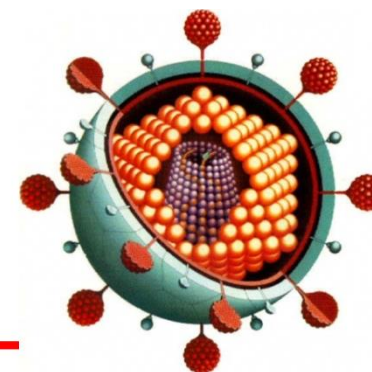
Toxoplasma gondii



- Sierologia per IgG ed IgM anti toxoplasma (ELISA)
- Test di avidità per IgG anti toxoplasma (ELISA)
- Esame *fundus oculi* (possibile corioretinite)
- Biopsia linfonodale (quadri atipici o LNA persistente).

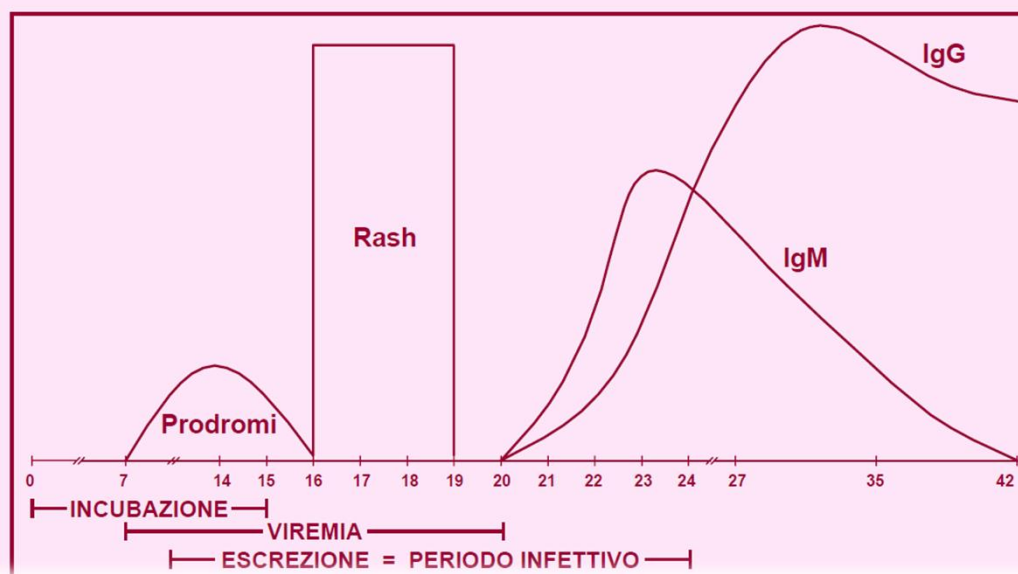


Rosolia: diagnosi



- Sierologia per IgG ed IgM anti Rosolia
- Test di avidità per IgG anti Rosolia (se IgG e IgM positive)

La risposta anticorpale all'infezione post-natale da rosolia



Malattia da graffio di gatto (CSD)



- Causata da un batterio Gram negativo, *Bartonella henselae*.
- Trasmessa all'uomo dal morso o dal graffio di gatto (in genere giovani animali) nel 95% dei casi e del cane nel 4%.
- Nell'1% dei casi non sembra esserci stato contatto con alcun animale.
- Sono interessati più frequentemente i bambini e gli adolescenti.
- L'animale viene infettato dalle pulci, ma anche se infetto è asintomatico.

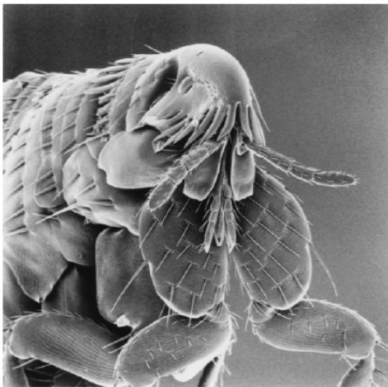


FIGURE 4. Scanning electron micrograph of a cat flea, *Ctenocephalides felis*. *C. felis* has been shown to transmit *Bartonella*



Malattia da graffio di gatto

- **Papula** dopo 3-5 giorni dal graffio (50%)
- **Linfoadenopatia regionale**
 - comparsa dopo 1-2 settimane dal graffio,
 - localizzazione in ordine di frequenza:
 - ascellare (30%),
 - laterocervicale (30%),
 - sottomandibolare (20%),
 - inguinale (15%),
 - sottoclaveare (5%)
 - caratteristiche dei linfonodi: > 1-1,5 cm, dolenti, conglomerati, fissi , con cute sovrastante arrossata (talvolta),
 - regressione spontanea in 3-6 mesi; nel 10-20% suppurazione, con necessità di aspirazione per il dolore e impedire la fistolizzazione.
- febbre in 1/3 dei casi di;
- altre manifestazioni sistemiche (malessere, cefalea, faringodinia, splenomegalia) nel 15% dei casi.



Malattia da graffio di gatto: diagnosi

- Leucocitosi neutrofila
- EBV, CMV, adenovirus sierologia negativa
- **Sierologia per *Bartonella henselae* positiva**
- Nel caso di dubbio diagnostico:
 - Citoaspirato o biopsia linfonodale: esame cito-istologico, es colturale per micobatteri. PCR per *B.henselae*



IFA anticorpi anti-Bartonella

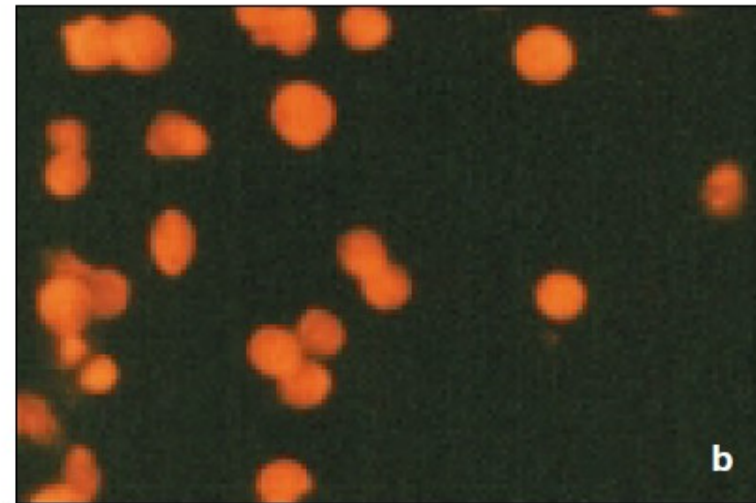
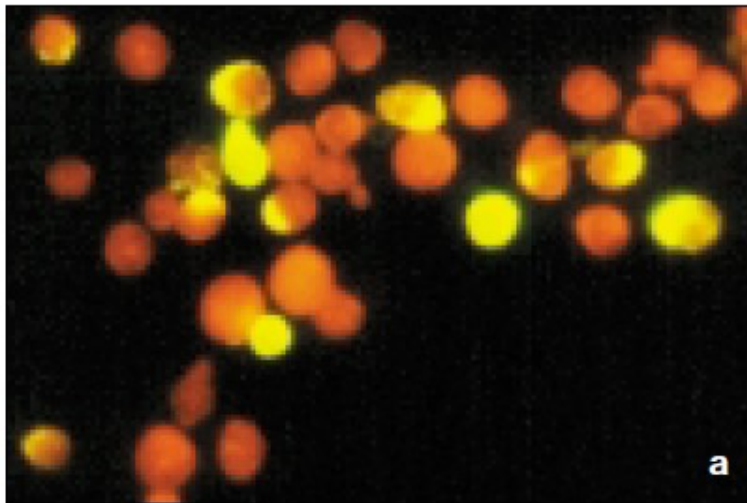


Figure 1a e 1b. *Tipica fluorescenza giallo-verde in corrispondenza dei siti di reazione all'interno delle cellule (a), confrontata con un controllo sano (b).*

La diagnosi sierologica con immunofluorescenza indiretta (IFA) consente, per positività >1:64 per IgG e IgM, di porre una diagnosi di quasi certezza di infezione da Bartonella henselae.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

