



ATTIVI PER
LA QUALITÀ DELLA VITA!

Studio TIMO

**Sieroprevalenza di varie malattie trasmissibili
attraverso zecche, zanzare e roditori nel
Tirolo settentrionale, orientale e Alto Adige**

Questo studio è stato finanziato dall'



Osservatorio Epidemiologico della Provincia Autonoma di Bolzano, Italia
Ufficio igiene e salute pubblica

Dipartimento di Igiene, Microbiologia e Medicina Sociale dell'Università di Medicina di Innsbruck, Austria



Indice

Premessa	7
Sintesi	8
Ringraziamenti	13
Introduzione	14
Obiettivi dello studio	16
Obiettivi primari	16
Obiettivi secondari	16
Disegno dell'indagine	17
Suddivisione geografica dell'area in studio	18
Descrizione della popolazione studiata	20
Luogo di residenza dei partecipanti allo studio	20
Distribuzione per età e sesso dei partecipanti allo studio	22
Attività lavorative dei partecipanti allo studio	22
Attività di tempo libero dei partecipanti allo studio	23
Comportamento riguardo ai viaggi dei partecipanti allo studio	24
Esposizione alle zecche	26
Punture da zecca	27
Distribuzione geografica delle punture da zecca anamnestiche	28
Distribuzione temporale delle punture da zecca anamnestiche	30
Sintomi ricordati dopo una puntura da zecca	32
Rimozione della zecca	34
Raccomandazioni	35
Borrelia burgdorferi sensu lato	36
Definizione	37
L'agente patogeno	37
La presenza	38
Serbatoio	38
Trasmissione	39
Gruppi a rischio	39
Periodo di incubazione	39
Quadro clinico	40
Dimostrazione di una Borreliosi florida	42
Terapia	43

Risultati di laboratorio	44
Distribuzione geografica delle persone sieropositive per area	44
Distribuzione per età e sesso	47
Relazione temporale tra la sieropositività contro borrelia e le punture da zecca anamnestiche	48
Fattori di rischio per la sieropositività per anticorpi IgG contro borreliosi	49
Informazioni cliniche	50
Discussione	51
Confronto con le regioni confinanti	51
Il valore rilevato corrisponde alla realtà?	52
Ci sono indicazioni relative all'aumento della malattia oppure a differenze regionali al interno dell'area studiata?	53
Raccomandazioni	55
Babesie	56
Definizione	57
L'agente patogeno	57
La presenza	58
Serbatoio	58
Trasmissione	58
Gruppi a rischio	58
Periodo di incubazione	59
Quadro clinico	59
Conferma delle babesie	60
Terapia	60
Risultati di laboratorio	60
Distribuzione geografica delle persone sieropositive per area	61
Distribuzione per età e sesso	64
Fattori di rischio per babesiosi	65
Informazioni cliniche	65
Discussione	65
Confronto con le regioni confinanti	66
Il valore rilevato corrisponde alla realtà?	66
Ci sono indicazioni relative ad un aumento della malattia oppure riguardo a differenze regionali all'interno dell'area studiata?	67
Il quadro clinico deve essere preso in considerazione dai medici?	68
C'è un rischio per la donazione di sangue?	69
Raccomandazioni	69
Anaplasma phagocytophilum	70
Definizione	71
L'agente patogeno	71

La presenza	71
Serbatoio	72
Trasmissione	72
Gruppi a rischio	72
Periodo di incubazione	72
Quadro clinico	73
Dimostrazione dell'HGE	73
Terapia	74
Risultati di laboratorio	74
Distribuzione geografica delle persone sieropositive per area	75
Distribuzione per età e sesso	78
Fattori di rischio per un'HGE	79
Informazioni cliniche	79
Discussione	80
Confronto con le regioni confinanti	80
Il valore rilevato corrisponde alla realtà?	81
Ci sono indicazioni relative ad un aumento della malattia oppure differenze regionali all'interno dell'area studiata?	82
I medici devono aspettarsi il quadro clinico?	82
Raccomandazioni	83
TBE (encefalite da zecche dell'Europa centrale)	84
Definizione	85
L'agente patogeno	85
La presenza	85
Serbatoio	85
Trasmissione	86
Gruppi a rischio	86
Periodo di incubazione	86
Il quadro clinico	86
Dimostrazione della TBE	87
Terapia	87
Profilassi (vaccinazione)	87
Tirolo settentrionale ed orientale	88
La copertura vaccinale per la TBE nel Tirolo settentrionale ed orientale	89
Numero dosi di vaccino somministrate	90
Informazioni cliniche	90
Alto Adige	91
Copertura vaccinale per la TBE in Alto Adige	91
Risultati di laboratorio	92
Informazioni cliniche	93

Discussione	93
Raccomandazioni	94
Febbre del Nilo occidentale (West Nile Virus - WNV)	95
Definizione	96
L'agente patogeno	96
La presenza	96
Serbatoio	96
Trasmissione	96
Gruppi a rischio	97
Periodo di incubazione	97
Quadro clinico	97
Conferma del WNV	97
Terapia	98
Referti di laboratorio	98
Hantavirus	100
Definizione	101
L'agente patogeno	101
La presenza	101
Serbatoio	102
Trasmissione	102
Gruppi a rischio	102
Periodo di incubazione	102
Quadro clinico	103
Conferma dei Hantavirus	103
Terapia	104
Referto di laboratorio	104
Distribuzione geografica	104
Distribuzione per età e sesso	105
Fattori di rischio	105
Allegati	107
Allegato 1 tabelle	108
Allegato 2 Disegno dello studio, materiale e metodi	123
Allegato 3 Questionario, dichiarazione di consenso e lettera informativa	134
Allegato 4 Bibliografia	138

Premessa

Siamo lieti di presentare i risultati dell'indagine TIMO, svoltasi nell'anno 2004 nel Tirolo settentrionale ed orientale ed in Alto Adige. Obiettivo dell'indagine era valutare il contatto della popolazione con agenti patogeni trasmessi attraverso zecche, zanzare oppure escrementi di roditori, per formulare in base ai risultati raccomandazioni mirate alla prevenzione di queste malattie.

Le raccomandazioni sono rivolte agli operatori sanitari ed ai medici e riguardano sia l'aggiornamento professionale sulla frequenza e sul quadro clinico degli agenti patogeni sia la pianificazione di strategie come l'eventuale introduzione della vaccinazione contro la TBE in Alto Adige oppure lo screening delle conserve di sangue nei confronti di determinati agenti patogeni. I risultati servono anche a pianificare dettagliatamente ulteriori studi ed a dare raccomandazioni alla popolazione su misure di prevenzione individuali per diminuire il rischio di un'infezione.

Questo studio serve anche ad intensificare il rapporto di collaborazione tra le due aree di studio e utilizzare le esperienze raccolte durante la ricerca per futuri progetti simili in questo ambito, ma anche in altri di rilevanza per la sanità pubblica.

Per realizzare questo studio e per garantire un'alta qualità dell'esecuzione è stato necessario il coinvolgimento di vari servizi ed è a questi che desideriamo esprimere un sincero ringraziamento: ai servizi trasfusionali, agli autori e collaboratori e naturalmente ai partecipanti

dell'indagine che si sono prestati per l'intervista e la donazione di un campione di sangue.

Auspichiamo che a questo studio facciano seguito altre indagini e che vengano intraprese attività di sanità pubblica transfrontaliere, visto che gli agenti patogeni non si fermano ai confini e vista la necessità di combattere le malattie correlate, utilizzando in tutta l'Europa la stessa metodologie analoghe.



L'Assessore alla sanità
del Tirolo settentrionale
ed orientale

**Dott.ssa
Elisabeth Zanon**



L'Assessore alla sanità
dell'Alto Adige

Dr. Richard Theiner

Sintesi

Nel 2004 è stato eseguito un progetto transfrontaliero tra il Tirolo settentrionale ed orientale e l'Alto Adige per rilevare la sieroprevalenza di malattie trasmesse attraverso zecche, zanzare e roditori in donatori di sangue sani (*Virus TBE*, *Borrelia spp.*, *Babesia spp.*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Virus-West-Nile* e *Hantavirus*). Obiettivo dell'indagine era valutare il contatto della popolazione sana con i sopracitati agenti patogeni, considerato che il percorso di un'infezione spesso decorre in modo asintomatico e attualmente in entrambe le aree oggetto dello studio non esiste un sistema di sorveglianza affidabile. Inoltre persiste il probabile pericolo di una trasmissione tramite conserve di sangue, dato che non è previsto un test di screening di routine delle conserve di sangue per i sopracitati agenti patogeni.

Lo studio dovrebbe inoltre servire a dare raccomandazioni per un'eventuale introduzione della vaccinazione contro la TBE in Alto Adige e a valutare la necessità di aggiornare gli operatori sanitari su determinate malattie in modo che i relativi quadri clinici vengano considerati nella diagnosi differenziale. Inoltre sono da identificare gli interventi necessari per riuscire a controllare efficacemente la malattia.

Per questo motivo sono stati selezionati 1607 partecipanti, di cui 988 del Tirolo settentrionale ed orientale (Austria) e 619 dell'Alto Adige (Italia). A questi è stato somministrato un questionario sulle attività lavorative, le attività di tempo libero ed altri possibili fattori di rischio e si è effettuato un prelievo di ca. 10 ml di sangue che è stato esaminato per verificare la presenza di anticorpi della classe IgG contro i sopracitati

agenti patogeni. I campioni di alcuni agenti patogeni risultati positivi oppure al limite della positività al test di screening sono stati sottoposti ad un test di conferma per verificare la presenza di anticorpi neutralizzanti al fine di ottenere risultati il più possibile attendibili.

L'area oggetto dello studio è stata suddivisa secondo i bacini idrografici dei fiumi Donau, Lech, Inn, Drau ed Adige. Questa suddivisione corrisponde in gran parte al confine di Stato, soltanto tre comuni della Val Pusteria appartenenti all'Alto Adige sono stati attribuiti al bacino idrografico del Drau. La popolazione oggetto dello studio rispecchia l'intera popolazione per quanto riguarda la distribuzione per sesso, il livello di altitudine dei comuni del luogo di residenza e l'attività lavorativa ed è quindi da considerarsi rappresentativa. Tuttavia vista la decisione di far aderire soltanto donatori di sangue sani, non sono da escludere eventuali distorsioni dei dati rilevati nel confronto con l'intera popolazione.

Le zecche sembrano più diffuse nell'area in studio austriaca, mentre secondo le affermazioni dei partecipanti altoatesini è la zona dell'Olttradige quella maggiormente popolata dalle zecche. Gran parte della popolazione (>90%) ha riferito di praticare attività di tempo libero all'aperto come passeggiate, gite in bicicletta e simili associate al possibile rischio di puntura da zecca.

La **borreliosi** è ritenuta la malattia trasmessa da zecche più frequente. La percentuale di donatori del Tirolo settentrionale sieropositivi

(7%) è inferiore a quella dell'Austria orientale ed è confrontabile con quello di alcune aree della Germania meridionale. La sieroprevalenza rilevata in Alto Adige (2%) rappresenta il valore più basso tra quelli pubblicati per altre province dell'Italia settentrionale. Nel bacino idrografico del Donau si trova del un numero notevolmente maggiore di soggetti positivi (7,1%) che nel bacino idrografico dell'Adige (1,7%). In Alto Adige il rischio di un contatto con un agente patogeno è inferiore rispetto al Tirolo settentrionale ed orientale, tuttavia è da escludere la presenza di pazienti sintomatici. Come fattore di rischio è stata identificata unicamente un'esposizione antecedente a zecche (OR 2,9; 95% intervallo di confidenza: 1,76-4,76).

Confronti con studi già effettuati non indicano una diffusione progressiva dell'agente patogeno nel bacino idrografico del Donau.

Le misure di prevenzione più importanti per evitare una borreliosi sono proteggersi indossando di magliette e pantaloni a maniche lunghe durante il tempo libero e l'attività lavorativa, il controllo del corpo per la presenza di zecche dopo una permanenza all'aperto e la rapida rimozione di eventuali parassiti con apposite pinzette evitando la manipolazione della zecca (con crema, olio, colla oppure sostanze simili).

La **babesiosi** (*Babesia divergens*) sembra decorrere in modo asintomatico nelle persone sane, mentre pazienti immunodepressi (p.es. dopo una splenectomia) possono contrarre una babesiosi grave. Il valore percentuale di soggetti sieropositivi è simile ai valori rilevati in Germania ed in Svizzera, l'Austria e l'Italia non han-

no fino ad oggi pubblicato dati di sieroprevalenza. Non è stata notata una differenza significativa tra il bacino idrografico del Donau (2,1%) e quello dell'Adige (2,7%). In tutte e due le aree esiste un rischio simile di contatto con l'agente patogeno. Non è possibile valutare se e quanto spesso questo contatto produca una malattia manifesta in persone con un'immunità intatta; sarà necessario eseguire ulteriori studi. I dati rilevati sembrano indicare che le babesie sono presenti nel Tirolo settentrionale ed orientale ed in Alto Adige da più tempo, la sieroprevalenza più alta è stata osservata in Val Pusteria, in cui l'allevamento bovino è molto diffuso. La presenza di ospiti serbatoio, in particolare i bovini, potrebbe avere un importante ruolo, ma né l'allevamento né la vicinanza a bovini delle persone testate sono stati esaminati in questo studio. Le attività agricole potrebbero aver contribuito alla diffusione uniforme dell'agente patogeno in tutta l'area oggetto dello studio. Dall'indagine risulta che l'anamnesi di un'esposizione a zecche non è associata ad un rischio più elevato di anticorpi contro le babesie.

Uno studio sulle sieroprevalenze in bovini potrebbe avvalorare l'ipotesi sul ruolo dei bovini infetti nel favorire zone iperendemiche locali. Conserve di sangue dovrebbero essere controllate per babesie almeno durante la stagione delle zecche. Non possono essere date ulteriori misure di protezione tranne le sopraccitate raccomandazioni per evitare le punture da zecca.

L'**ehrlichiosi monocitica umana** causata da *Anaplasma phagocytophilum* è una malattia descritta da poco, che normalmente ha un

decorso lieve. La percentuale di soggetti sieropositivi nell'area oggetto dello studio è tra i valori più alti rilevati tra la Germania meridionale e l'Austria, la prevalenza rilevata nel nord d'Italia è inferiore ai valori rilevati in Alto Adige. Non è stata osservata una differenza significativa tra il bacino idrografico del Donau (5,0%) e quello dell'Adige (5,5%). Come nel Tirolo settentrionale, meridionale ed occidentale è quindi necessario ipotizzare infezioni sintomatiche con *A. phagocytophilum*; in caso di infezioni febbrili dopo una puntura da zecca sarà necessario tenere presente l'ehrlichiosi monocitica umana che dovrà essere diagnosticata oppure esclusa attraverso test adatti.

Confrontando i risultati con studi antecedenti non è possibile alcuna ipotesi su un recente aumento del rischio di esposizione nel Tirolo settentrionale ed orientale. Come per la babesiosi, l'agente patogeno dell'HGE potrebbe essere già stato diffuso da tempo nell'area studiata, probabilmente favorito dalle attività umane.

L'encefalite da zecche dell'Europa centrale (TBE) è una malattia virale per la quale non esiste una terapia specifica per il trattamento, bensì una vaccinazione efficace. La presenza della TBE nel Tirolo settentrionale è nota dal 1982 e nel Tirolo dell'est dagli anni '90. In Austria la vaccinazione viene offerta dagli anni '80, in Italia invece questo vaccino non è registrato, tuttavia può però essere ordinato su richiesta dai servizi di igiene e sanità pubblica delle aziende sanitarie. Fino ad oggi sono noti due casi di TBE in Alto Adige (nel 2000 e nel

2004), con una possibile acquisizione in Alto Adige. Soltanto un partecipante non vaccinato è risultato sieropositivo, ma non è chiaro dove possa aver contratto l'infezione. I dati dell'indagine non confermano su un'eventuale presenza della TBE in Alto Adige ed il rischio di esposizione è stato classificato come poco rilevante. Non è da escludere una recente diffusione dell'agente patogeno in Alto Adige oppure la presenza di singoli piccoli focolai naturali e tale ipotesi richiede ulteriori esami. Al momento non vi è la necessità di organizzare vaste campagne di immunizzazione nel bacino idrografico dell'Adige. È tuttavia auspicabile introdurre il vaccino contro la TBE in Alto Adige, dato che in caso di viaggi nelle aree endemiche (Austria, Germania) sarebbe possibile offrire la vaccinazione.

Nel Tirolo settentrionale ed orientale la copertura vaccinale contro la TBE variava tra il 72% ed il 90% senza differenze significative per quanto riguarda la distribuzione per età e sesso, in Alto Adige era attorno al 2%.

L'agente patogeno della **febbre del Nilo occidentale (West Nile Virus - WNV)** ha messo in allarme tutto il mondo a causa della sua diffusione fino in Nordamerica. Motivo di preoccupazione è stata anche l'infezione di alcune persone attraverso conserve di sangue contaminate. In Europa sono stati eseguiti pochi studi sieroepidemiologici sulla diffusione delle infezioni da WNV per aree di confine e non esistono dati. Dalle analisi del presente studio non risultano anticorpi contro il WNV nei donatori altoatesini. Il 46,3% dei donatori del Tirolo settentrionale ed orientale è risultato positivo utilizzando i

kit di test commerciali, ma soltanto il 4% aveva anticorpi neutralizzanti. Essendo tutti i donatori vaccinati contro la TBE, è probabile che gli anticorpi neutralizzanti siano riconducibili ad una reazione crociata con gli anticorpi contro il virus TBE. L'indagine non ha confermato la presenza di infezioni da WNV nell'intera area in studio. Inoltre ha dimostrato che i test commerciali attualmente disponibili non permettono di distinguere tra gli anticorpi contro il WNV e quelli contro il virus della TBE. Quindi per dimostrare un'infezione da WNV nelle aree con un'alta copertura vaccinale contro la TBE è necessario eseguire un test di neutralizzazione. Anche in questo caso la specificità del test è pari al 98%, così che il valore positivo predittivo risulta basso per via della prevalenza altrettanto bassa della malattia; bisogna pertanto aspettarsi risultati falsamente positivi.

Gli **Hantavirus** vengono trasmessi all'uomo attraverso l'acqua oppure gli alimenti contaminati dagli escrementi di roditori. Nel bacino idrografico del Donau sono stati dimostrati in alcuni donatori (0,7%) anticorpi contro i sierotipi Hantaan, Dobrava e Puumala, nel bacino idrografico dell'Adige non è stato rilevato alcun soggetto sieropositivo. In nessun soggetto sono stati trovati anticorpi contro il sierotipo Seoul. Nel Tirolo settentrionale ed orientale sono possibili alcuni singoli casi di nefrite da Hantavirus, la malattia è da segnalare nella diagnosi differenziale e se necessario va dimostrata mediante metodi adatti. I presenti dati non danno indicazioni circa la presenza di infezioni con Hantavirus in Alto Adige.

Ringraziamenti

Gli autori rivolgono un sincero ringraziamento alle seguenti persone per la collaborazione all'indagine; senza il loro impegno ed entusiasmo non saremmo stati in grado di eseguire questa indagine:

- AVIS: all'organizzazione per aver invitato i donatori a partecipare all'indagine in Alto Adige, aver messo a disposizione la lista di donatori iscritti da cui sono stati selezionati i partecipanti, aver informato i partecipanti dello studio, somministrato e raccolto il questionario e la dichiarazione di consenso, aver messo a disposizione la logistica per eseguirla, un grazie in particolare al signor Erich Hanni.
- ai servizi trasfusionali dell'Alto Adige, in particolare al Dr. Oswald Prinoth, al Dr. Ivo Gentilini (Ospedale di Bolzano), alla Dr.ssa Agnes Mayr (Ospedale di Brunico), al Prof. Dr. Manfred Mitterer e alla Dr. Andrea Lanthaler (Ospedale di Merano), al Dr. Gottfried Kühebacher (Ospedale San Candido), al Dr. Franz Ploner (Ospedale di Vipiteno), al Dr. Martin Ogriseg (Ospedale di Brssanone) e al Dr. Karl Egger (Ospedale di Silandro)
- al servizio centrale trasfusionale di Innsbruck, in particolare al Prof. Dr. Dietmar Schönitzer, al Dr. Josip Jelcic e alla Dr.ssa

Karmen Walder per la selezione dei donatori, l'elaborazione dei campioni, l'assistenza ai partecipanti e l'esecuzione dei test sierologici

- alla signora Sabine Weiss dell'Osservatorio Epidemiologico di Bolzano ed alla signora Heidi Foppa del Servizio di igiene e sanità pubblica dell'AS di Bolzano per il coordinamento delle interviste e l'inserimento dei dati
- al Dr. Antonio Fanolla dell'Osservatorio Epidemiologico di Bolzano per la selezione dei partecipanti all'indagine ed il controllo della rappresentatività del campione
- al Prof. Franz Heinz dell'Istituto di virologia dell'Università di Medicina di Vienna e al Prof. Georg Pauli dell'Istituto Robert Koch a Berlino per i test di conferma dei campioni, che nel test di screening hanno dimostrato anticorpi contro il virus TBE e/o WNV
- a tutti i partecipanti per la disponibilità a partecipare all'indagine
- questa indagine è stata finanziata dall'Interreg IIIa Italia Austria

Gli autori

**Peter Kreidl, Giulia Morosetti,
Gernot Walder**

Introduzione

L'encefalite da zecche dell'Europa centrale (TBE), la borreliosi, la babesiosi, l'ehrlichiosi monocitica umana (HGE), la febbre del Nilo occidentale (West Nile Virus Fever - WNVF) e le infezioni con i Hantavirus assumono un'importanza sempre maggiore: sia perché queste malattie conosciute relativamente da poco tempo e perché il loro significato per l'uomo è compreso sempre meglio. Inoltre assume rilevanza la loro diffusione geografica, favorita dal fatto che cambiamenti ambientali e comportamenti umani hanno influenzato la diffusione della malattia.

La zona centrale delle Alpi orientali è da questo punto di vista ancora poco esplorata. La presenza concomitante di attività agricole estensive e turistiche rappresenta come noto una situazione a rischio per quanto riguarda le zoonosi, specialmente se vengono diffuse da vettori artropodi. Nel Tirolo settentrionale ed orientale come anche nel Veneto e nel Trentino sono state eseguite ricerche sulla presenza di malattie trasmesse attraverso zecche; in Alto Adige la presenza di borreliosi, di TBE e di ehrlichiosi non è stata indagata a sufficienza. Negli anni 80 sono state svolte ricerche sugli animali selvatici e domestici di alcune zone altoatesine ed è stata riscontrata la presenza di anticorpi (AK) contro il virus della TBE; una recente ricerca sulle zecche indica una possibile presenza di borreliosi in Alto Adige. Negli anni 2001 e 2004 sono stati diagnosticati da parte dell'ospedale di Bolzano due casi di TBE; il contagio è probabilmente avvenuto in Alto Adige. Nell'estate 2002 è stato documentato il primo caso clinico di un'infezione da *Anaplasma phagocytophilum* nel Tirolo settentrionale; nell'estate 2003 sono stati diagnosticati almeno quattro casi, per tre dei quali è stato necessario il ricovero.

È poco chiaro se questo è attribuibile ad un'estensione geografica dell'agente patogeno oppure alla maggiore attenzione da parte dei medici. Finora non è stata eseguita un'analisi sistematica delle sopracitate malattie in Alto Adige e nel Tirolo settentrionale ed orientale; mentre per le borreliosi esiste una base di dati raccolti nel campione del 2000 nell'Inntal. Questi mostrano una successiva diminuzione della sieroprevalenza verso il nord dell'Inntal che potrebbe coincidere con una diffusione progressiva dell'agente patogeno lungo la valle del fiume. Un confronto tra i dati rilevati quattro anni fa e i dati attuali come anche dati di altre valli alpine, permetterebbe affermazioni più precise in merito.

Nel 2003 è stata osservata una diffusione della febbre del Nilo occidentale (*West Nile Virus* - WNV) ed un incremento dei casi clinici della malattia WNV sia sul continente americano sia nel sud della Francia ed in Toscana. L'Istituto Superiore di Sanità di Roma ha sottolineato l'importanza di notificare tutti i casi sospetti di infezione da WNV. Né in Alto Adige né nella regione federale del Tirolo esistono dati sulla sieroprevalenza di *Hantavirus* oppure WNV nella popolazio-

ne e non sono stati descritti casi clinici. Tuttavia un'eventuale presenza di WNV nelle Alpi orientali non è da escludere: il vettore artropode, la zanzara (*Culex sp.*), è diffuso nel nord e sud della catena alpina principale e nella regione, nel periodo estivo, sono presenti vari uccelli migratori provenienti dall'Africa e dal Mediterraneo. E' molto interessante la ricerca di Sixl, che nel

1989 ha dimostrato la presenza del Virus West Nile in roditori del Tirolo settentrionale. In considerazione del numero elevato di decorsi asintomatici nell'uomo ed il continuo mutamento della situazione epidemiologica, è molto importante accertare se la popolazione locale sia stata già esposta a tali agenti patogeni.

Le Indagini sieroepidemiologiche sono un metodo economico e poco invasivo per stabilire la presenza di agenti patogeni in una determinata zona. I risultati ottenuti hanno un impatto immediato sui servizi trasfusionali; quelli positivi confluiranno nella diagnosi differenziale dei medici che svolgono attività clinica. I risultati permettono tuttavia solo affermazioni limitate per quanto riguarda il significato clinico e socioeconomico dell'agente patogeno analizzato; all'indagine seguirà quindi necessariamente un monitoraggio epidemiologico degli agenti patogeni osservati. Per tale attività sarà tuttavia necessario avere a disposizione un gran numero di dati sulla sieroprevalenza, sui casi clinici osservati, sulla distribuzione dei vettori e sugli agenti patogeni dimostrati.

OBIETTIVI DELLO STUDIO:

Obiettivi primari:

- rilevare la prevalenza dei seguenti anticorpi specifici della classe IgG nella popolazione sana dell'Alto Adige: *TBE*, *WNV*, *Babesia spp.*, *Anaplasma phagocytophilum*, *West-Nile-Virus* e *Hantavirus*
- valutare se in Alto Adige è necessaria la vaccinazione contro la TBE
- verificare se lo screening delle conserve di sangue relativo a *Babesia spp.*, *Borrelia spp.* oppure *WNV* è consigliabile
- offrire ai medici informazioni di base sulla diffusione degli agenti patogeni per poterli considerare nella diagnosi differenziale, diagnosticare con metodi adeguati ed introdurre un trattamento adatto
- stabilire condizioni adatte per poter stimare per mezzo della prevalenze rilevate il valore positivo predittivo al fine di un eventuale screening

Obiettivi secondari:

- rilevare il valore percentuale di persone sieropositive che nonostante il contatto con una malattia trasmessa attraverso le zecche, si ricordano dei sintomi clinici associabili ad uno degli agenti patogeni
- rilevare la percentuale di persone sieropositive (risp. per virus TBE, *Borrelia spp.*, *Babesia spp.* e *Anaplasma spp.*) che hanno un ricordo anamnestico di una puntura da zecca
- identificare l'area e i fattori di rischio in ambito lavorativo e ricreativo
- confrontare la sieroprevalenza rilevata nei diversi bacini idrografici, utilizzando lo stesso metodo
- ottenere dati di base che in futuro verranno utilizzati per confronti e che permetteranno di fare affermazioni sui cambiamenti epidemiologici degli agenti patogeni

Disegno dell'indagine

La sieroprevalenza degli anticorpi contro il virus *TBE*, *Borrelia spp*, *Babesia spp.*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Hantavirus* e *WNV* è stata rilevata in una popolazione sana in ambito di un'indagine "cross sectional". È stata prevista la rilevazione di un questionario standardizzato per ogni partecipante (vedi allegato) contenente informazioni su eventuali fattori di rischio e fattori che potrebbero influenzare il risultato del test (p.es. vaccinazione). Il questionario è stato compilato dai partecipanti stessi; nel Tirolo settentrionale ed orientale una collaboratrice del progetto è stata messa a disposizione dei partecipanti per eventuali domande e chiarimenti. I dati sono stati inseriti in una banca dati elettronica e successivamente analizzati (epiinfo versione 3.3 2003, CDC Atlanta).

Nell'ambito della donazione di sangue sono stati prelevati ca. 10ml di sangue per donatore, questi sono stati in seguito centrifugati ed il siero è stato conservato centralmente a -80°C. I campioni del Tirolo settentrionale ed orientale sono stati divisi in porzioni subito dopo il prelievo e surgelati, mentre i campioni dell'Alto Adige sono stati trasportati tramite trasporto collettivo al Dipartimento di Igiene, Microbiologia e Medicina Sociale dell'Università di Medicina di Innsbruck ed esaminati (vedi sotto). A tutti i partecipanti è stata richiesta una dichiarazione di consenso. L'indagine è stata approvata dal comitato etico dell'Azienda sanitaria di Bolzano.



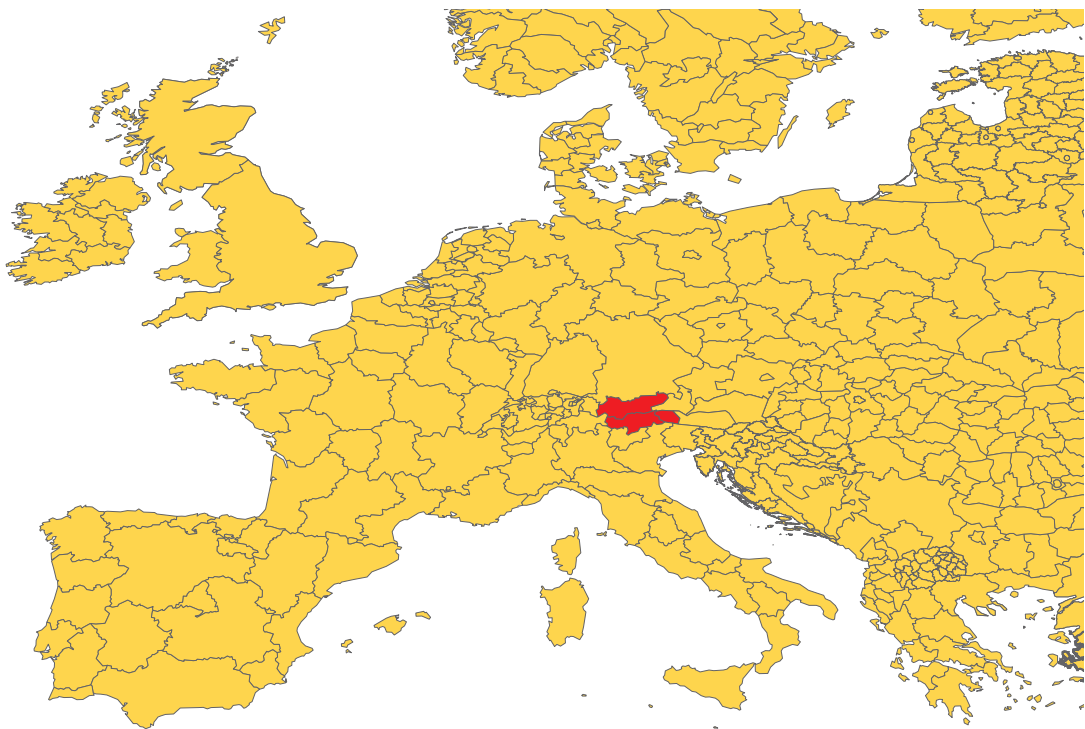
„Zillertal“

Suddivisione geografica dell'area in studio

L'area in studio equivale ad una zona di 20.048 km², di cui 12.648 km² per il Tirolo austriaco e 7.400 km² per la Provincia Autonoma di Bolzano appartenente all'Italia. Dato che nelle due aree in studio vengono seguite due diverse strategie contro la TBE e i servizi trasfusionali sono organizzati diversamente, è sembrato sensato analizzare i dati secondo l'appartenenza politica.

Per la descrizione della sieroprevalenza è apparso più adatta un'analisi secondo i bacini idrografici: i monti sono una barriera per le zecche, che in singoli casi con l'aiuto dell'uomo oppure degli uccelli può essere oltrepassata. Negli studi fino ad oggi eseguiti si è sempre sostenuto che le zecche si diffondono lungo il corso dei fiumi. La nostra area in studio è molto adatta per mettere alla prova questa teoria: in

tutta la regione corre lo spartiacqua continentale che divide il bacino idrografico del Donau e dell'Adige. Il persorso dello spartiacque parte dal passo Resia e prosegue lungo le Alpi ed attraverso la Valle Ötzi-Stubaier e le Zillertaler Alpen in direzione est-ovest fino alla Birnlücke e da lì va verso sud lungo la Venedigergruppe, Rieserfernergruppe ed i Villgratnerberge attraverso il Toblacher Feld, le Dolomiti di Sesto ed il Kreuzberg al Karnischer Kamm e da lì va di nuovo in direzione ovest-est. Soltanto tre valici sono al di sotto dei 2000m: il passo Resia (1504m), il Brennero (1372m) ed il Toblacher Feld (1210m). Nella parte del bacino idrografico del Donau (Tirolo settentrionale), situato al nord delle Alpi, defluiscono l'Inn ed i suoi affluenti, mentre i fiumi della zona al nord delle Alpi Lechtaler e Karwendels defluiscono direttamente nella Donau.



Il corso superiore del Lech e del Loisach (appartengono politicamente al distretto Reutte, il cosiddetto Ausserfern) è diviso dalle Alpi Lechtaler e dal passo Fern, appartenente all'Inntal, e viene considerato nell'indagine come entità propria. Il corso superiore dell'Isar fa parte dell'area rurale di Innsbruck, è situato al di sotto dei 1000m ed è collegato con l'Inntal, così che non è giustificabile trattarlo separatamente. Anche a causa del basso numero di abitanti rispetto al numero previsto di campioni ciò non sarebbe stato sensato.

Circa 2200 km a sud delle Alpi si estende una grande parte del bacino idrografico del Donau dove scorrono il fiume Drau ed i suoi affluenti. Di questo bacino fanno parte il Tirolo dell'est (politicamente il distretto di Lienz) ed una piccola parte della Valle del Drau fino al

Toblacher Feld, appartenente all'Alto Adige, che include i tre comuni Sesto, San Candido e Dobbiaco.

L'Adige che fluisce direttamente nell'Adriatico rifornisce il resto dell'area in studio, che corrisponde all'area della Provincia Autonoma di Bolzano con l'eccezione dei tre comuni sopracitati.

Per l'analisi dei dati sieroepidemiologici la Valle Lech/Loisach (Ausserfern), il bacino idrografico del Drau (Tirolo dell'est, Sesto, San Candido, Tobbiaco) e il bacino idrografico dell'Adige e dell'Inn formano un'unità; gli ultimi due vengono divisi nel corso dello studio in tre parti.

La coincidenza dei distretti politici con l'area in studio è visibile nell'allegato1. Nei seguenti capitoli del documento viene sempre fatto riferimento a queste "aree".



Descrizione della popolazione studiata

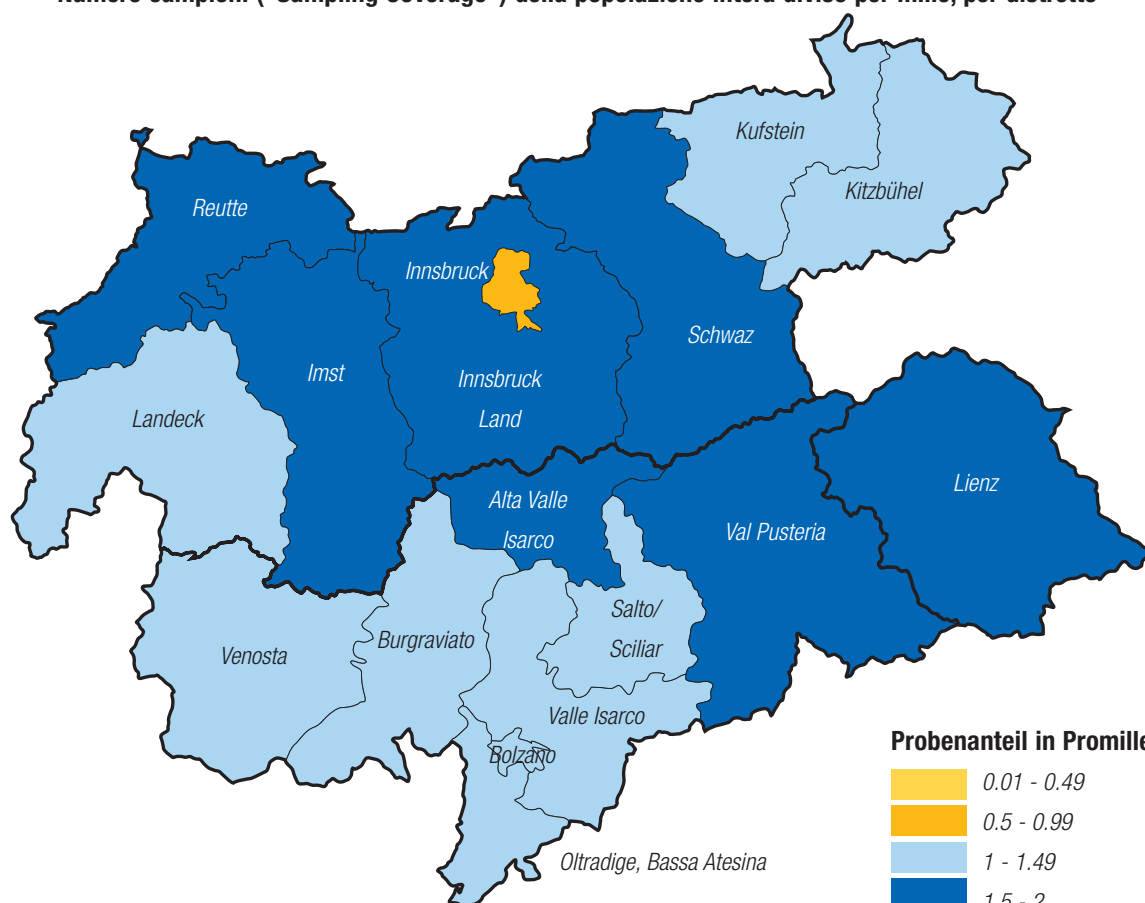
LUOGO DI RESIDENZA DEI PARTECIPANTI ALLO STUDIO

Il 61,5% (n=988) dei 1607 partecipanti proveniva dall'Austria (Tirolo settentrionale ed orientale) ed il 38,5% (n=619) dall'Italia (Alto Adige). La popolazione oggetto dello studio rappresenta l'1,5 per mille dell'intera popolazione

(allegato 1, tabella 1). Il numero di campioni è simile in tutte e due le aree in studio nei distretti (figura1). A 5 partecipanti (0.3%) è stato prelevato il campione di sangue, manca però il questionario.

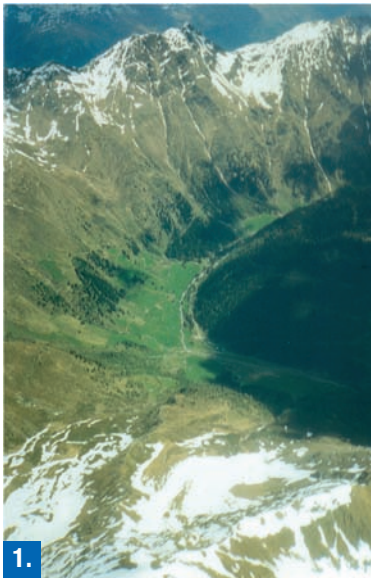
Figura 1

Numero campioni ("Sampling Coverage") della popolazione intera diviso per mille, per distretto



Commento: La popolazione oggetto dello studio è molto simile all'intera popolazione per quanto riguarda la distribuzione per sesso, la suddivisione tra i distretti amministrativi, il livello di altitudine dei luoghi di residenza e la distribuzione tra luoghi di residenza rurali e urbani. Solo il valore percentuale delle due fasce d'età della popolazione in studio è poco più alta, dato che sono state reclutate soltanto persone di età tra i 20 ed i 60 anni (allegato1, tabella2 e 3).

Nella città Innsbruck, che fa parte del Tirolo settentrionale, non è stato possibile reclutare abbastanza partecipanti, per questo motivo le città (comuni con più di 10.000 abitanti) del Tirolo settentrionale ed orientale sono sottorappresentate (allegato1, tabella3).



1. „Hinteres Villgratental. Weißspitze und Oberstalleralm“

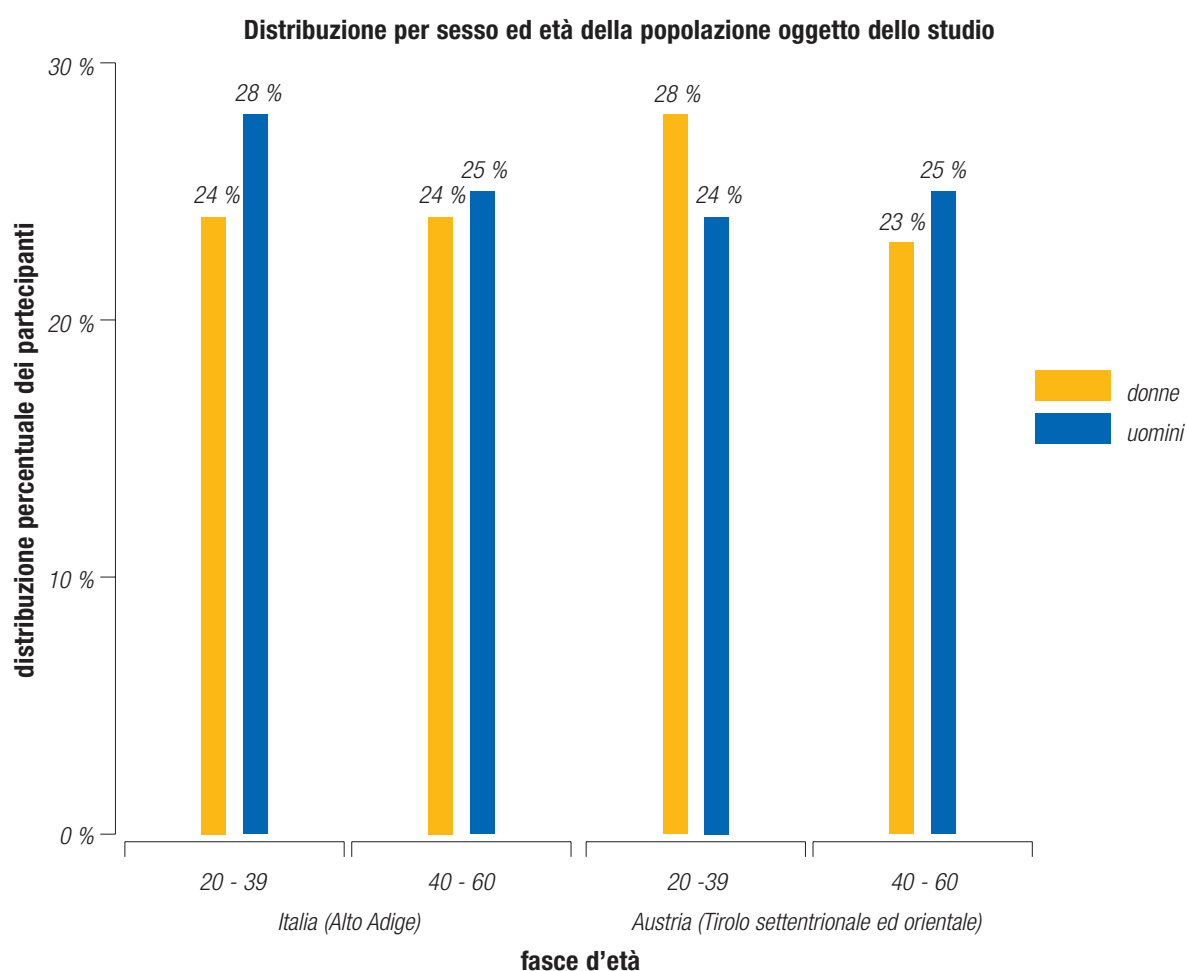
2. „Innervillgraten: Naturdenkmal Sinkerseel“

DISTRIBUZIONE PER ETÀ E SESSO DEI PARTECIPANTI ALLO STUDIO

Per quanto riguarda la distribuzione per sesso ed età non sono state osservate differenze significative, anche se in Alto Adige sono mag-

giormente rappresentati gli uomini dai 20 ai 39 anni e nel Tirolo settentrionale ed orientale le donne della stessa fascia d'età (figura2).

Figura 2



ATTIVITÀ LAVORATIVE DEI PARTECIPANTI ALLO STUDIO

Nella popolazione oggetto dello studio il gruppo di agricoltori e forestali è rappresentato con il 3,6% (n=58), tra l'Alto Adige ed il Tirolo (Tirolo settentrionale ed orientale) c'è poca differenza (allegato1, tabella4). Nell'intera popola-

zione dell'Alto Adige il 4,5% è attivo in agricoltura (ASTAT 2003), valore percentuale uguale anche nel Tirolo settentrionale ed orientale (Annuario di statistica Austria 2001).

ATTIVITÀ DI TEMPO LIBERO DEI PARTECIPANTI ALLO STUDIO

Il 40,0% dei partecipanti (n=642) confermava la domanda sull'esposizione all'aperto durante il lavoro. Di questi il 52,2% (n=335) ha riferito di soffermarsi regolarmente all'aperto durante il lavoro.

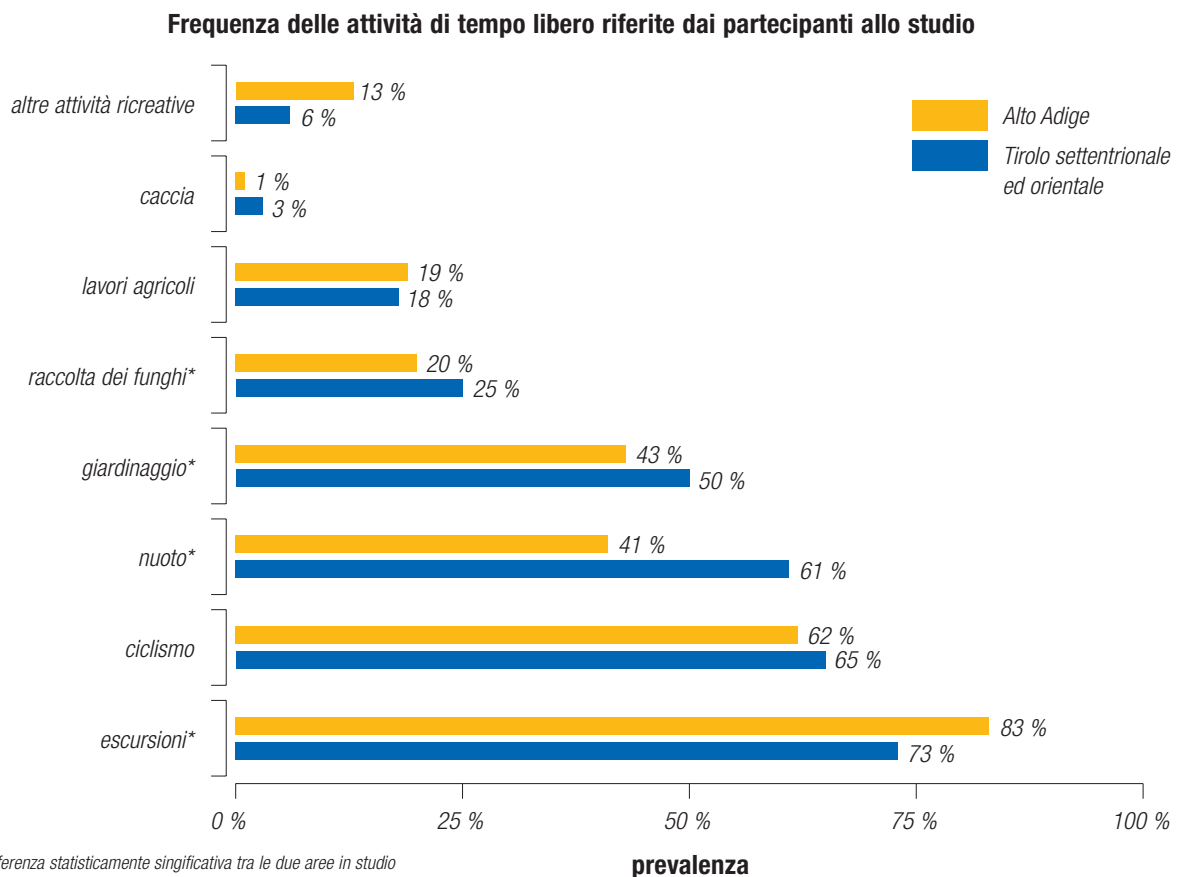
Il 90,8% dei partecipanti (n=1454) ha riferito di trascorrere il tempo libero all'aperto. L'attività ricreativa maggiormente nominata era camminare ed andare in bicicletta.

L'attività ricreativa preferita dai partecipanti altoatesini erano le escursioni, seguite dal golf e dal surf ($p<0,001$ ciascuno), mentre nel Tirolo settentrionale ed orientale i soggetti preferivano il nuoto ($p<0,001$), il giardinaggio ($p<0,01$) e la

raccolta dei funghi ($p<0,01$). Per quanto riguarda il ciclismo, la caccia e le attività agricole non è stata osservata alcuna differenza tra le due aree in studio (figura 3).

Riguardo alla durata dell'attività di tempo libero svolta, risultava al primo posto l'attività agricola con una media di 11,9 ore la settimana, seguita dalla caccia con una media di 11,0 ore, il ciclismo (5,4 ore la settimana), le escursioni (4,6 ore la settimana), ed il nuoto (4,2 ore la settimana). La durata media delle attività di tempo libero rilevate in ore per settimana sono visibili nella tabella 5 dell'allegato 1.

Figura 3



COMPORTAMENTO RIGUARDO AI VIAGGI DEI PARTECIPANTI ALLO STUDIO

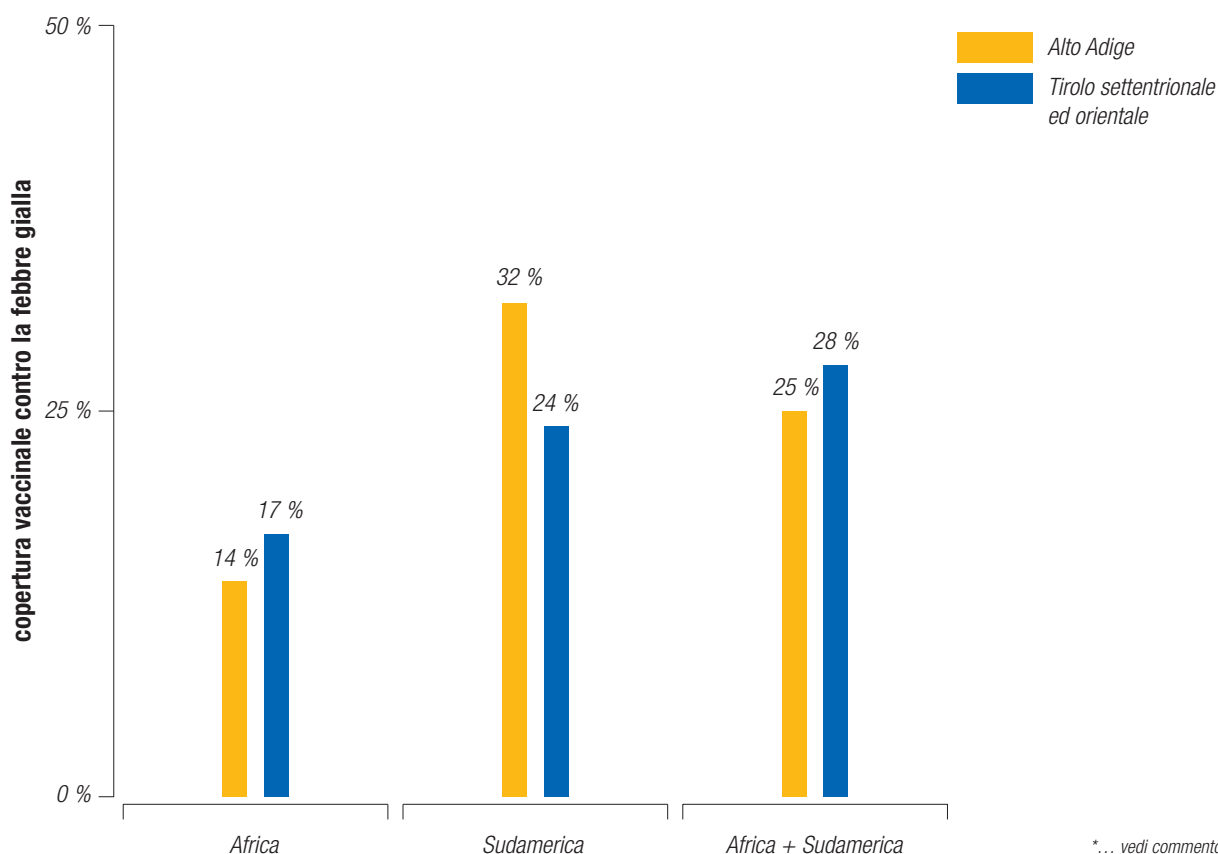
Circa un terzo (32,3%) della nostra popolazione in studio (n=447) ha riferito di aver viaggiato almeno una volta in Africa, Asia, Sudamerica oppure nell'Unione degli Stati Indipendenti (GUS), valore simile in Alto Adige (n=203; 34,4%) e nel Tirolo settentrionale ed orientale (n=244; 30,7%) ($p=0,14$).

Il 19,2% delle persone (n=69) che hanno

trascorso almeno un soggiorno in uno dei Paesi endemici per queste malattie (Sudamerica, Africa) (n=360) ha riferito di essere vaccinato contro la febbre gialla. In Alto Adige le persone che hanno soggiornato in Sudamerica sono quelle maggiormente vaccinate, mentre nel Tirolo settentrionale ed orientale erano quelle che avevano soggiornato in tutti e due i Paesi (figure 4).

Figure 4

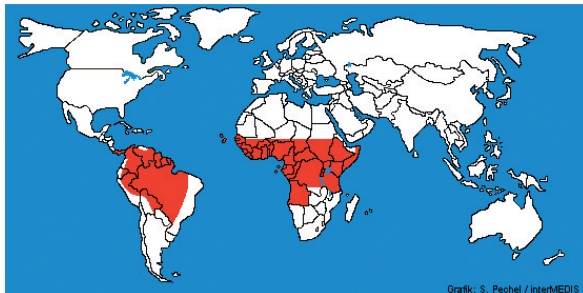
Stima conservativa* della copertura vaccinale contro la febbre gialla nel gruppo dei viaggiatori verso i Paesi a rischio (Sudamerica, Africa).



Il 4% (n=15) delle persone che ha riferito di aver fatto un viaggio in Africa, Asia, Sudamerica oppure nell'Unione degli Stati Indipendenti (GUS) (n=376) si ricorda di un'infezione febbrile tem-

poralmente associabile. Il numero non era statisticamente differente tra l'Alto Adige (2,9%) ed il Tirolo settentrionale ed orientale (5,0%).

Commento: Le coperture vaccinali contro la febbre gialla sono da considerarsi conservative, dato che alcuni partecipanti, che avevano trascorso un soggiorno nei Paesi a rischio, non avevano dato indicazioni sullo stato vaccinale. In Alto Adige questa quota era più bassa (5/168; 2,9%). Queste persone sono state considerate non vaccinate, anche se questo potrebbe portare ad una sottostima della copertura vaccinale.



Distribuzione della febbre gialla lt. OMS 2002/2003

■ rischio di trasmissione

Esposizione alle zecche



Zecca 100x

Foto: online-Archiv Baxter

Esposizione alle zecche

PUNTURE DA ZECCA

Il 26,4% dei partecipanti (n=407) si ricordava di essere stato punto da una zecca, nel Tirolo settentrionale ed orientale erano notevolmente di più (37,4%) che in Alto Adige (8,2%; $p<0,0001$). La domanda sulle punture da zecca è stata tralasciata più volte in Alto Adige (5,5%) rispetto al Tirolo settentrionale ed orientale (2,9%; $p=0,01$)

Gran parte (81,7%; n=276) delle persone con una anamnesi positiva alle zecche (n=388), ha riferito meno di 6 punture, il 14,2% (n=48) un totale tra 6 e 20 punture e meno del 4% (n=14) si ricordava di più di 20 punture (tabella 6, allegato1).



1. *Ixodes ricinus* adultes femmina
2. *Ixodes ricinus* adultes femmina dopo il pasto di sangue
2. *Ixodes ricinus* adultes in posizione

Foto: online-Archiv Baxter

DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DELLE PUNTURE DA ZECCA ANAMNESTICHE

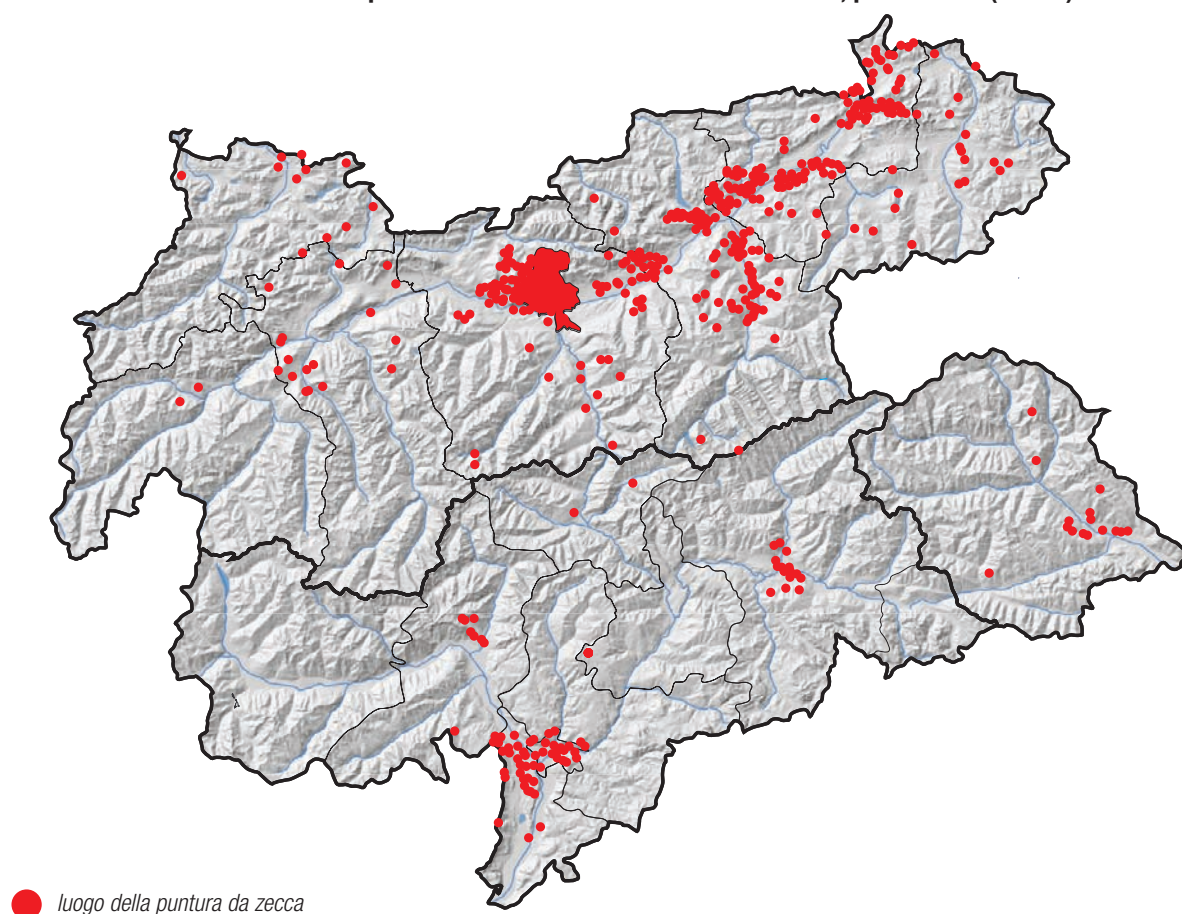
Quattrocentosette partecipanti si ricordavano in totale 844 punture da zecca, di cui il 69,9% (n=589) nel comune di residenza dei soggetti. Il 9,0% delle punture da zecca hanno avuto luogo a Carinzia (n=76), 4,5% (n=38) nella Steiermark, 3,8% in altre regioni federali austriache (n=32), 0,7% in altre regioni italiane

(n=6) e il 4,1% in paesi esteri come Slovacchia, Germania e Stati Uniti (n=35).

Nel area in studio sono avvenute 663 punture da zecca, di cui 86,7% nel Tirolo settentrionale ed orientale (n=575) e 13,3% in Alto Adige (n=88) (figura 5).

Figura 5

Distribuzione delle punture da zecca riferite nell'area in studio, per comune (n=663)



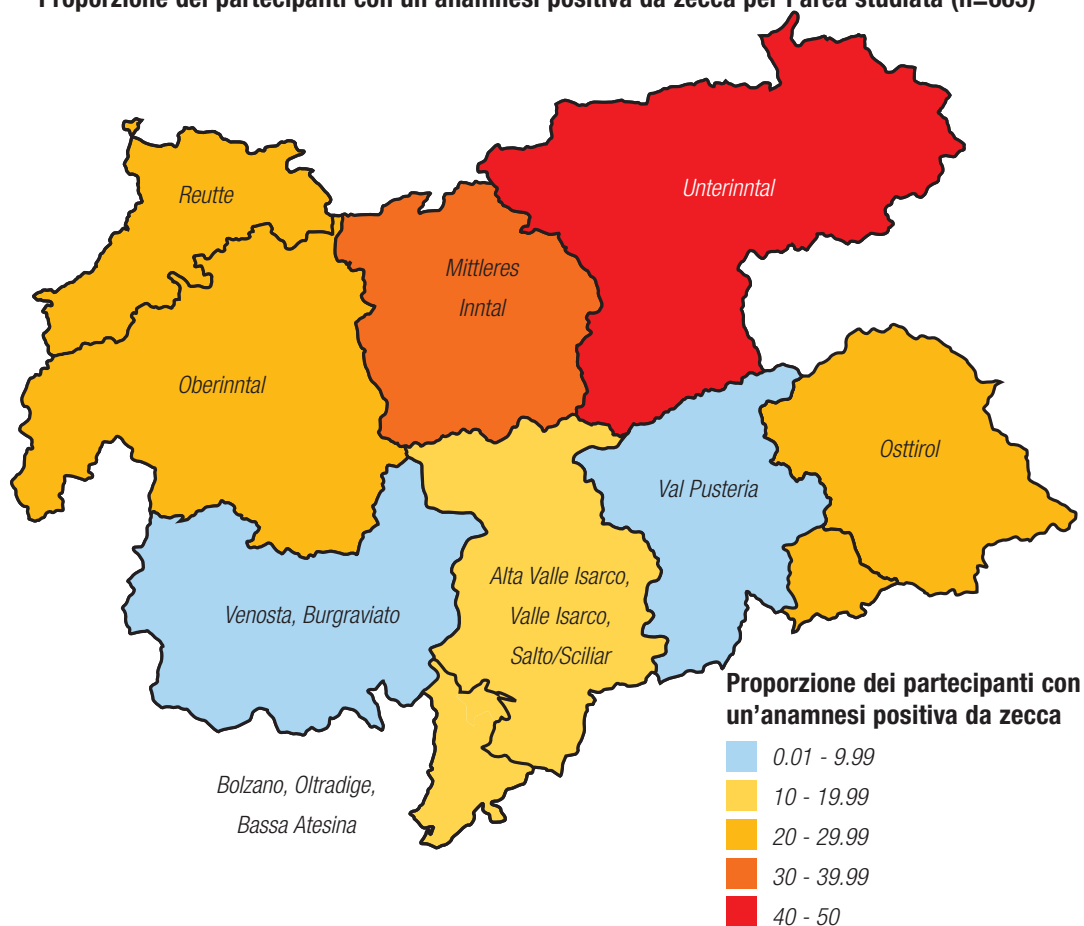
La maggioranza delle punture da zecca è stata osservata nel Unterinntal (n=358), seguito dal Mittleren Inntal (n=169), Bolzano-Bassa Atesina-Oltradige (n=57), Oberinntal (n=24), Val Pusteria (senza San Candido, Sesto e Dobbiaco; n=21), Tirolo dell'est (con San Candido, Sesto e Dobbiaco; n=15), Reutte (n=9), Burgraviato e

Val Venosta (n=8) e Val Isarco-Val di Vizze-Salto-Sciliar con 2 punture da zecca.

L'elenco dei comuni, in cui sono state osservate punture da zecca, è visibile nell'allegato 1, tabella 8.

Figure 6

Proporzione dei partecipanti con un'anamnesi positiva da zecca per l'area studiata (n=663)



La proporzione più elevata di partecipanti con anamnesi positiva da zecca è stata rilevata nel Unterinntal con il 45,9%, seguito dall'Inntal centrale (36,5%), dall'Oberinntal (27,5%), Reutte (24,1%), il bacino idrografico del Drau (Tirolo orientale con San Candido, Sesto e Dobbiaco; 20,0%), Bolzano-Bassa Atesina-Oltradige (15,0%), la Valle Isarco, Val di Vizze-Salto-Sciliar (4,9%), il Burgraviato-Val Venosta (3,5%) e la zona della Val Pusteria dove sbocca l'Adige (senza San Candido, Sesto e Dobbiaco; 3,2%) (Figura 6 e allegato 1, tabella 7).



1. *Ixodes ricinus* - ninfa
2. *Ixodes ricinus* - adulto

Foto: online-Archiv Baxter

Commento: Dato che alcuni partecipanti sono stati punti al di fuori del luogo di residenza, il numero di partecipanti con un'anamnesi da zecca non coincide con il numero di punture osservate nelle singole aree (allegato 1 tabella 7).

La differenza nella frequenza delle punture da zecca tra le due aree studiate potrebbe dipendere dalle diverse condizioni idrografiche e climatiche, ma è però anche influenzata dalla diversa attenzione data alle zecche, dato che da anni in Austria vengono eseguite campagne informative in collegamento con la vaccinazione contro la TBC.

DISTRIBUZIONE TEMPORALE DELLE PUNTURE DA ZECCA ANAMNESTICHE

Ai soggetti sono stati chiesti sia il numero e il luogo delle punture da zecche che l'anno dell'ultima puntura. Alcuni dei partecipanti hanno riferito di essere stati punti tra il 1954 ed il 2005, ciò significa che sono state considerate sia le punture in età infantile come anche quelle degli

ultimi anni. Delle 355 punture da zecca, per le quali è stato indicato l'anno, la gran parte è avvenuta nel 2003 (19,2%; n=68), seguito dal 2002 e dal 2000 (8,7%; n=31 ciascuno), dal 1994 (8,5%; n=30), dal 1980 (7,0%; n=25) e dal 1990 (6,8%; n=24) (figura 7).

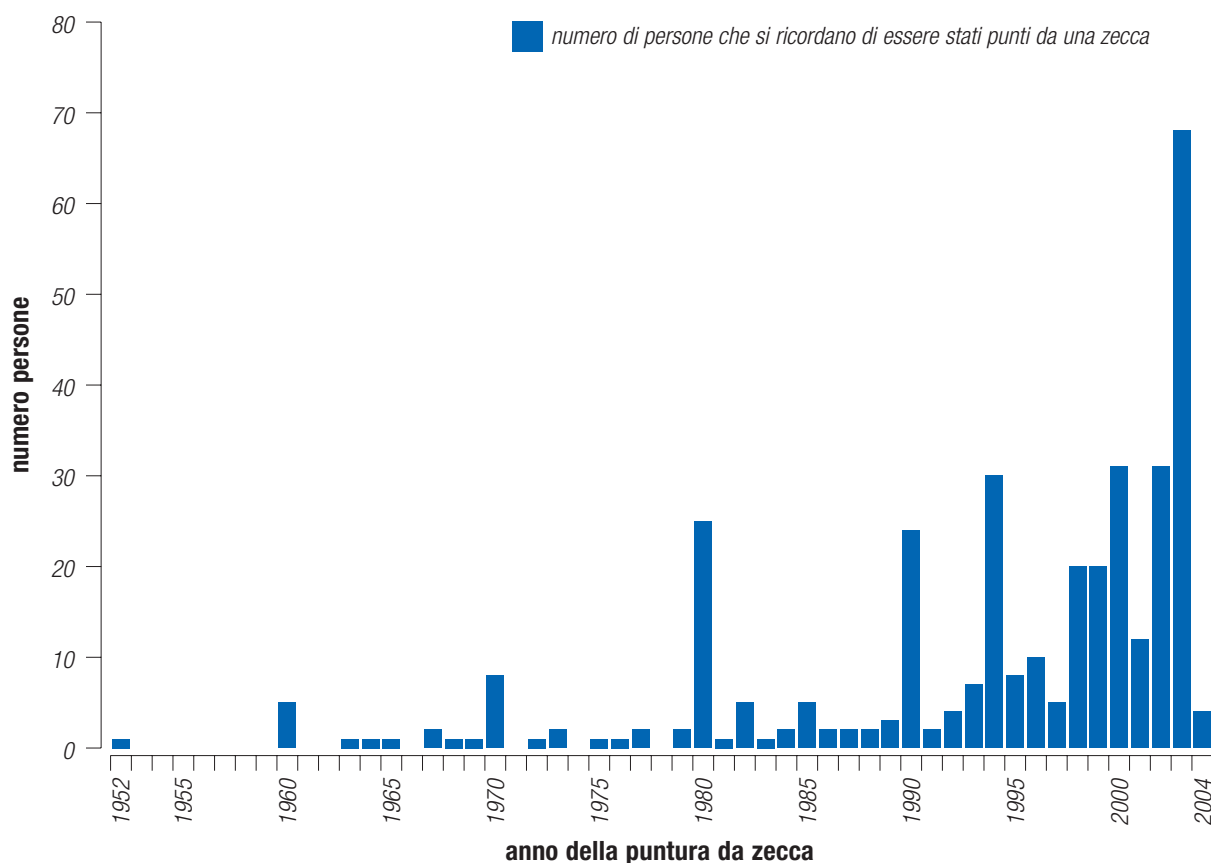
Commento: Il fatto che in certi anni siano state notificate più punture che in altri e che queste in parte si fossero verificate più di 20 anni fa (situazione simile in tutte e due le aree in studio), fa pensare inizialmente ad anni favorevoli per le zecche dal punto di vista climatico. I dati climatici però non confermano questa ipotesi.

È più probabile che l'accumulo delle punture da zecca negli anni 1960, 1970 e 1980 rappresenti un artefatto anamnestico, dovuto al fatto che eventi del passato vengono riferiti tendenzialmente ad anni con numeri tondi.

La maggior parte dei soggetti è stata punta negli ultimi 10 anni. La forma in cui è stata posta la domanda non permette affermazioni riguardo ad un aumento recente delle punture da zecca.

Figura 7

Numero di persone per anno in cui viene ricordata l'ultima puntura da zecca (n=355)



SINTOMI RICORDATI DOPO UNA PUNTURA DA ZECCA

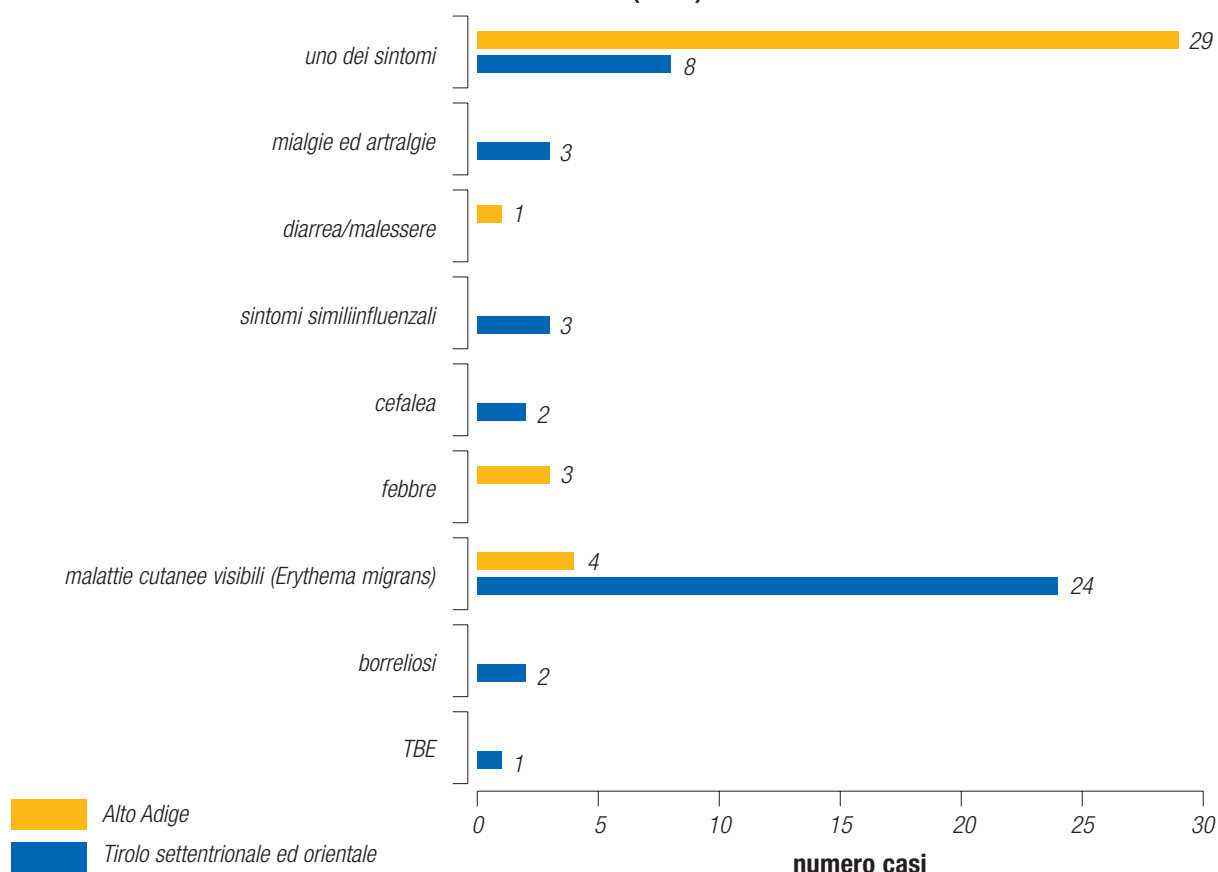
Delle 407 persone con una puntura da zecca anamnestica il 7,9% (n=37) ha riferito di essere stato malato successivamente o almeno di aver sofferto di uno dei sintomi. Tra i bacini idrografici del Donau e dell'Adige non è stata osservata alcuna differenza statistica ($p=0,49$) (figura 8).

I sintomi dermatologici sono quelli maggiormente riferiti, prevalentemente l'eritema cronico migrante ma anche reazioni locali aspecifiche come arrossamento attorno al luogo della puntura oppure prurito. Dei 24 soggetti soltanto due (7,1%) mostravano sintomi alla cute ed avevano anticorpi contro *Borrelia burgdorferi* s.l. (vedi

capitolo sulla borreliosi). Due persone, una di 38 ed una di 39 anni, residenti a Fulpmes nello Stubaital e nello Zillertal hanno riferito di aver avuto diagnosticata una borreliosi. La prima ha riferito di aver avuto un arrossamento attorno al luogo della puntura, ma gli esami eseguiti allora non avevano confermato anticorpi specifici per la borreliosi. La seconda ha raccontato di una puntura da zecca nella Steiermark, seguita da sintomi aspecifici di tipo influenzale con mialgie e cefalee. In questo caso tuttavia la diagnosi di borreliosi non è stata posta. Nel presente studio nel siero prelevato dalle due persone sono stati

Figura 8

Tipo e frequenza dei sintomi/malattia, presentatisi entro una settimana dopo una puntura da zecca, per area in studio (n=37)



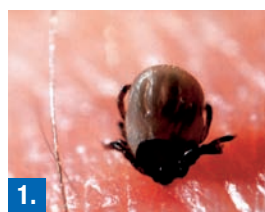
invece trovati anticorpi contro la *Borrelia burgdorferi* e l'*Anaplasma phagocytophilum*.

Tre soggetti che avevano subito una puntura da zecca si ricordano di aver sofferto di febbre dopo la puntura: due uomini provenienti da St. Felix e una donna di ca. 40 anni di Bolzano. Mentre nei primi due soggetti non sono stati dimostrati anticorpi contro nessuno dei patogeni esaminati, la donna era sieropositiva per *Babesia divergens*. La signora ha riferito di non essere stata punta a Bolzano (vedi babesia).

Sintomi influenzali, mialgie e cefalee sono stati riferiti da quattro partecipanti in varie combinazioni, tra cui anche la signora proveniente dallo Zillertal positiva per la borrelia e l'*A. phagocytophilum*. Tra gli altri tre soggetti sono stati identificati un soggetto di ca. 40 anni proveniente dallo Zillertal ed un altro di ca. 25 anni sempre nell'area rurale di Innsbruck che mostravano anticorpi solo contro la TBE (vedi TBE) ed un soggetto di 50 anni dell'area rurale Innsbruck, che mostrava anticorpi contro il virus TBE e borrelie (vedi borreliosi/TBE). Tutti e tre erano vaccinati contro TBE.

I sintomi meningeali sono stati riferiti da 22 persone e rappresentano il complesso di sinto-

mi nominato al secondo posto come frequenza. Ma nessuno dei soggetti esaminati aveva anticorpi contro borrelia, *A. phagocytophilum*, babesia oppure Hantavirus, i 6 soggetti altoatesini con una meningite anamnestic risultavano sieronegativi per virus TBE e West Nile Virus. Tutti i soggetti del Tirolo settentrionale con sintomi meningeali sono risultati sieropositivi contro il virus TBE e molti erano vaccinati contro la TBE (vedi TBE). Alcuni di loro avevano anticorpi contro il West Nile Virus (vedi West Nile Virus) al test di screening. Un soggetto del Tirolo settentrionale dell'area rurale di Lienz di 51 anni ha riferito di aver sofferto nel 1976 di un virus TBE. Il soggetto aveva anticorpi contro il virus TBE, nonostante fosse stato immunizzato nel 2000 (TBE).



1. *Ixodes ricinus* durante il pasto di sangue
2. *Ixodes ricinus* adultes femmina
3. *Ixodes ricinus* adultes maschio

Fotos: Eye of Science, Tomi Trilar

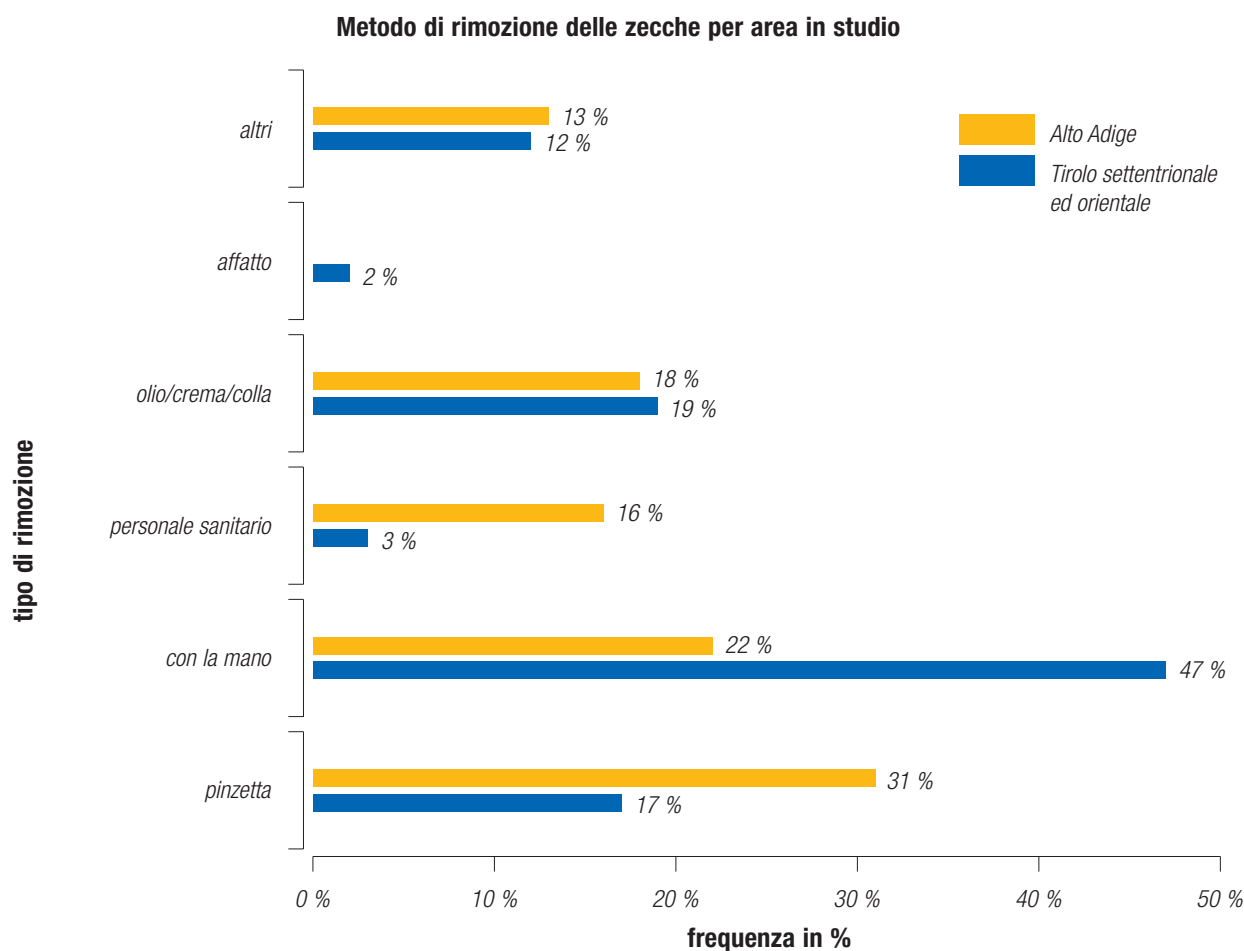


RIMOZIONE DELLA ZECCA

Secondo le indicazioni dei partecipanti allo studio le zecche vengono normalmente rimosse con la sola mano (43,8%), un metodo che viene utilizzato in particolare nel Tirolo settentrionale ed orientale. Il secondo metodo utilizzato in entrambe le aree è l'applicazione di olio, crema, pomata oppure colla (19,3%). L'impiego della

pinza è il terzo metodo (18,7%) diffuso in particolare tra i partecipanti altoatesini. I partecipanti altoatesini si rivolgono spesso al personale sanitario (medico, ospedale) per rimuovere le zecche (figura 9). Il numero di punture da zecca non influisce sul metodo di rimozione della zecca ($p=0,23$).

Figura 9



Commento: Ancora oggi sono molto diffusi i metodi di rimozione delle zecche, che aumentano il rischio di una trasmissione di infezioni associate a zecche, in particolare una borreliosi. Tra questi vi è anche il trattamento della zecca utilizzando olio, crema, pomata oppure colla prima della rimozione di essa. Il fatto che in Alto Adige alla domanda sulla rimozione della zecca abbiano risposto meno persone, fa sì che l'utilizzo di olio, crema, pomata oppure colla sia complessivamente più frequente che l'utilizzo della pinzetta.

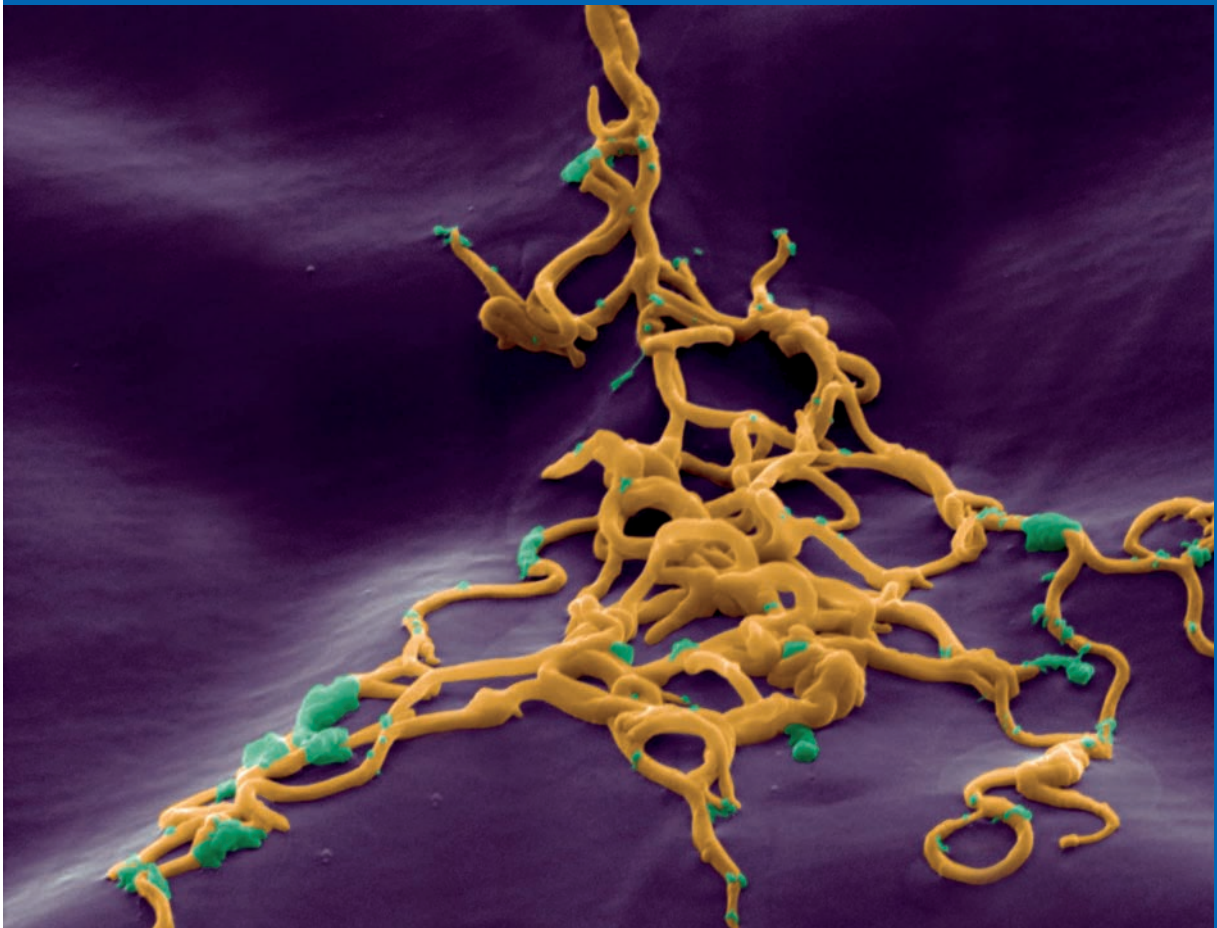
RACCOMANDAZIONI

Dopo un soggiorno in zone con presenza di zecche si dovrebbe esaminare il corpo per la presenza di parassiti e rimuoverli al più presto possibile con l'aiuto di una pinzetta.

L'utilizzo di repellenti mostra un'ottima efficacia e dovrebbe essere preso in considerazione.

Esiste una vaccinazione per i cani basata sugli OspA; per l'uomo invece non è disponibile un vaccino. Una profilassi antibiotica dopo una puntura da zecca non è ritenuta efficace.

Borrelia burgdorferi sensu lato



Borrelia burgdorferi 6.500 x

Foto: Eye of Science

Borrelia burgdorferi sensu lato

DEFINIZIONE

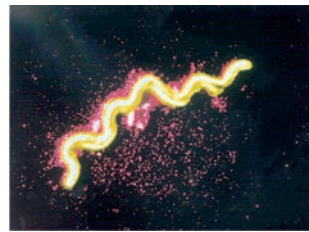
La borreliosi è una malattia zoonotica che viene trasmessa attraverso le zecche ed è caratterizzata da un decorso trifasico con una tendenza alla cronicizzazione ed con l'interessamento di vari organi. In Europa centrale la bor-

reliosi è la malattia trasmessa attraverso vettori artropodi, che annualmente può infettare tra 70 e 990 persone per 100.000 abitanti; questi dati sono stati documentati dalla Germania, Slovenia, Finlandia e Svezia.

L'AGENTE PATOGENO

Borrelia burgdorferi sensu lato è il nome collettivo per i tre tipi di borrelia patogene per l'uomo, che vengono trasmesse attraverso le zecche: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* e *Borrelia afzelii*. Assieme all'agente patogeno della febbre ricorrente (*Borrelia recurrentis* e *Borrelia duttoni*) e con i commensali facoltativamente patogeni delle mucose (p.es. *Borrelia vincenti*) formano la specie *Borrelia*, che assieme ai treponemi e alle leptospire vengono raggruppati sotto la definizione di spirochetæ a causa della tipica forma a spirale.

Sono gram negativi e la struttura della membrana è simile a quella dei batteri gramnegativi. Insoliti sono i flagelli situati nella membrana, che conferiscono alle borrelie l'agilità caratteristica.



Borrelie: *Borrelia burgdorferi*

Foto: online-Archiv Baxter

Le borrelie sono microorganismi aerobi e possono essere coltivati su terreni di coltura artificiali (p.es. Barbour-Stoenner-Kelly-Medium a 33°C) in condizioni microaerofile. La crescita in una coltura avviene molto lentamente per cui la conferma colturale ha un ruolo poco rilevante per la diagnostica.

Le borrelie sono sensibili agli influssi ambientali e per questo dipendono dai loro serbatoi.

LA PRESENZA

Borrelia burgdorferi sensu lato è diffusa in tutto l'emisfero settentrionale, mentre per quello meridionale esistono dati sierologici soltanto per il Sudamerica, dove si presuppone la presenza della *Borrelia burgdorferi*. La presenza dell'agente patogeno in Australia e in Africa al

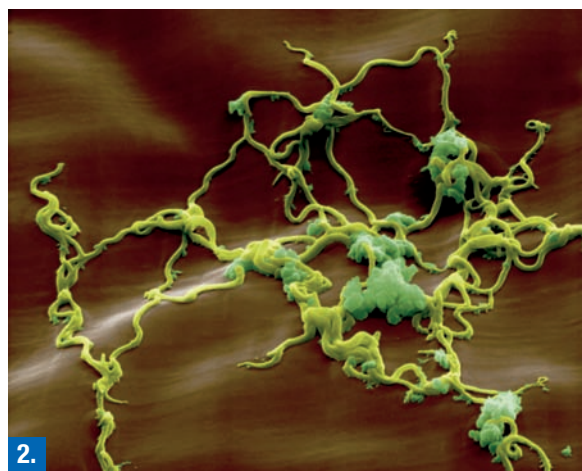
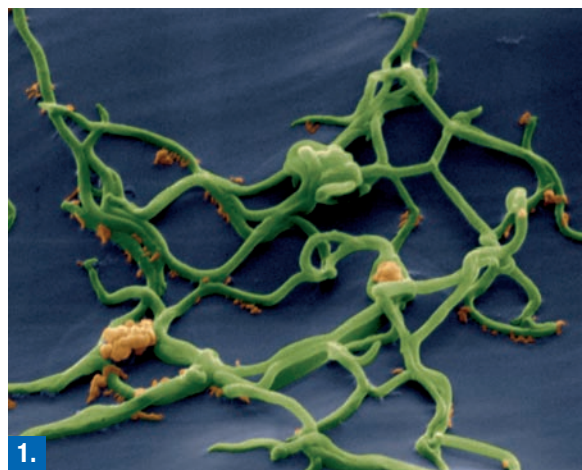
sud del Sahara non è confermato con certezza. In Europa la borreliosi è presente in tutti gli Stati (eccetto l'Islanda, per la quale non sono disponibili dati); l'agente patogeno può essere dimostrato dalla Scandinavia fino al Mediterraneo e dall'Irlanda fino agli Urali.

SERBATOIO

In Europa i piccoli roditori devono essere considerati il serbatoio principale. Sono presenti dati su 16 tipi di mammiferi e ca. 16 tipi di uccelli, che fungono da serbatoi per le diverse specie, tra l'altro anche i topi selvatici *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus flavicollis*, *Clethrionomys glareolus* e il riccio (*Erinaceus europaeus*). Cani, bovini e cavalli possono contrarre la borreliosi, ma non è chiaro se sviluppino una batteriemia sufficiente per infettare le zecche. Fino ad oggi una trasmissione verticale tra zecche non è stata dimostrata ed è ancora in discussione.

TRASMISSIONE

La trasmissione di *Borrelia burgdorferi* all'uomo avviene attraverso una puntura di una zecca infetta, in Europa centrale è la comune zecca del cane *Ixodes ricinus* che assume l'importanza maggiore. In media il 21% delle zecche adulte ed il 14% delle ninfe sono infette con *Borrelia burgdorferi s. l.* Nella maggior parte dei casi sono *Borrelia afzelii*, seguita dalla *Borrelia garinii* e, con un distacco più grande *Borrelia burgdorferi sensu stricto*.



1. *Borrelia burgdorferi* 11.000 x

2. *Borrelia burgdorferi* 5.700 x

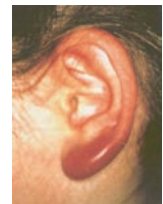
Gran parte delle infezioni hanno luogo in luglio ed agosto. Un'infezione è sostanzialmente sempre possibile, in particolare in Austria e nel nord d'Italia dove l'inverno è mite e le zecche sono attive tutto l'anno: nel Tirolo settentrionale una puntura da zecca è stata osservata in dicembre del 1999 nelle vicinanze di Innsbruck con un tipico EM attorno al punto della puntura. Anche nella seconda parte di febbraio dell'anno 2000, ed anche in Alto Adige sono state osservate punture da zecca nei mesi invernali. Il rischio di un'infezione diminuisce con l'aumentare dell'altitudine, ma comunque sono state documentate alcune infezioni acquisite a più di 1200m.

Il rischio di una trasmissione aumenta con la permanenza della zecca. Entro le prime 24 ore il rischio di infezione viene considerato molto bas-

so, mentre dopo più di 36 ore è molto alto.

Singole osservazioni fanno pensare ad una possibile trasmissione attraverso altri insetti come il tafano (*Chrysops spp.* und *Haematopota spp.*), ma fino ad oggi ciò non è stato dimostrato scientificamente.

Fino ad oggi non è stata descritta una trasmissione interumana.



Borrelie: Lymphadenosis cutis benigna

Foto: Dr. Krösshuber, Lienz

GRUPPI A RISCHIO

Tutte le persone vanno considerate suscettibili, la malattia non sempre lascia un'immunità permanente in particolare dopo una terapia

tempestiva con antibiotici. Sono possibili ulteriori infezioni sintomatiche.

PERIODO DI INCUBAZIONE

Il periodo di incubazione per l'EM è da tre fino a 35 giorni (valore medio 7-10 giorni) dopo l'esposizione alla zecca. Bisogna però sottolineare che lo stadio iniziale può decorrere senza sintomi clinici e in genere il paziente si presenta dal medico con sintomi tardivi.



Sintomi, Foto: Dr. Krösshuber, Lienz

QUADRO CLINICO

In circa il 20% dei casi la borreliosi decorre inapparente, cioè clinicamente asintomatica, nel 50-60% dei casi come infezione cutanea locale (eritema cronico migrante oppure raramente linfadenopatia benigna della cute) ed in ca. il 20% dei casi provoca un'infezione disseminata. Può colpire tutto il sistema degli organi, ma in particolare il sistema nervoso centrale e periferico, le articolazioni e la cute.

L'eritema cronico migrante (EM) è di gran lunga la manifestazione più frequente della borreliosi nell'Europa centrale e rappresenta in ca. il 60% dei casi l'unico sintomo in un'infezione da borrelia diagnosticata. Dopo una puntura da zecca si sviluppa un arrossamento centrifugo con una zona centrale che tende a schiarirsi. Se confrontata con un'inflammatione non specifica del luogo di puntura il diametro dell'EM è superiore a 5 cm, il bordo è arrossato, tipicamente sollevato e surriscaldato, spesso accompagnato da prurito, parestesia oppure dolori brucianti. In Europa centrale le infezioni con *Borrelia afzelii* sono associate all'eritema cronico migrante, nel nuovo mondo invece solo la *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, l'unica varietà genetica presente nel nuovo mondo. Per questo le strategie di diagnostica e terapia della borreliosi utilizzate negli Stati Uniti non possono essere utilizzate per l'Europa e viceversa.

Se l'eritema si presenta per più di 4 settimane si tratta di un **eritema cronico migrante**. L'EM ha un percorso autolimitante e anche se non viene trattato scompare tra i 12 fino ai 18 mesi. Più l'eritema si diffonde, più diventa probabile una generalizzazione nello stadio II oppure III ed aumenta il rischio di una generalizzazio-



Borrelie: Erythema migrans, Foto: Dr. DeBene

ne con sintomatologia già a partire dal 7. giorno.

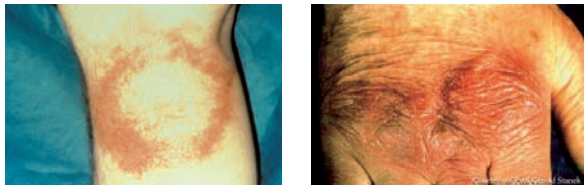
Dato che l'eritema cronico migrante viene normalmente curato dal momento della diagnosi, i dati sul rischio di una **generalizzazione** sono difficili da rilevare e poco attendibili. Circa il 23% dei pazienti con una borreliosi cutanea sviluppano una linfopatia locale, ca. il 15% soffre di breve febbre e sintomi influenzali, incluse mialgie, artralgie migranti e di uno stato di debolezza. Raramente si hanno sintomi neurologici. In caso di mancanza dell'EM, la borreliosi in stadio generalizzato si presenta senza specifiche caratteristiche e rappresenta una sfida diagnostica.

Dopo la generalizzazione nel 20-30% dei pazienti (in Europa) si sviluppano sintomi con interessamento degli organi.

Artrite da borrelia che negli Stati Uniti si osserva in ca. il 60% dei pazienti, si presenta in Europa centrale in meno del 10% dei casi. La malattia si manifesta da alcuni giorni fino a mesi dopo la puntura, oppure all'inizio dell'eritema (in media dopo ca. 1 mese), come artrite recidivante avanzata con tipici esantemi visibili da alcuni giorni a settimane, interrotti da fasi di remissio-

ne di una durata di settimane oppure mesi. L'artrite si manifesta in particolare nell'articolazione del ginocchio, raramente nell'articolazione tibio-tarsale, nel gomito e nelle articolazioni della spalla, dell'anca e della mascella. I singoli attacchi possono variare per localizzazione, ma l'interessamento è limitato a una o poche articolazioni. L'interessamento di piccole articolazioni (dita dei piedi e delle mani, osso del carpo) è meno tipico.

Ancora più rara è l'**acrodermatite cronica atrofica**, un'inflammatione cutanea cronica che interessa quasi solo le parti acrali e la superficie estensoria delle estremità e che porta ad una atrofia che si sviluppa soltanto dopo anni oppure decenni dall'infezione. Altre localizzazioni si osservano soltanto in meno del 2% dei casi.



Borrelie: Erythema migrans, Acrodermatitis chronica atrophicans
Foto: Prof. Stanek

In Europa centrale la **neuroborreliosi** dello stadio II è con ca. il 25% la seconda forma di manifestazione della borreliosi più frequente dopo l'EM. Si distingue un'interessamento periferico dei nervi (Meningopleurite Garin-Bujadoux-Bannwarth), una neurite cronica (molto frequente il N. facialis e il N. abducens) e la meningite da borrelia.

Nei **bambini** prevalgono paralisi dei nervi cranici, in particolare del N. facialis, che è coinvolto in più del 50% dei casi di una neuroborreliosi infantile. La malattia si manifesta da una

fino a 12 settimane dalla puntura da zecca con l'apparizione di un deficit facciale unilaterale periferico precanalicolare, che dopo alcuni giorni si manifesta anche sull'altro lato del volto. Il secondo nervo cranico coinvolto per ordine è il N. abducens, possono essere colpiti tutti gli altri nervi cerebrali solo per il N. olfactorius non sono stati descritti casi di lesioni associate alla borreliosi. Circa un quarto delle neuroborreliosi pediatriche si manifesta come meningite, la cui sintomatologia è meno marcata rispetto a quella del TBE.

Negli **adulti** si ha un coinvolgimento dei nervi cranici soltanto in ca. il 50% dei casi, una meningite da borrelia è molto rara. Nella fascia d'età a partire da 20 anni da una fino a 12 settimane dopo l'infezione si sviluppa nel sito della puntura da zecca un dolore forte (iperalgia) accompagnato da una parestesia oppure gravi deficit e nel 90% dei casi da una leggera paralisi. Il dolore che si manifesta è forte e viene percepito come bruciante oppure lancinante e si fa sentire specialmente nelle ore notturne. Antidolorifici convenzionali non mostrano sufficientemente effetto, l'EMG e la velocità della conduzione nervosa sono patologici.

La sintomatologia del dolore decorre autolimitante, può durare 18 mesi e più se non viene trattata. È possibile che si sviluppi una **neuroborreliosi cronica**, che causa tetra- oppure emiparalisi, atassia cerebellare, disturbi alla vescica, soppressione del nervo cranico, depressione ed una cefalea cronica. Una neuroborreliosi acuta non sempre si manifesta in concomitanza con la malattia, ma si presenta mesi oppure anni dopo l'infezione, decorre per più di

10 anni e causa uno stato di deficit se non viene trattata. L'aumento della durata della malattia rende più difficile la terapia che dopo un lun-

go decorso ha un successo ridotto.

DIMOSTRAZIONE DI UNA BORRELIOSI FLORIDA

A prescindere dall'EM in forma tipica, una borreliosi viene sempre diagnosticata considerando la sintomatologia clinica ed il referto sierologico. La diagnosi sierologica avviene in due fasi: come primo test quantitativo viene eseguito un test enzimatico (ELISA) comune oppure raramente un test di immunofluorescenza (IFT), un risultato positivo deve essere validato da un test di conferma, il Westernblot. In particolare per le infezioni da *Borrelia afzelii* la risposta anticorporeale si sviluppa lentamente entro più settimane, in modo che nella fase iniziale della malattia mancano anticorpi specifici. All'inizio della malattia i test per saggiare anticorpi IgM sono più sensibili dei test per gli anticorpi IgG. L'aumento del titolo oppure la presenza di ulteriori bande adizionali entro tre settimane conferma la borreliosi florida. In alcuni casi una terapia rapida con antibiotici può non permettere la formazione di anticorpi IgG.

La conferma di una neuroborreliosi si basa sull'esame del siero e anche del liquor: la presenza di una pleocitosi linfocitaria nel liquor (fino a 3000/3 cellule), un aumento delle proteine fino a 400 mg/dl e l'aumento isolato delle neopterine nel liquor con valori del glucosio (a volte basso) e dell'acido lattico (a volte elevato) normali oppure leggermente patologici devono far pensare ad una neuroborreliosi, e la dimostrazione di una produzione di anticorpi autoctoni intratecali conferma la diagnosi.

La conferma diretta tramite PCR vale solo per la biopsia principale dell'EM, ed è motivata in caso di sospetto di un'artrite da borreliosi nel liquor, in presenza di una paralisi facciale pediatrica e di un puntato dell'articolazione oppure di una biopsia sinoviale. Un risultato positivo conferma una borreliosi florida, mentre un referto negativo del liquor oppure di un puntato dell'articolazione la esclude.

Una descrizione dettagliata dei test utilizzati in questo studio è visibile dall'allegato 2.



Borreliose: bande adizionali nel Westernblot, Foto: propria

TERAPIA

Per la terapia dell'**EM** vengono attualmente consigliati doxiciclina, (2x100mg per più di 14 giorni), fenossimetilpenicillina (1-1,5 Mio E 3xd per più di 14 giorni), azitromicina (2x 250mg i primi due giorni, dopo 1x 250 mg per più di 8 giorni), cefuroxima axetile (2x 500mg per più di 14 giorni) e amoxicillina (3x 500-1000 mg/d per più di 14 giorni). Studi clinici, che normalmente includono un numero ridotto di partecipanti, non hanno mostrato una differenza significativa tra i cinque preparati.

Uno studio con doxiciclina, fenossimetilpenicillina e amoxicillina ha mostrato che ciascun preparato utilizzato per pazienti con un EM ha dato un tasso di fallimento basso (~ 1,7%), inoltre è stata descritta la persistenza delle borrelie utilizzando l'azitromicina. Nel caso di una persistenza dell'EM alla terapia oppure di una progressione, è meglio cambiare l'antibiotico piuttosto che prolungare il periodo della terapia.

Sulla terapia di **infezioni da borrelie generalizzate** non sono stati eseguiti studi su pazienti europei. Vengono raccomandati gli stessi metodi terapeutici come per l'eritema cronico migrante.

Per la terapia della **neuroborreliosi** viene raccomandato il ceftriaxone 2 g (50-100 mg/kg) una volta al giorno per almeno 14 giorni, nei bambini invece la penicillina G (400.000-500.000 E/kg/d) per almeno 14 giorni. In caso di allergia alla penicillina negli adulti è consigliabile una terapia con doxiciclina. Dato che la Tetraciclina polare non può oltrepassare una barriera ematoencefalica intatta, bisogna applicare un dosaggio adeguatamente elevato (p.es. 2x250 mg/d per più di 21 giorni). In caso di un'allergia alla penicillina nei bambini può essere presa in considerazione l'azitromicina come sostituto, manca fino ad oggi un confronto tra l'efficacia dell'azitromicina e del doxiciclina con il ceftriaxone in caso di una neuroborreliosi nello stadio II.

Alcuni autori raccomandano l'amoxicillina (3 x 500-1.000 mg) in caso di paralisi facciale ed un referto da liquor patologico mancante, anche in base alla riflessione che in caso di un referto poco indicativo è consigliabile una terapia orale rispetto ad una intravenosa. Anche in questo caso manca fino ad oggi il confronto dell'efficacia con i metodi standard.

RISULTATI DI LABORATORIO

Per 79 soggetti sono stati confermati anticorpi IgG specifici contro *Borrelia burgdorferi* s. l., e ciò corrisponde a una prevalenza del 4,9% in tutta l'area in studio. Essa è quindi simile alla

prevalenza contro l'*Anaplasma phagocytophilum* ($p=0,69$) ed è significativamente più elevata della sieroprevalenza contro *Babesia divergens* s.l. ($p< 0,001$).

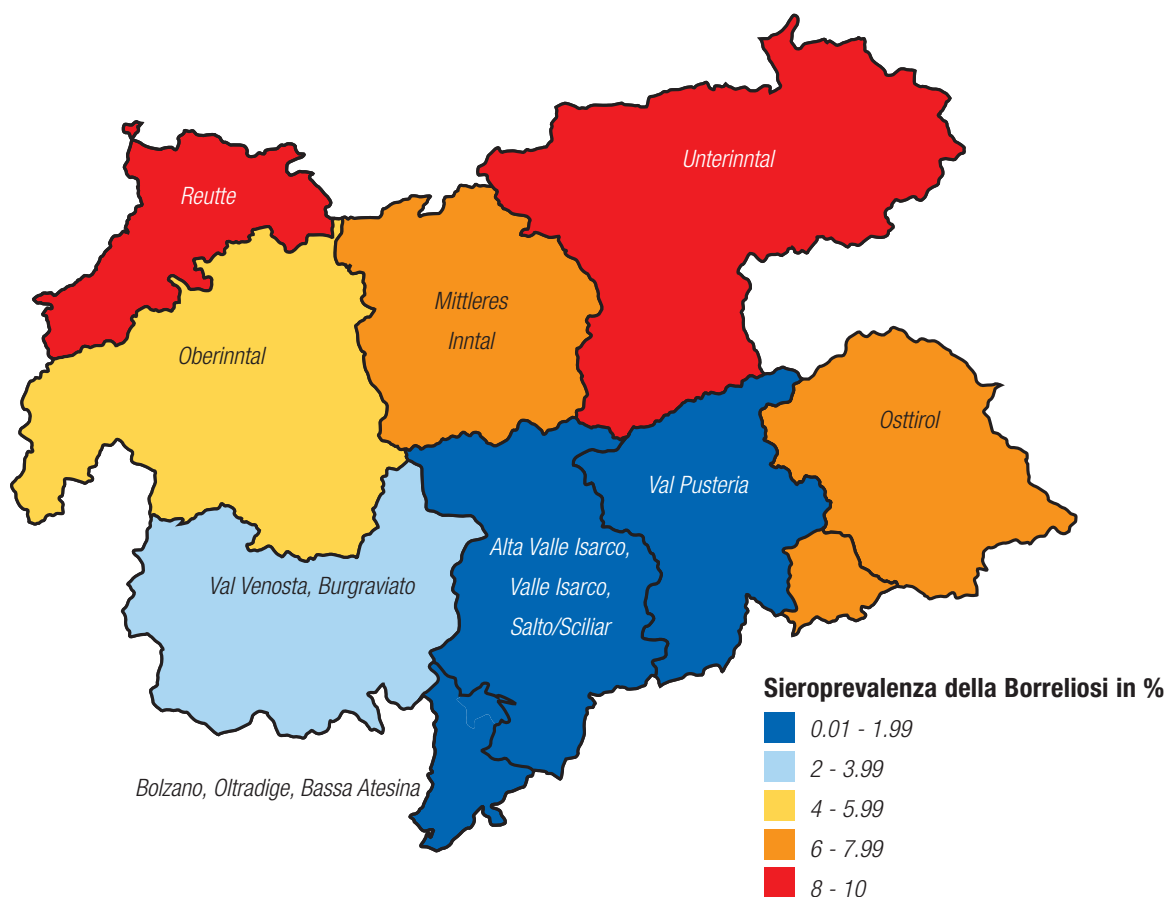
DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DELLE PERSONE SIEROPOSITIVE PER AREA

La sieroprevalenza nel bacino idrografico del Tirolo settentrionale ed orientale (compresi la Val Pusteria con i comuni San Candido, Sesto e Dobbiaco) è pari al 7,1% ($n=70$) ed è significa-

tivamente più elevata ($p< 0,0001$) rispetto a quella del bacino idrografico dell'Adige (1,5%; $n=9$) (Alto Adige eccetto San Candido, Sesto e Dobbiaco).

Figura 10

Percentuale della sieroprevalenza degli anticorpi contro borrelie per area



Gli anticorpi della classe IgG contro *Borrelia burgdorferi sensu lato* stati dimostrati in tutte le aree dell'Alto Adige (tranne nella Val Isarco). Il tasso di sieroprevalenza più basso è stato rilevato nella Val Isarco-Val di Vizze-Salto-Sciliar con il 0,7% (n=1), seguito dalla Val Pusteria eccetto San Candido, Dobbiaco, Sesto con l'1,0% (n=1), Bolzano-Bassa Atesina-Oltradige con l'1,9% (n=4) e la Val Venosta-Burgraviato con il 2,1% (n=3).

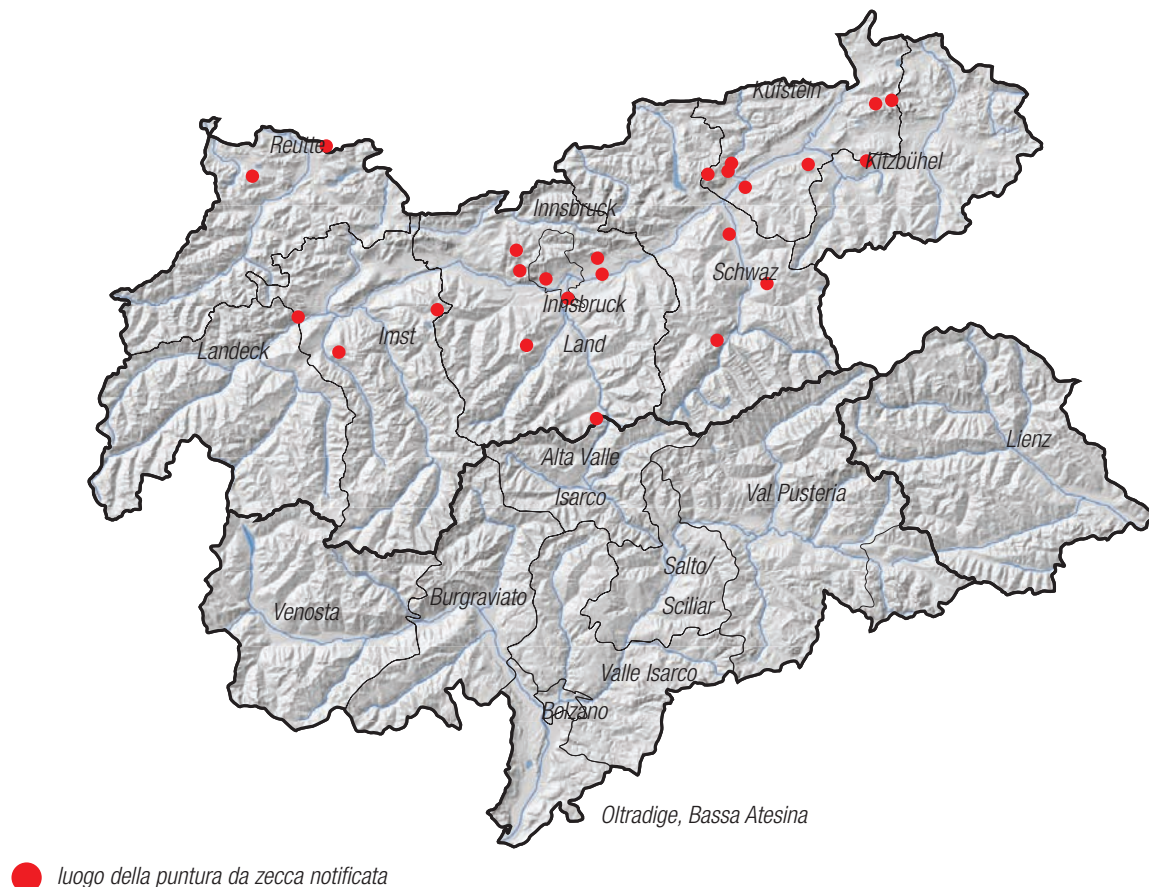
Nel bacino idrografico del Donau i valori al nord come anche quelli al sud delle Alpi sono

quasi il doppio più elevati come nel bacino idrografico dell'Adige, soltanto nel distretto Landeck non sono stati trovati soggetti con anticorpi contro la borrelia. Nel Oberinntal è stata rilevata la sieroprevalenza più bassa con il 4,2% (n=6), seguito dal bacino idrografico del Drau con il 6,0% (n=6), l'Inntal con il 6,2% (n=24), Reutte con l'8,6% (n=6) e dell'Unterinntal con il 9,2% (n=29) (Figura 10 e allegato 1, tabella 9).

Lungo l'Inntal è stata osservata una tendenziale diminuzione della sieroprevalenza, che però non è statisticamente significativa.

Figura 11

Possibili luoghi di infezione con borrelia con punture da zecca anamnestiche (n=24)

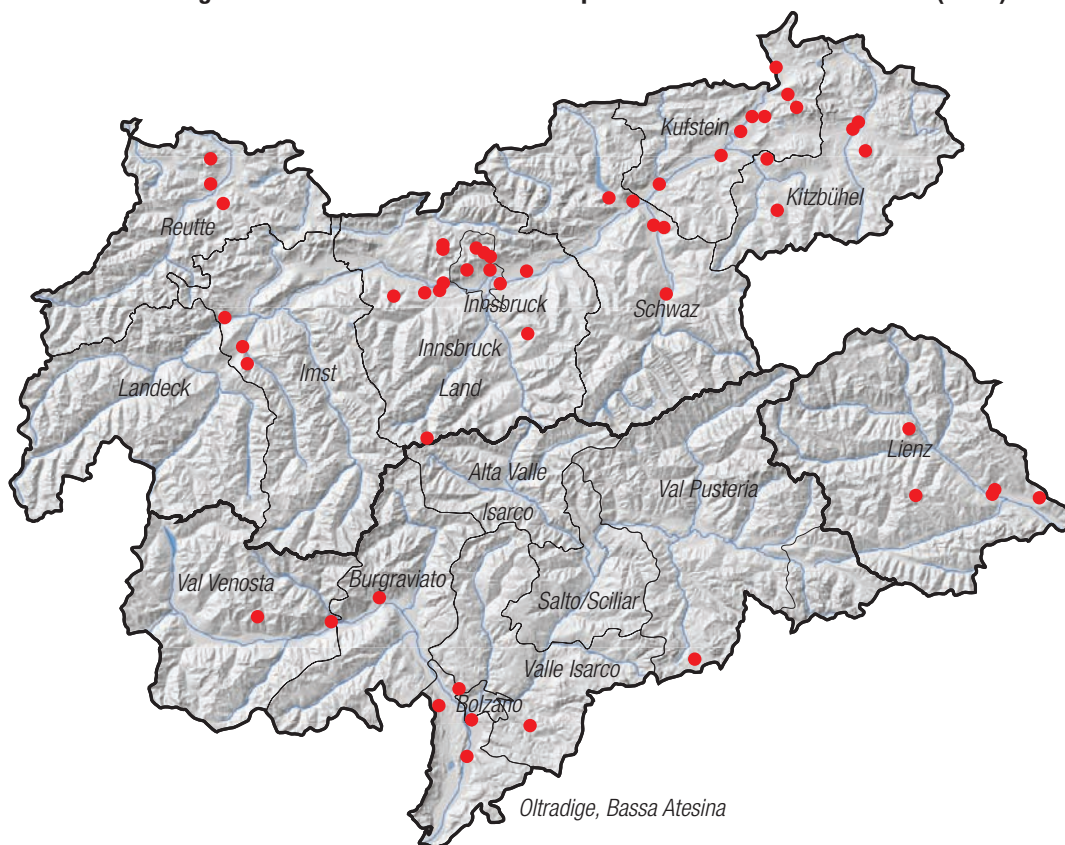


Nelle figure 11 e 12 e nella tabella 10 dell'allegato 1 sono stati indicati i possibili luoghi di infezione con borrelia, nella figura 11 i luoghi, relativi ai partecipanti che hanno riferito di esse-

re stati punti da una zecca e nella figura 12 i luoghi di residenza dei partecipanti sieropositivi, che non hanno riferito alcuna puntura da zecca.

Figura 12

Possibili luoghi di infezione con borrelia senza punture da zecca anamnestiche (n=56)



● luogo di residenza delle persone sieropositive

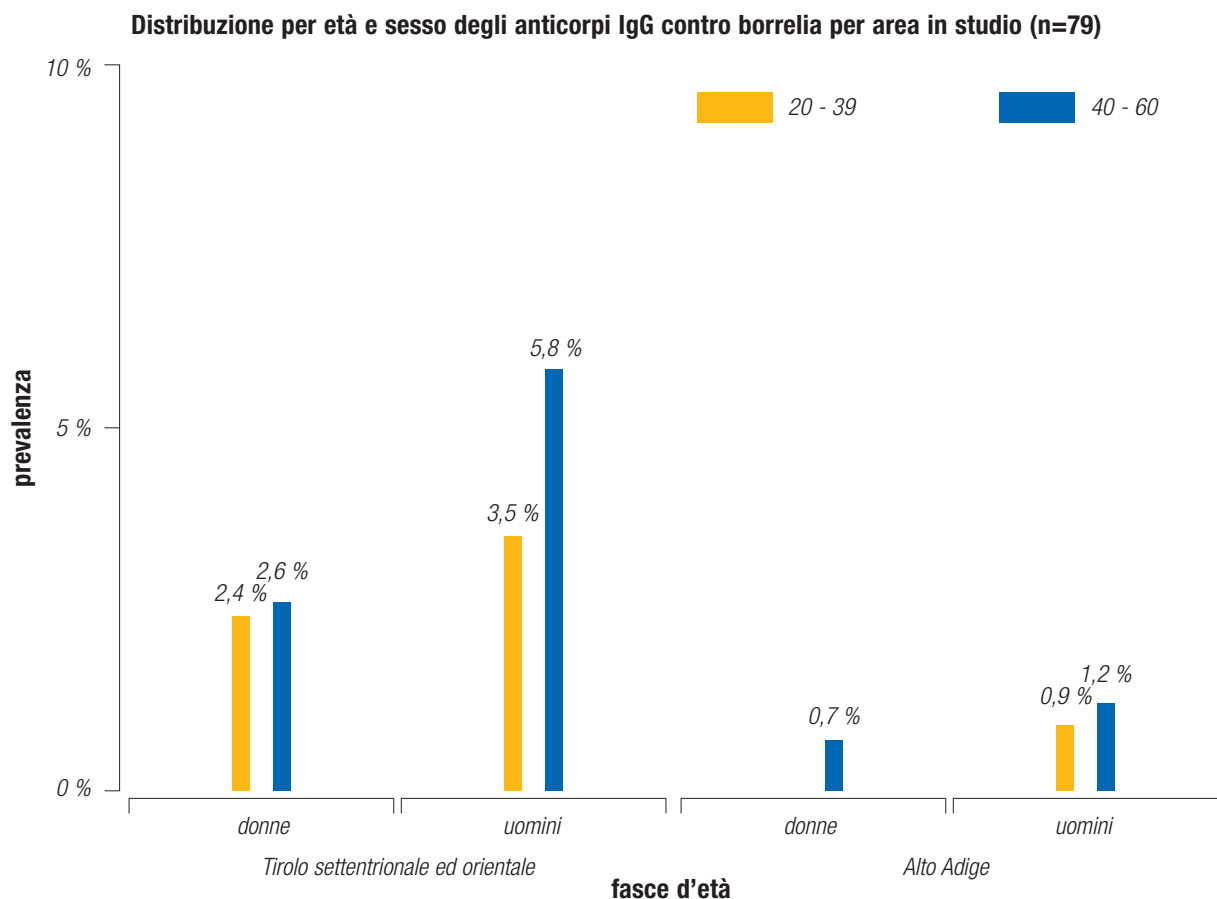
Commento: Naturalmente non è da escludere che anche altri luoghi non indicati nella mappa, possano avere un ruolo importante per una trasmissione della borrelia.

DISTRIBUZIONE PER ETÀ E SESSO

Anticorpi della classe IgG contro *Borrelia burgdorferi* sono stati trovati più frequentemente negli uomini rispetto alle donne ($p=0.004$). La percentuale dei soggetti sieropositivi nella fascia d'età dai 20-39 anni era visibilmente più bassa ($p=0,04$) rispetto alla fascia d'età 40-60

anni (tabella 15). Tra l'età media degli uomini sieropositivi (media 44 anni, min 20 anni, max 60 anni) e quella delle donne (media 43 Jahre, 26-59 Jahre) non vi è differenza (allegato 1, figura 13, tabelle 11 e 12).

Figura 13



Commento: Una sierologia positiva per borrelie era presente in tutte le fasce d'età dei partecipanti selezionati. Il disegno di studio non ci permette di fare affermazioni sui bambini e gli ultrasessantenni.

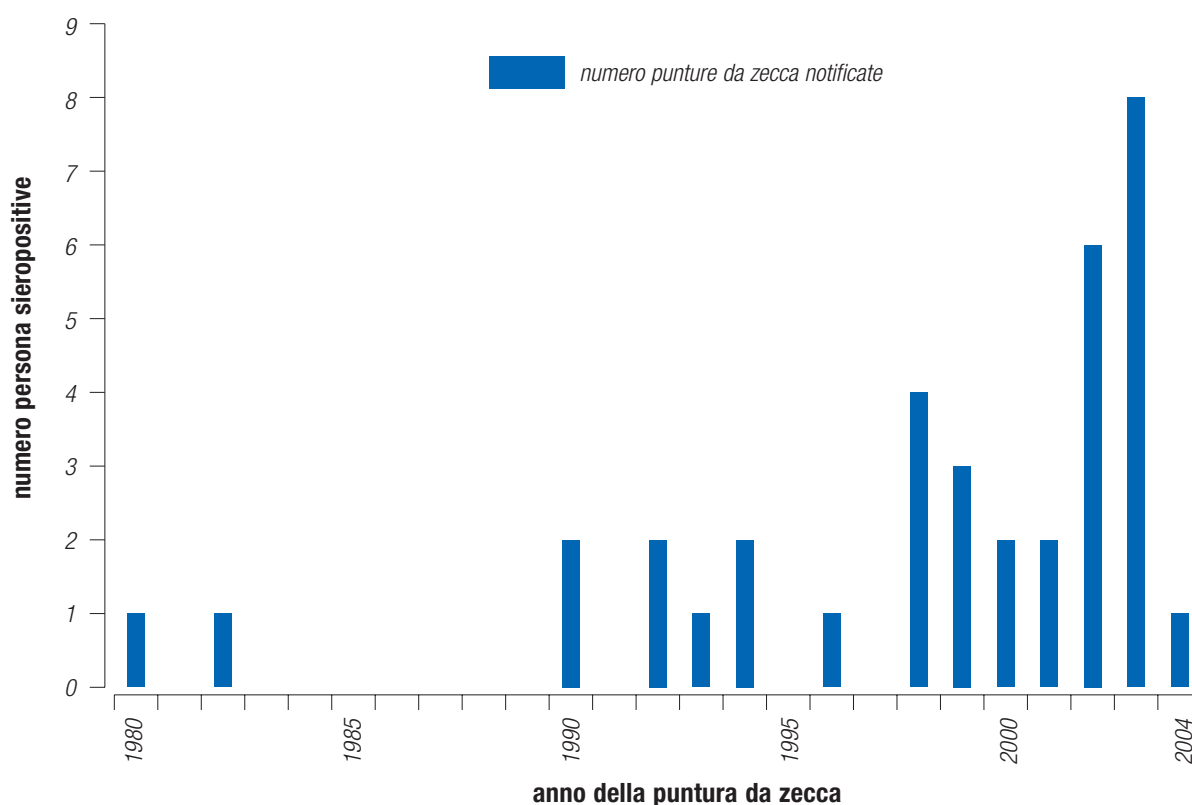
RELAZIONE TEMPORALE TRA LA SIEROPOSITIVITÀ CONTRO BORRELIA E LE PUNTURE DA ZECCA ANAMNESTICHE

Nessuna delle persone che si ricordavano una puntura da zecca prima dell'anno 1980 era sieropositiva per gli anticorpi IgG contro la borrelia (figura 14). Ciò significa o che nel corso

degli anni sono aumentate le infezioni da borrelia o che gli anticorpi contro *Borrelia burgdorferi* calano al di sotto del limite evidenziabile nel corso degli anni.

Figura 14

Numero di persone, che presentano anticorpi IgG contro *Borrelia burgdorferi* sensu lato e che si ricordavano di una puntura da zecca, per anno della puntura ricordata (n= 36); tutte le persone erano provenienti dal bacino idrografico Donau.



Commento: Un „Recall Bias“ è una distorsione dei risultati causata da un'indicazione erronea oppure mancante di punture da zecca avvenute in tempi lontani e quindi difficilmente ricordabili. Nonostante il fatto che persone sieropositive siano state punte da zecche, in particolare negli ultimi anni, indica un aumento dell'infezione (aumento dell'esposizione, basata su una diffusione geografica oppure su un cambiamento delle attività di tempo libero).

FATTORI DI RISCHIO PER LA SIEROPOSITIVITÀ PER ANTICORPI IGG CONTRO BORRELIOSI

Come unico fattore di rischio per una sierologia positiva alle borrelie è stata identificata la puntura da zecca anamnestica. Nell'analisi univariata è stato calcolato un Crude Odds Ratio (OR) di 2,89 (95% CI: 1,76-4,76) (allegato 1, tabella 13).

Delle 37 persone sieropositive, che si ricordavano di una puntura da zecca, due (5,9%) hanno riferito, di non aver rimosso la zecca e sette persone (20,6%) hanno utilizzato ausili inadatti (olio, etc.). In questo studio l'utilizzo di ausili inadatti per la rimozione della zecca (olio, crema, etc.) non era associato ad un elevato titolo anticorpale IgG contro le borrelie (allegato 1, tabella 18).

Commento: Il 49,3% (n=37) delle persone con un titolo anticorpale IgG contro borrelia, ha riferito di ricordarsi di una puntura di zecca, più della metà delle persone che si ricordavano il numero di punture (65,6%; n=21), stimavano un numero di punture inferiore a 6. Delle 36 persone sieropositive, e con una puntura da zecca anamnestica e che ricordavano l'anno dell'ultima puntura, la metà (47,2%) ha riferito che la puntura è avvenuta prima del 2000.

INFORMAZIONI CLINICHE

Solo due delle 28 persone (7,1%), che hanno scoperto un eritema dopo una puntura da zecca, mostravano anticorpi IgG contro le borrelie; il 94,5% delle persone sieropositive non hanno indicato un eritema nell'anamnesi.

Due persone sieropositive (una donna di 38 anni dello Zillertal e un uomo di 57 anni dell'area rurale di Innsbruck) hanno riferito di aver sofferto di mialgie ed artralgie dopo una puntura da zecca, quadro clinico compatibile con quello di una borreliosi nello stadio generale iniziale. Entrambi avevano riferito di essere stati punti da una zecca (nel 1998 e nel 1999). La donna aveva rimosso la zecca con la sola mano, l'uomo invece non l'aveva rimossa affatto.

La donna proveniente dallo Zillertal ha riferito di aver sofferto di ulteriori sintomi influenzali

e cefalea, la borreliosi è stata però diagnosticata più tardi, non sono stati rilevati dati sulla terapia ed sul risultato del trattamento. Aveva riferito di essere stata punta nelle vicinanze del suo luogo di residenza lo Zillertal come anche nella Steiermark.

Entrambi non si ricordavano di sintomi dermatologici compatibili con l'eritema cronico migrante.

Degli ulteriori partecipanti con anticorpi IgG specifici per le borrelie, soltanto una donna di 30 anni dell'area rurale di Innsbruck aveva riferito di aver sofferto di un'anemia da infezione; era vaccinata contro la TBE (aveva ricevuto l'ultima dose del vaccino nel 2004) ed aveva raccontato di essere stata punta da almeno 5 zecche nel 2003.

Commento: *L'ipotesi che un'anemia (infezione) in anamnesi sia una conseguenza di un'infezione da zecca è da giudicare con prudenza in particolare nelle donne giovani, dato che si tratta di un'affermazione soggettiva senza conferma medica e non può essere esclusa una carenza di ferro (p.es. a causa di una gravidanza oppure mestruazioni forti).*

DISCUSSIONE

Infezioni con *Borrelia burgdorferi* sono state documentate nell'intera area in studio, nel Tirolo settentrionale sono state osservate e pubblicate già negli anni 80 infezioni autoctone. Dal 1990 Simeoni ha riportato più di 20 casi in Alto Adige, anche se i dati si riferiscono principalmente al luogo di residenza e non a quello dove è avvenuta la puntura da zecca. Le infezioni acquisite nell'area rurale di Lienz nel Tirolo orientale sono state raccolte da Tiwald nell'ambito di un congresso nel 2001. Nel Tirolo settentrio-

nale e in Alto Adige le borrelie sono state evidenziate nelle zecche con un metodo diretto (Hartl, nel 2004 nell'area di Innsbruck; Cacciapuoti nel 1995 a Caldaro); solo nel Tirolo orientale queste ricerche non sono state eseguite.

Scopo della presente ricerca non era quello di dimostrare principalmente le infezioni autoctone con la *Borrelia burgdorferi* nell'area, ma di confrontare la prevalenza con quella delle aree confinanti.

CONFRONTO CON LE REGIONI CONFINANTI

Negli ultimi anni nel Tirolo settentrionale sono state pubblicate una serie di studi sulla sieroprevalenza, ma in gran parte dei casi sono state campionate persone con un rischio di esposizione presumibilmente alto (cacciatori, forestali, boscaioli). Sono stati osservati tassi di infezione tra il 3,2% in Lombardia ed il 22,3% nel Friuli; in Italia Santino ha stimato in media una prevalenza del 7,3% nei soggetti con un rischio di esposizione alto e dell'1,3% nelle persone con un rischio di esposizione basso. Per l'area confinante al sud della Germania Kaiser ha stimato una prevalenza del 12-16%, nell'Austria orientale è stato riferito un tasso d'infezione del ca. 42% per i cacciatori.

Sia i dati rilevati in questo studio per il bacino idrografico del Donau al nord ed al sud delle Alpi, come anche quelli relativi al bacino idrografico dell'Adige sono evidentemente più bassi di quelli delle regioni confinanti.

Questi risultati dipendono dalla metodica. Il metodo a due fasi utilizzato per questo studio, che segue le raccomandazioni della conferenza di consenso europea (u.a. Hauser 1999), è significativamente più specifico dei metodi di analisi a uno stadio, che sono stati utilizzati in parte negli altri studi.

Il campione di popolazione esaminato rappresenta un ulteriore fattore che influenza la sieroprevalenza rilevata. Nel Tirolo settentrionale come anche nell'Austria orientale sono stati esaminati i gruppi a rischio. In questo studio la loro quota corrisponde a quella nella popolazione normale: nel Tirolo settentrionale ed orientale il 4,5% della popolazione svolgeva attività agricole e forestali (3,3% dei partecipanti allo studio) e ca. il 2,7% erano proprietari di un permesso di caccia (3% dei partecipanti allo studio). In Alto Adige il 4,0% dei partecipanti allo studio svolgeva attività agricole e forestali (4,5% della popolazione intera).

È probabile, che il campione dello studio non possa essere diviso in donatori con rischio di esposizione basso e con rischio di esposizione lavorativo alto. Un'indagine di ca. 100 persone con infezioni con virus TBE oppure borreliosi clinicamente e sierologicamente confermate, eseguita da Tiwald nel 2001, ha mostrato che più della metà si era infettata durante il tempo libero. Più del 90% dei donatori partecipanti allo studio ha riferito di esercitare attività all'aperto, più di un 1/3 dei partecipanti del Tirolo settentrionale si ricordava con certezza di una puntura da zecca avvenuta precedentemente. Attività lavorative che vengono eseguite all'aperto non aumentano il rischio di un contatto con l'agente patogeno nel presente campione di popolazione

(il rischio relativo per i cacciatori e le persone attive in agricoltura di ricordarsi di una puntura da zecca è pari all'1,51 (95% intervallo di confidenza 0,77-2,94) e non è statisticamente significativo. I donatori del Tirolo non possono essere classificati come gruppo di persone con un rischio di esposizione alle zecche inferiore.

Considerando tutti i fattori, la sieroprevalenza nel bacino idrografico del Donau dovrebbe essere pari a quella dell'area sud della Germania e inferiore a quella della parte del bacino idrografico del Donau appartenente alla regione federale dell'Austria orientale. La sieroprevalenza in Alto Adige è al di sotto dei valori rilevati per le altre regioni del nord d'Italia.

IL VALORE RILEVATO CORRISPONDE ALLA REALTÀ?

La sieroprevalenza rilevata è rappresentativa per il gruppo di donatori e corrisponde soltanto approssimativamente a quello dell'intera popolazione. Punture da zecca al di fuori dell'area esaminata come anche reazioni crociate aspecifiche possono portare ad una sovrastima della prevalenza, mentre la formazione insufficiente di anticorpi oppure la perdita di anticorpi a seguito di un'infezione primaria possono portare ad una sottostima.

Il metodo di analisi in due fasi dovrebbe minimizzare l'influsso delle reazioni crociate sui risultati.

Tuttavia esistono punti di riferimento per una sottostima della sieroprevalenza per lo meno per quanto riguarda il bacino idrografico del

Donau: solo la minoranza delle persone che si ricordavano di una lesione simile all'eritema cronico migrante (EM), mostravano anticorpi contro *Borrelia burgdorferi*. Osservazioni simili sono state fatte fra l'altro da Kaiser nel 1997 in pazienti provenienti dalla Germania del sud. Anche se questo studio non permette di distinguere tra una lesione anamnesticca a causa di un EM ed una reazione locale non specifica, la formazione di anticorpi specifici sembra non aver avuto luogo oppure i titoli si sono abbassati al di sotto del limite di conferma col passare del tempo. È noto che la formazione di una risposta immuno-specifica può essere soppressa dall'assunzione di antibiotici, un effetto simile compare dopo un'infezione spontanea autolimi-

tante, specialmente in caso di una borreliosi cutanea.

L'abbassarsi del livello IgG al di sotto del limite di conferma 12 e più mesi dopo la terapia è stato osservato in singoli casi in ambito ad una diagnostica di routine, ma mancano esami sistematici. Tra i soggetti sieropositivi dello studio si trovavano anche persone che erano state punte da una zecca più di 10 anni fa, ma non è noto se ciò è dovuto ad un'esposizione multipla

oppure ad una reazione antigena duratura e asintomatica oppure al fatto che i loro sintomi non sono stati correlati ad una puntura da zecca o associati ad una borreliosi.

Il numero ridotto di soggetti sieropositivi del bacino idrografico Adige non permette di fare ipotesi, ma non c'è motivo di affermare che il decorso della risposta immune dei partecipanti del bacino idrografico Donau non sia differente.

CI SONO INDICAZIONI RELATIVE ALL'AUMENTO DELLA MALATTIA OPPURE A DIFFERENZE REGIONALI AL INTERNO DELL'AREA STUDIATA?

Nel Tirolo settentrionale ed orientale la sieroprevalenza è stata rilevata già nel 2000/2001 da Tiwald con un metodo simile, i tassi di prevalenza (allora 8,4 %, adesso 7,1%) non erano significativamente differenti ($p=0.33$).

La malattia non sembra essersi estesa nell'area negli ultimi quattro anni. Anche l'elevata infezione del gruppo di persone tra 40-60 anni parla a favore di una presenza duratura dell'agente patogeno nel bacino idrografico del Donau, in presenza di un nuovo patogeno con un simile comportamento espositivo l'infezione avrebbe colpito entrambi i gruppi.

Nel bacino idrografico dell'Adige mancano indagini precedenti e il numero di soggetti positivi è troppo ridotto per effettuare un'analisi dettagliata. La stima di Ciceroni, che nel 1998 ha indicato l'Alto Adige come zona più esposta di tutta l'Italia, è in contraddizione con la prevalenza relativamente bassa dei soggetti sieropositivi, ma sosterebbe l'affermazione di un avanza-

mento dell'agente patogeno nell'area oggetto dello studio. Un ulteriore esame tra ca. 5 - 10 anni potrebbe dare chiarimenti a riguardo.

Lungo l'Inntal la sieroprevalenza contro le borrelie è tendenzialmente in diminuzione, osservazione attendibile vista la correlazione tra l'altitudine sul livello del mare e la probabilità di un'infezione. Anche per le babesie e l'HGE può essere osservata una tendenza simile ma meno marcata: persone residenti a più di 1200m sul livello del mare, mostrano una sieroprevalenza più bassa (2,1%, $n=3$) rispetto alle persone residenti al di sotto di 1200m sul livello del mare (5,2%, $n=76$; $p=0,1$), ma la differenza non è significativa.

I dati dell'Außerfern e del Tirolo orientale contraddicono questa osservazione anche se nella parte superiore del singolo bacino idrografico sono state rilevate prevalenze evidentemente più alte. Dato che nello studio non sono

state considerate le aree confinati in Baviera oppure Carinzia, non si può escludere una riduzione della sieroprevalenza lungo il fiume a Lech e a Drau. Gran parte della popolazione delle due regioni è concentrata rispettivamente attorno a Reutte e a Lienz/Nussdorf-Debant nelle parti incavate dei singoli distretti. Per il bacino idrografico dell'Adige non è stata possibile fare affermazioni a causa del ridotto numero di soggetti positivi.

Appare strano, che nel bacino idrografico dell'Adige le infezioni con la *Borrelia burgdorferi* siano meno frequenti in confronto al bacino idrografico del Donau, ma questo risultato è sostenuto dal fatto che la sieroprevalenza è bassa come anche il numero di partecipanti altoatesini che si ricordavano di un eritema cronico migrante.

È probabile che questa differenza abbia origine principalmente dalla diffusione ridotta del vettore principale *Ixodes ricinus*, dato che i partecipanti del bacino idrografico dell'Adige hanno riferito molto meno punture da zecca dei soggetti del bacino idrografico del Donau e avevano una sieroprevalenza significativamente più bas-

sa per lo meno per i patogeni trasmessi attraverso l'*Ixodes ricinus* come le borrelie, le babesie, oppure gli anaplasmi (Tirolo settentrionale ed orientale 13,3% verso 9,7% in Alto Adige, $p=0,03$).

In studi precedenti *Ixodes ricinus* è stato trovato lungo l'Adige fino in Val Venosta e nella Val Isarco.

Un motivo per la sieroprevalenza differente può essere il basso tasso di infezione dei vettori che si collegano a loro volta alla diffusione degli ospiti in generale oppure a quelli infetti. Descrizioni zoologiche non mostrano differenze significative tra lo spettro dei serbatoi nel bacino dell'Adige e in quello del Donau, ma bisognerebbe eseguire ulteriori esami delle zecche e dei serbatoi selezionati in tutta l'area oggetto dello studio.

Anche la sopra discussa diffusione della borreliosi in tutta l'area in esame potrebbe spiegare la differente sieroprevalenza. Strategie per confermare quest'ipotesi sono già state menzionate nelle pagine precedenti.

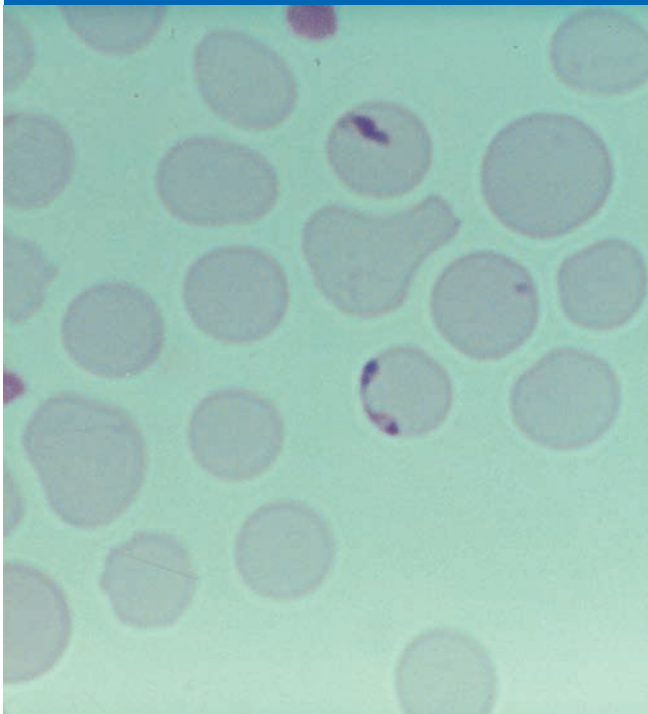
RACCOMANDAZIONI

I medici del Tirolo settentrionale ed orientale sono ben informati sulla presenza della borreliosi, è disponibile una diagnostica adeguata, anche se non esiste un marker sierologico attendibile per la differenziazione tra una borreliosi in atto e una già superata. Un confronto dei dati sierologici rilevati nell'ambito dello studio con quelli di pazienti sintomatici mostra che adeguando i valori di cut-off il valore predittivo nella diagnostica delle borrelie migliora.

Anche in Alto Adige si dovrebbe informare i medici responsabili per l'assistenza di base sulle diverse forme della malattia in modo che possano considerarle nella diagnostica differenziale.

I dati rilevati mostrano che è necessario considerare in tutta l'area in studio la possibilità di presenza di pazienti con borreliosi. I medici responsabili per l'assistenza di base dovrebbero essere a conoscenza dei sintomi specifici e includere la borreliosi nella diagnosi differenziale. A prescindere dal tipico eritema migrante è necessaria, come spiegato sopra, la conferma della diagnosi valutando il referto sierologico e il quadro clinico e in certi casi (artrite da borreliosi, stadio iniziale di una paralisi facciale periferica nei bambini) è sensato confermare direttamente l'agente patogeno tramite PCR. Il sospetto di una neuroborreliosi dovrebbe essere sempre confermato attraverso un esame del liquor. Non è tuttavia possibile – visto il numero limitato di campioni positivi - individuare un tipo di referti che dopo un unico esame confermi o escluda la presenza di una borrelia florida.

Babesie



Babesiosi: agente patogeno sulla striscia di sangue

Foto: Dr. Humphries

Babesie

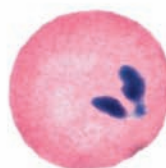
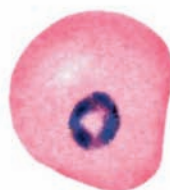
DEFINIZIONE

La babesiosi è un'infezione degli eritrociti da parte di un protozoo della specie *Babesia spp.* che generalmente decorre lieve e che si aggrava soltanto in rari casi.

AGENTE PATOGENO

Il genere *Babesia spp.* comprende un gruppo di organismi monocellulari con un ciclo di vita a tre fasi che comprende la riproduzione sessuata (gamogonia) nelle zecche, la formazione di spore infettive (sporogonia) nella ghiandola salivale delle zecche ed una riproduzione asessuata attraverso bipartizione (schizogonia) negli eritrociti di animali vertebrati. I gamonti formati negli animali vertebrati vengono assunti dalle zecche e sono i precursori per l'evoluzione femminile e maschile dei gamonti nell'ospite antropode. Una trasmissione verticale nelle zecche è stata descritta per alcuni dei generi di babesia.

La grande varietà di tipi di babesia conosciuti, ma in parte non classificati, può essere raggruppata in cinque cluster filogenetici imparentati. Di questi cluster uno si raggruppa attorno *Babesia (B.) microti*, *B. rodhaini*, *B. felis* e *B. leo*; uno intorno *B. bigemina*, *B. caballi*, *B. ovis* come anche *B. bovis* ed un ulteriore attorno *B. divergens*, *B. canis*, *B. gibsoni* e *B. odocoilei*. Esami eseguiti su bovini hanno dimostrato che sierologicamente esiste una notevole reazione crociata tra i rappresentanti degli ultimi due gruppi, mentre reazioni crociate tra *B. microti* e *B. divergens* sono meno evidenti.



Babesiosi: grafiche di Vienna,

Foto pubblicate in Emerg. Inf. Dis

LA PRESENZA

Le babesie sono presenti in tutto il mondo. In Europa centrale sono presenti fra l'altro *B. divergens*, *B. bovis*, *B. bigemina*, e *B. major*, di cui *B. divergens* e la *B. bovis* sono dal punto di vista medico veterinario maggiormente rilevanti per

la medicina umana come già detto, *B. divergens* è di particolare interesse. *B. microti* è stata identificata in Europa centrale in singole zecche, ma in medicina veterinaria tale patogeno non è considerato rilevante.

SERBATOIO

In Europa centrale i bovini rappresentano il serbatoio principale per *B. divergens*, che dopo l'infezione rimangono parassitemici per anni

senza particolari sintomi di malattia. Per *B. microti* i roditori sono il serbatoio principale.

TRASMISSIONE

In Europa centrale *Ixodes ricinus* (zecca del cane) è stato identificato come vettore principale per *B. divergens*. Una serie di lavori ha dimostrato che l'agente patogeno viene trasmesso dalle femmine adulte durante il pasto di sangue e viene trasmesso verticalmente attraverso infezioni transovariali a più generazioni. L'infezione di mammiferi avviene attraverso la puntura di una larva oppure in una zecca adulta. Negli Sta-

ti Uniti sono state recentemente descritte le infezioni con *Babesia microti* attraverso conserve di sangue di donatori asintomatici; da studi medico-veterinari risulta lo stesso rischio per *Babesia divergens*. Una trasmissione interumana non è conosciuta.

Come per *B. bovis* e *B. bigemina* anche per *B. divergens* la trasmissione nei bovini avviene in maniera transplacentare.

GRUPPI A RISCHIO

Un'infezione da *Babesia divergens* oppure con il ceppo *EU 1* acquisita in Europa è stata osservata in pazienti splenectomizzati, ma si sospetta un rischio elevato di infezione anche per pazienti immunosoppressi oppure HIV-posi-

tivi e persone con una patologia che porta alla cachessia. Probabilmente qualsiasi persona può ammalarsi di babesiosi. Nei bovini l'infezione provoca un'immunità permanente, per gli uomini non ci sono dati a riguardo.

PERIODO DI INCUBAZIONE

Il periodo di incubazione è variabile tra una e otto settimane. Dopo un'esposizione prolungata

è stata riferita una recrudescenza dei sintomi per mesi e anni.

QUADRO CLINICO

Nell'uomo la babesiosi può essere causata da diversi tipi di babesie: in America sono state osservate prevalentemente infezioni con *Babesia microti*. Gran parte dei casi europei erano da ricondurre alla *Babesia divergens*, in base ad un esame sierologico senza caratterizzazione biomolecolare dell'agente patogeno. In Austria e in Italia sono stati identificati due casi di babesiosi causati da un ceppo (ceppo EU 1) imparentato con la *Babesia odocolei*. Secondo le conoscenze attuali le infezioni con *Babesia microti* non hanno rilevanza per l'Europa.

Le babesiosi sono state osservate fino ad oggi soltanto in pazienti splenectomizzati, i decorsi erano in gran parte gravi e nel ca. 30% terminavano in modo mortale. Nei pazienti con milza intatta l'infezione è caratterizzata da una parasitemia poco marcata ed ha un decorso lieve a volte subclinico.

Dopo un periodo d'incubazione da una a due settimane, accompagnato da sintomi prodromici aspecifici come stanchezza e malessere, ha inizio la malattia acuta con febbre, emoglobinuria, malessere, cefalea e mialgia, brividi di febbre, sudorazioni come anche dolori addominali. Il quadro è simile a quello della malaria, ma dato che lo sviluppo delle babesie non sincronizza, la febbre permane durante tutto il decorso e non si presenta in regolari ondate. Il fegato diventa più grosso e doloroso, in casi di decorso grave della malattia i pazienti sono itterici. Dal punto di vista diagnostico si evidenzia un'anemia emolitica con un aumento indiretto della bilirubina, della LDH, anemia e trombopenia. I leucociti rimangono al livello normale.

CONFERMA DELLE BABESIE

La conferma delle babesie avviene tramite PCR di un sangue EDTA o attraverso un esame microscopico dell'agente patogeno negli eritociti con una colorazione della striscia di sangue con Giemsa o acridin-arancio. La percentuale di cellule infette varia a seconda della gravità del-

la sintomatologia tra 1 e 80%. In medicina veterinaria si utilizzano sistemi di test sierologici IFT-oppure su base ELISA, tali test devono essere adattati se utilizzati in diagnostica umana.

Per verificare i test utilizzati per lo studio consultare l'allegato 2.

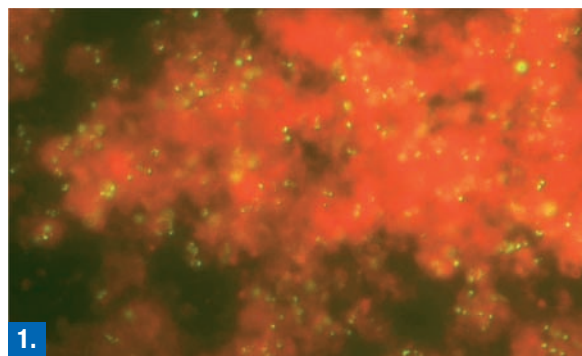
TERAPIA

Medicinali contro la malaria come il cloroquina, chinina, meflochina, pentamidina e pirimetamina non hanno effetto. Un caso di babesia è stato trattato con pentamidina e cotrimoxazolo, ma è rimasta una sintomatologia lieve, la nefrotossicità. Il pentamidina non è consigliato nei pazienti con una marcante emolisi. Una terapia con clindamicina (3 x 600mg/d iv) in combinazione con chinina (3x 650 mg/d per os) per più

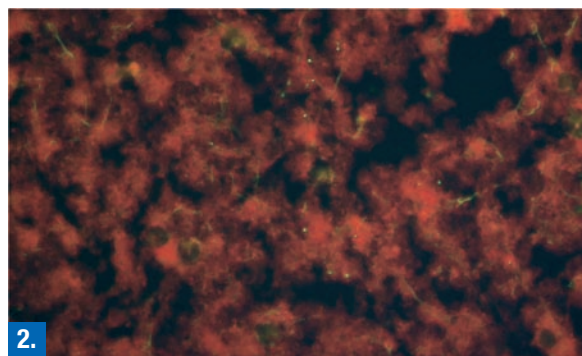
di 15 giorni ha raggiunto fino ad oggi i risultati migliori e sembra eliminare anche parassitemia residuale post infettive. Trasfusioni di sangue, dialisi ed interventi di medicina intensiva possono essere necessari durante lo stadio acuto.

RISULTATI DI LABORATORIO

Nella area oggetto dello studio il 2,4% (n=38) dei campioni è risultato positivo al test di conferma degli anticorpi IgG per babesia. Le prevalenze nei due bacini idrografici Adige (Alto Adige senza San Candido, Sesto e Dobbiaco) e Donau (Tirolo settentrionale ed orientale con San Candido, Sesto e Dobbiaco) non erano significativamente differenti, vale a dire 2,1% per il bacino idrografico del Donau e 2,7% per il bacino idrografico dell'Adige. Il valore del titolo anticorpale IgG era significativamente più elevato per il bacino idrografico dell'Adige ($p=0,01$) rispetto al bacino idrografico del Donau: mentre in Alto Adi-



1.



2.

1. Babesiosi: Test IgG positivo

2. Babesiosi: Test IgG negativo

Foto: propria

ge il 75,0% (n=9) dei campioni positivi mostravano un titolo > 1:128 nel Tirolo settentrionale

ed orientale tale percentuale era del 25% (n=3) (allegato 1, tabella 15).

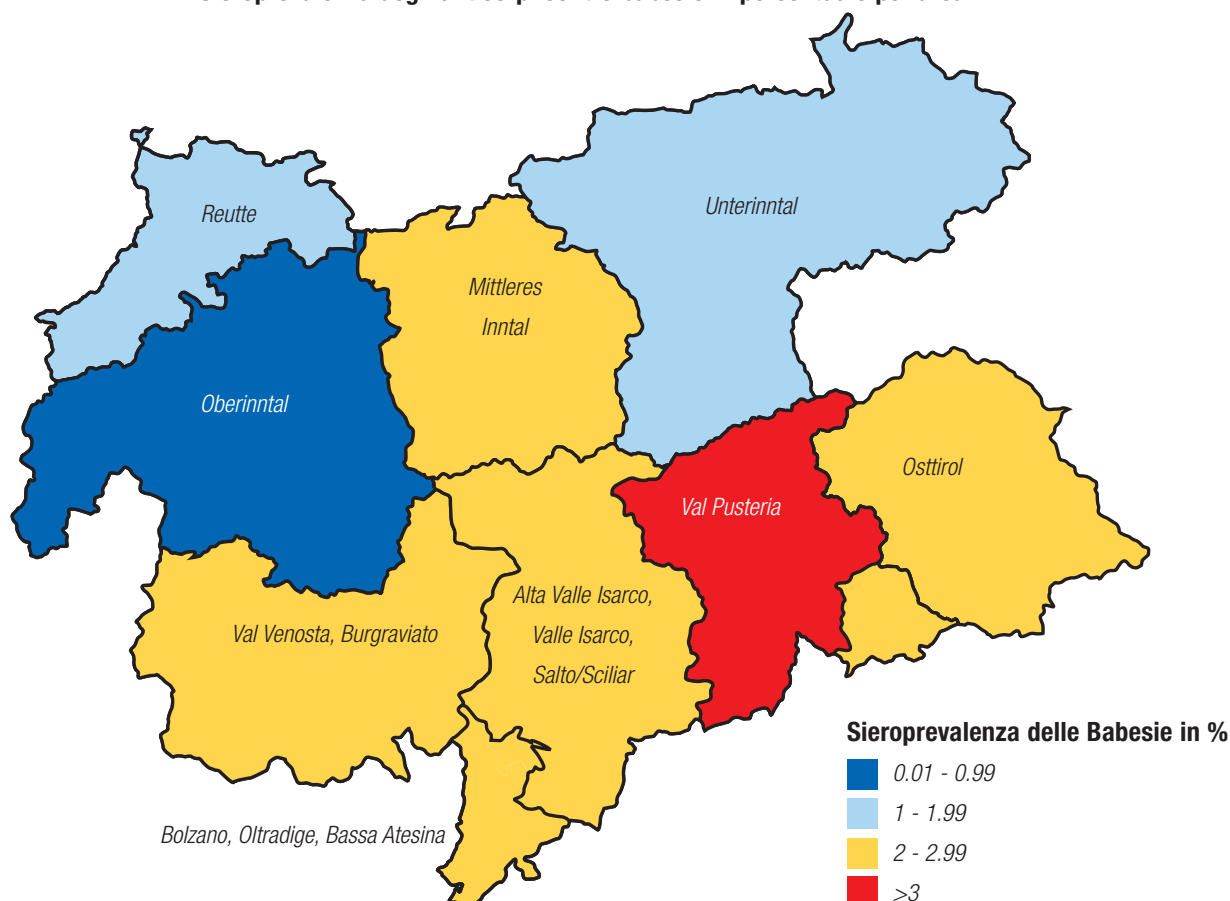
DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DELLE PERSONE SIEROPOSITIVE PER AREA

La sieroprevalenza degli anticorpi contro babesie nella popolazione indagata in Val Pusteria allo sbocco dell'Adige (eccetto San Candido, Sesto e Dobbiaco) era con il 5,3% (n=5) quasi il doppio di quella nelle altre aree. Valori di prevalenza simili sono stati osservati nell'Inntal centrale e a Bolzano-Bassa Atesina-Oltradige con il

2,8% ciascuno (n=11 risp. n=6), seguiti dalla Valle Isarco-Val di Vizze-Salto-Sciliar e dalla Val Venosta-Burgraviato con il 2,1% ciascuno (n=6 risp. n=3), l'Unterinntal con l'1,9% (n=6), Reutte con l'1,7% (n=1) e l'Oberinntal con lo 0,7% (n=1). (Figura 15, allegato 1, tabella 15).

Figura 15

Sieroprevalenza degli anticorpi contro babesie in percentuale per area

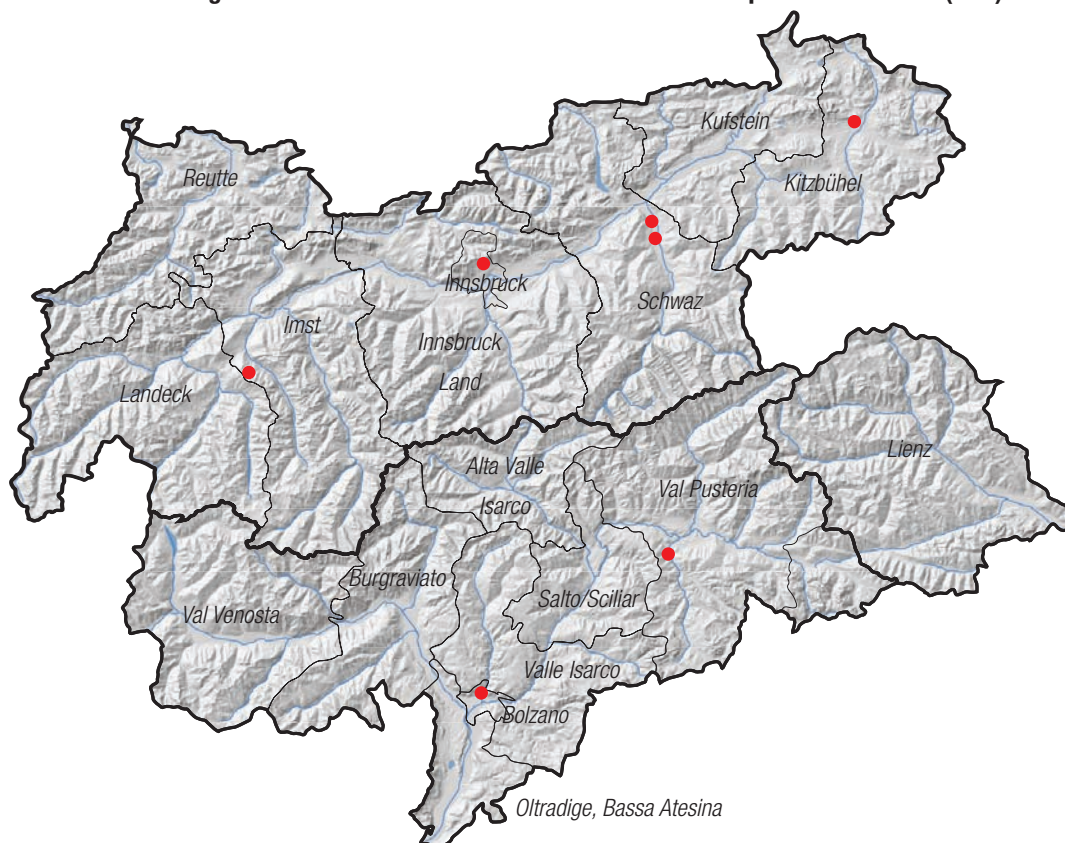


Mentre solo poche persone sieropositive avevano un'anamnesi da zecca positiva (figura 16), nella raffigurazione dei luoghi di infezione

possibili senza puntura da zecca risultano in particolare l'Oltradige e il distretto Innsbruck (figura 16 e 17, allegato 1, tabella 16)

Figura 16

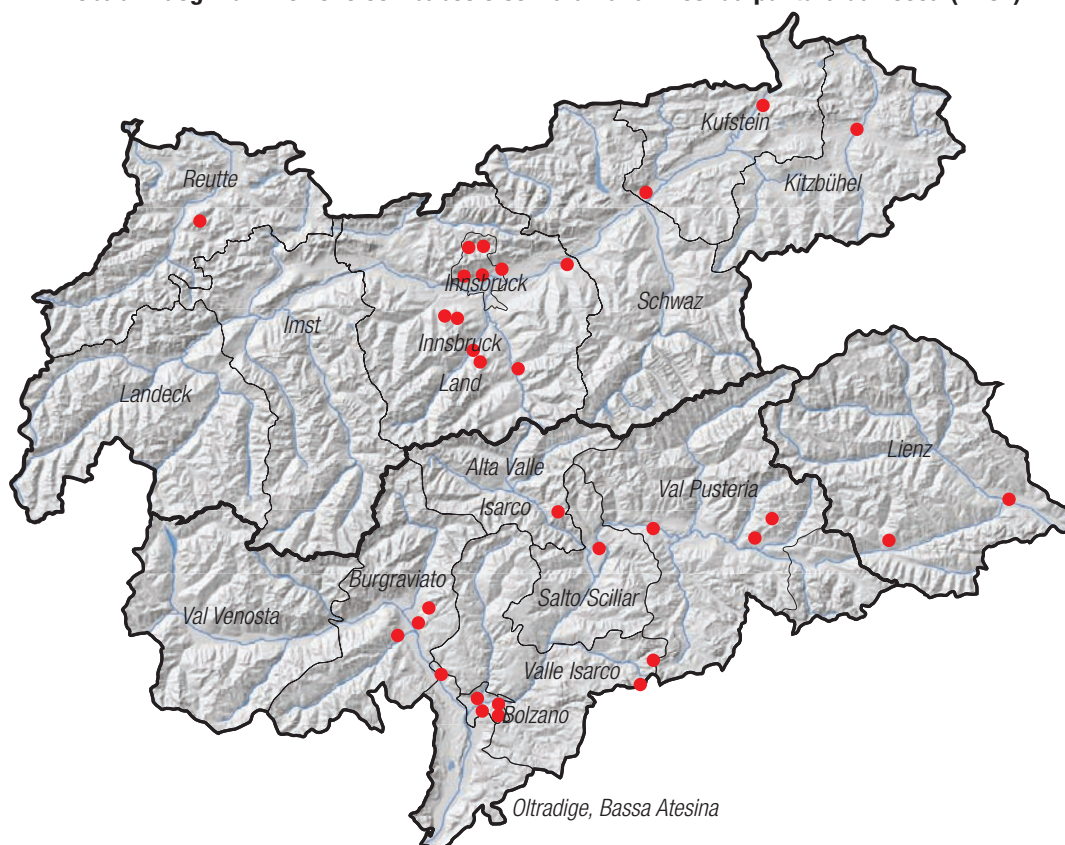
Probabili luoghi di infezione con babesie con un'anamnesi da puntura da zecca (n=7)



● luogo della puntura da zecca

Figura 17

Probabili luoghi di infezione con babesie senza un'anamnesi da puntura da zecca (n=32)



● luogo di residenza delle persone sieropositive

Commento: Non sembra esserci un'associazione tra la sieropositività contro babesie e la frequenza delle punture da zecca ricordate. Questo fatto potrebbe indicare che la trasmissione delle babesie avviene spesso attraverso le ninfe, la cui puntura viene ricordata raramente, oppure che le babesie vengono trasmesse da altri vettori oppure attraverso prodotti di animali infetti (nella letteratura non esistono ipotesi a riguardo). Potrebbe anche dipendere dal fatto che le punture da zecca che causano la malattia sono avvenute in tempi così remoti da non essere più ricordate dai soggetti esposti. Dato che il numero di persone positive è basso ed il numero di partecipanti per area studiata è differente, non si può escludere che si tratti di una coincidenza.

DISTRIBUZIONE PER ETÀ E SESSO

Le donne (3%, n=24) avevano più frequentemente un titolo anticorpale IgG positivo rispetto agli uomini (1,7%; n=14), ma la differenza non è statisticamente significativa ($p=0,09$).

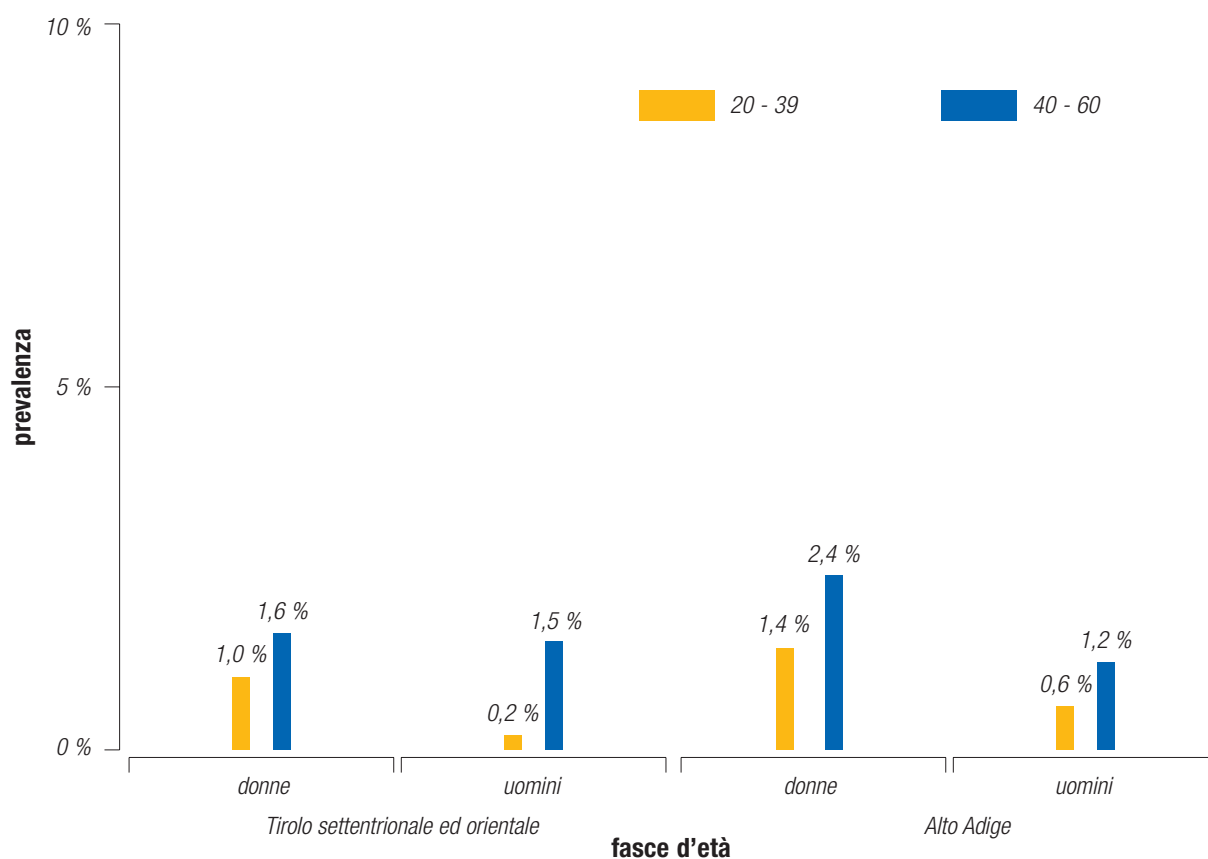
In tutte e due le aree studiate la fascia d'età 20-39 anni aveva meno frequentemente

($p=0,01$) un titolo anticorpale IgG positivo (1,4%; n=12) rispetto alla fascia d'età 40-60 anni (3,4%; n=26). La distribuzione per età e sesso nell'area oggetto dello studio è visibile nella figura 18 e nelle tabelle 17 e 18 dell'allegato 1.

Commento: Considerando le singole fasce d'età per sesso e area studiata sembrano essere colpiti in particolare soggetti di età avanzata, ed in Alto Adige in particolare donne di età avanzata.

Figura 18

Distribuzione per età e sesso degli anticorpi IgG per babesie per area in studio (n=38)



FATTORI DI RISCHIO PER BABESIOSI

Non si è osservata alcuna associazione tra i potenziali fattori di rischio analizzati e la sieropositività contro babesie (allegato 1, tabella 19).

Soltanto una persona sieropositiva ha riferito di occuparsi di attività agricole.

INFORMAZIONI CLINICHE

Una donna di 49 anni dell'Alto Adige (Burggraviato) con un anticorpo IgG positivo ha riferito di aver sofferto nel 1984 di un'anemia non provocata da una carenza di ferro. È risultata negativa all'anamnesi da puntura di zecca. Delle persone che hanno riferito di aver sofferto di

febbre, sintomatologia influenzale e mialgie dopo una puntura da zecca, soltanto una persona di 40 anni di Bolzano aveva anticorpi contro babesie. Si ricordava di parecchie punture da zecca, ma erano tutte avvenute fuori Bolzano.

Commentor: *In assenza di ulteriori dati clinici non è possibile fare affermazioni sul nesso causale tra babesiosi ed i disturbi riferiti.*

DISCUSSIONE

Sia in Austria che in Italia è stato riferito di un'infezione autoctona con un genere di babesia che geneticamente fa parte della famiglia della *B. divergens*, ceppo EU 1. Nonostante queste

osservazioni in tutti e due gli Stati non sono stati pubblicati dati di sieroprevalenza. Lo scopo di questo studio era valutare se nei donatori fossero presenti anticorpi collegati alla *B. divergens*.

CONFRONTO CON LE REGIONI CONFINANTI

I tassi di sieroprevalenza contro le babesie, in particolare contro *Babesia divergens*, sono state analizzate raramente nella popolazione europea. Hunfeld ha stimato il 3,6% dei donatori sieropositivi dell'area Rhein-Main, nella Svizzera orien-

tale Foppa ha dimostrato l'1,5% dei donatori esaminati per anticorpi contro *B. microti*. I dati di prevalenza rilevati attraverso questo studio per le sopracitate due aree sono simili a questi.

IL VALORE RILEVATO CORRISPONDE ALLA REALTÀ?

A prescindere dai limiti di un'indagine sieropidemiologica già discussi nel capitolo sulla borreliosi, la diagnostica della babesiosi mostra alcune difficoltà: il gruppo delle babesie è eterogeneo e fino ad oggi non è chiaro quali dei rappresentanti provochino una risposta immunologica oppure un'infezione sintomatica nel uomo. Per lo studio è stato quindi scelto un ceppo contro il quale sia in caso di infezione con il ceppo EU 1 come anche in caso di infezione con altri generi di babesie rilevati in bovini in Austria è attesa una risposta immunologica. Per il ceppo EU 1 questa risposta è stata testata con un siero originale di un paziente, per *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Babesia maior* è stata accertata da Edlinger su bovini.

Quindi i valori riferiti non sono da considerare come una sieroprevalenza contro *Babesia divergens sensu stricto*, ma corrispondono più ad una reazione immunologica contro tutte le babesie geneticamente inparentate con *Babesia*

divergens. Per questo infezioni da *B. microti* non vengono rilevate con certezza, cosa che non era neanche scopo dell'indagine.

Per mantenere il numero di reazioni crociate aspecifiche il più basso possibile, il valore di cut-off è stato stabilito secondo le indicazioni dell'OMS con sieri ben definiti e sono state escluse reazioni con cellule parietali attraverso test con eritrociti non infetti per ogni siero positivo. Nonostante metodi di test monofasici il rischio di reazioni aspecifiche rimane abbastanza alto e utilizzando un test di conferma i tassi di prevalenza risulterebbero certamente un poco inferiori.

Non sono noti studi che accertino il persistere dell'immunità nell'uomo dopo una babesiosi. Il numero elevato di infezioni nella fascia d'età tra i 40 e 60 anni come anche il fatto che in almeno due pazienti sieropositivi l'ultima puntura da zecca anamnesticamente risalga a più di 10 anni sembrerebbero rafforzare queste ipotesi.

CI SONO INDICAZIONE RELATIVE AD UN AUMENTO DELLA MALATTIA OPPURE RIGUARDO A DIFFERENZE REGIONALI ALL'INTERNO DELL'AREA STUDIATA?

Appare interessante il fatto che non è stato possibile identificare una correlazione statistica tra un'anamnesi positiva da zecca e la presenza di anticorpi contro *Babesia divergens*. Questo potrebbe derivare dal fatto che le punture da zecca che hanno indotto la malattia sono avvenute in tempi così remoti da non essere più ricordate da parte dei soggetti, oppure si potrebbe ipotizzare una trasmissione attraverso altri vettori oppure attraverso alimenti di origine animale infetti. Per lo meno per *Babesia divergens* non esistono indicazioni in letteratura su una trasmissione con vettori diversi dalle zecche; non esistono indagini sul ruolo di alimenti infetti come ad esempio il latte nella trasmissione dell'agente patogeno.

Il fatto che specialmente persone di età avanzata mostrino anticorpi contro babesia, sembrerebbe avvalorare l'ipotesi di un aumento dell'infezione nel corso della vita con una risposta immunologica persistente del soggetto e fa quindi escludere una recente crescita della diffusione dell'agente patogeno nell'area studiata. La sieroprevalenza nella fascia d'età 40-60 anni potrebbe essere influenzata dal cambiamento delle abitudini di vita e lavorative degli agricoltori, avvenute a partire dal dopoguerra (le persone di età tra i 40 e 60 anni sono nate tra il 1940 ed il 1960) e a causa del quale è anche l'esposizione cambiata (p.es. raccolta manuale del fieno in passato; produzione meccanica del foraggio in silos utilizzando macchinari oggi).

Degno di nota è anche il fatto che nella Val Pusteria appartenente al bacino idrografico

dell'Adige è stata rilevata la sieroprevalenza contro *Babesia divergens* più alta.

Questo non è riconducibile né ad una maggiore diffusione del vettore né ad un'alta frequenza di punture da zecca, dato che la Val Pusteria è l'area in cui è stato riferito il numero minore di punture da zecca, persino tra i distretti altoatesini questa è al terz'ultimo posto (dopo la Val Venosta e la Val Isarco). In base ai dati rilevati nella popolazione della Val Venosta non è stato neanche rilevato un comportamento a rischio più frequente. Tuttavia il patrimonio bovino della Val Pusteria è con il 32% quello di gran lunga più numeroso di tutta l'area altoatesina seguito dal Salto Sciliar con il 20% e la Val Venosta e la Valle Isarco con rispettivamente il 13%. Questa situazione potrebbe essere causata dalla presenza di focolai iperendemicici con una percentuale di zecche infette molto elevata. La formazione di focolai iperendemicici viene favorita dalla capacità di trasmissione transovarica delle babesie da parte di *Ixodes ricinus*. Se nella vegetazione limitrofa al pascolo in cui sono presenti bovini infetti si trovano zecche, le femmine possono infettarsi durante il pasto di sangue trasmettendo l'agente patogeno alla progenie. In questo modo si forma un focolaio con un numero elevato di zecche infette, che trasmettono l'agente patogeno ai bovini ma anche agli uomini attivi nelle relative aziende agricole. Non sono state eseguite indagini sistematiche sull'esistenza di focolai iperendemicici, uno studio comparato su bovini e zecche da aree con sieroprevalenze differenti potrebbe dare ulteriori indicazioni sulla presenza di tali focolai.

Corrispondente era anche la frequenza della sieroprevalenza degli anticorpi contro babesie tra i partecipanti, per cui i residenti in luoghi a partire dai 1200 m di altitudine mostravano una sieroprevalenza dell'1,4% (n=2) leggermente più bassa di quella dei residenti in luoghi di altitudine più bassa (2,5%, n=36), valore tuttavia non statisticamente significativo ($p=0,44$).

Al contrario dei valori relativi alle borrelie e al virus TBE le sieroprevalenze medie dei bacini idrografici dell'Adige e del Donau non erano differenti tra loro. Dato che in base alle attuali conoscenze tutti e due gli agenti patogeni vengono trasmessi attraverso lo stesso vettore, la Babesiosi si è diffusa già da parecchio tempo in tutta l'area studiata. L'area studiata rappresenta dal 1920 un'area economica omogenea, nella quale i bovini, che vengono considerati il serba-

toio principale per la *B. divergens*, sono stati spostati per lunghe distanze. L'agente patogeno non era quindi dipendente da una diffusione naturale attraverso micromammiferi e zecche, bensì può essere stato diffuso su tutto il territorio studiato dall'uomo principalmente attraverso le attività agricole. Mentre i veterinari del Tirolo settentrionale conoscono a livello regionale la babesiosi ed eseguono trattamenti, questo non sembra essere il caso in dell'Alto Adige. Un patrimonio bovino non sanato potrebbe aumentare il numero di zecche infette ed il rischio di infezione per il uomo.

IL QUADRO CLINICO DEVE ESSERE PRESO IN CONSIDERAZIONE DAI MEDICI?

Infezioni con babesie sono presenti per lo meno regionalmente nell'area studiata, la sieroprevalenza del Oberinntal è quella più bassa.

Il fatto che soltanto una paziente sieropositiva si ricordasse dei sintomi della malattia mostra che le infezioni spesso decorrono subcliniche oppure con sintomatica lieve.

In Europa fino d'ora babesiosi sono state diagnosticate soltanto in persone immunodepres-

se. Al momento non è possibile valutare se le persone immunodepresse si ammalino in maniera sintomatica e quali siano i malesseri principali. In casi di infezione febbrile dopo una puntura da zecca sarà necessario includere la babesiosi nella diagnosi differenziale, in particolare se è evidente un interessamento degli eritociti.

C'È UN RISCHIO PER LA DONAZIONE DI SANGUE?

Se durante la malattia acuta non si manifesta una sensazione soggettiva di malattia, è probabile che durante i mesi estivi pazienti parassitemici si presentino in buona fede alla donazione del sangue. Dato che le babesiosi si evidenziano mediante un valore elevato di neoprine non può essere escluso che le singole conserve di san-

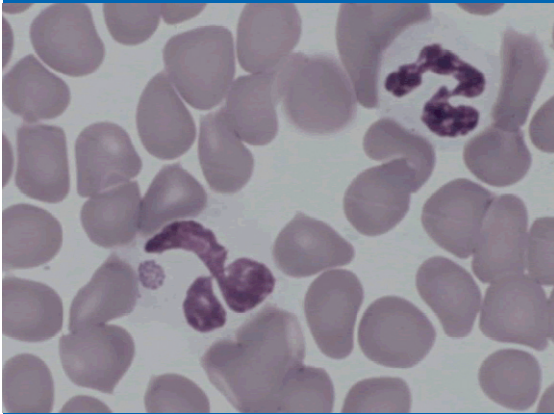
gue siano contaminate con babesie. Se nell'uomo similmente ai bovini la mancata terapia antibiotica porta con sé parassitemie prolungate con valori bassi, questo comporterebbe un rischio ancora più elevato di contaminazione delle conserve.

RACCOMANDAZIONI

Deve essere presa in considerazione almeno limitatamente per quanto riguarda i tempi e i luoghi un'analisi degli eritociti tramite PCR oppure striscio di sangue in donatori di sangue e pazienti con febbre dopo un'esposizione da zecca oppure in persone occupate in zootecnica.

Il valore di cut-off locale per la ricerca degli anticorpi IgG contro le babesie corrisponde a 1:64. Nel Tirolo settentrionale ed orientale come anche in Alto Adige le dimostrazioni di sierconversioni e le analisi epidemiologiche dovrebbero essere eseguite con questo livello di diluizione. Più del 99,5% dei donatori asintomatici esaminati mostrano un titolo anticorpale di 1:256. Dato che i due casi clinici di babesiosi in Austria e in Italia nel periodo di convalescenza iniziale avevano rispettivamente un titolo IgG di 1:512 e di 1:1024, titoli IgG maggiori di 1:256 sono sospetti. Questo non conferma un'infezione acuta, però fa sospettare una borreliosi conclusasi da poco oppure una reazione antigena multipla nel passato per cui è necessaria una conferma mediante l'analisi di ulteriori campioni di siero dopo ca. 2 settimane.

Anaplasma phagocytophilum



Morula in granulociti

Foto: Internet, fonte non nota

Anaplasma phagocytophilum

DEFINIZIONE

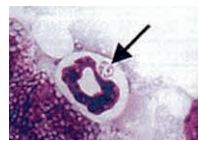
L'ehrlichiosi granulocitica umana (HGE) è un'infezione febbrile acuta da *Anaplasma phagocytophilum*, un batterio intracellulare obbli-

gato che si propaga nei leucociti. Solo nel 1994 l'HGE è stata riconosciuta come malattia a sé stante.

L'AGENTE PATOGENO

Secondo le conoscenze attuali l'*Anaplasma phagocytophilum* è l'unico rappresentante del genere *Anaplasma* patogeno per l'uomo, che fa parte della famiglia delle Anaplasmataceae dell'ordine Rickettsiales assieme ai generi Ehrlichia e Neorickettsia (Á-Proteobatteri). Il batterio obbligatamente intracellulare ha una membrana molto sottile senza lipopolisaccaridi (LPS) e senza strato di peptidoglicani, stabilizzata da colesterolo depositato. Per questo è poco resistente

contro sollecitazioni meccaniche ed altri influssi ambientali così che *Anaplasma phagocytophilum* dipende dalla trasmissione delle zecche e dai loro ospiti.



inclusione cellulare in granulociti

Foto: Parasitologie Zürich

PRESENZA

L'*Anaplasma phagocytophilum* è diffuso nelle zone temperate dell'emisfero settentrionale, non esistono studi sulla sua presenza nell'emisfero meridionale. Nel Nordamerica e nell'Eurasia le zone colpite coincidono con le presenze di zecche del gruppo *Ixodes*, soltanto nell'Asia ori-

entale questo agente sembra essere presente anche oltre il limite di diffusione meridionale *Ixodes ssp.*. Ulteriori vettori (p.es. *Haemaphysalis*) potrebbero avere un ruolo nella trasmissione.

SERBATOIO

Infezioni croniche sono state osservate in una serie di mammiferi, tra l'altro nei cervi e in vari micromammiferi. In America settentrionale i serbatoi naturali dell'agente patogeno sono i cervi a coda bianca (*Odocoileus virginianus*) e il topo selvatico della specie *Peromyscus leucopus*, dove le larve e le ninfe assorbono l'agente patogeno durante il pasto di sangue. In Europa l'*Anaplasma phagocytophilum* può essere evi-

denziato nei cervi (*Cervus sp.*) e nei caprioli (*Capreolus sp.*), ma il ruolo come serbatoio per un'infezione umana viene messa in dubbio da analisi di sequenza, che mostrano differenze tra i ceppi isolati nei pazienti e quelli dei cervi. Da uno studio da poco pubblicato sembrerebbe che anche le pecore possano essere un possibile serbatoio.

TRASMISSIONE

L'*Anaplasma phagocytophilum* viene trasmesso alle zecche del gruppo *Ixodes*. In Europa è la zecca del cane (*Ixodes ricinus*) che assume l'importanza maggiore, mentre in Russia, nell'Asia centrale e in Giappone la trasmissione avviene attraverso *Ixodes persulcatus*. I dati sierologici mostrano che nell'Asia orientale l'agen-

te patogeno si estende fino al limite meridionale di diffusione di *Ixodes spp.*, per cui si presumono altri vettori (p.es. *Haemaphysalis*). Nel Nordamerica, dove sono state descritte le prime infezioni umane, *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus* sono stati identificati come vettori principali.

GRUPPI A RISCHIO

Qualsiasi persona può ammalarsi di HGE. Non è noto se in seguito alla malattia si sviluppi

un'immunità permanente. Non sono noti fattori di rischio.

PERIODO DI INCUBAZIONE

Il periodo di incubazione varia tra i 5 e i 21 giorni.

QUADRO CLINICO

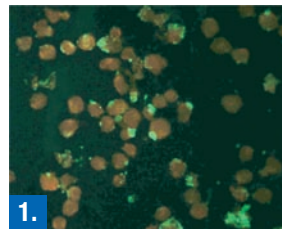
La sintomatologia clinica dell'ehrlichiosi granulocitica umana non è caratteristica nello stadio acuto e assomiglia ad un'infezione influenzale. La malattia inizia con febbre subacuta, mialgia, artralgia e stanchezza. Un esame fisico non presenta normalmente un referto caratteristico, mentre un esame sonografico evidenzia spesso una lieve splenomegalia. I referti di laboratorio con valori leucociti normali fino a bassi, una trombocitopenia transitoria al di sotto dei 100000/ll, una CRP elevata, una neoptina nel siero elevata e un lattato deidrogenosi elevato

sono spesso indicativi. Se la malattia non viene trattata, il decorso che negli Stati Uniti viene definito "saddleback fever" si prolunga per settimane fino a mesi, con episodi febbrili recidivanti oppure subfebbrili, sudorazioni, perdita di peso e debolezza. Il quadro clinico può simulare un processo maligno. Se la malattia non viene trattata la sintomatologia termina entro alcuni mesi. Una cronicizzazione come osserva per la borreliosi, per l'ehrlichiosi granulocitica umana non è stata osservata.

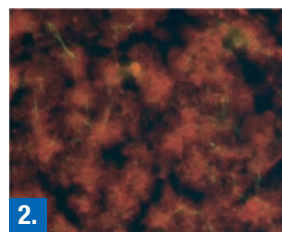
DIMOSTRAZIONE DELL'HGE

Un aumento del titolo anticorpale IgG di almeno due gradi di titolo, una sieroconversione, la dimostrazione dell'agente patogeno tramite PCR oppure coltura confermano la diagnosi, un unico titolo IgM > 1:160 rende probabile la diagnosi in presenza di un quadro clinico corrispondente.

Una descrizione dettagliata dei test utilizzati in questo studio è riportata nell'allegato 2.



1.



2.

1. Test IFT - risultato positivo
2. Test IFT - risultato negativo

Foto: propria

TERAPIA

I farmaci a base di tetracicline rappresentano la terapia standard di tutte le infezioni da *Anaplasma phagocytophilum* e portano alla sparizione dei sintomi entro pochi giorni. Vi sono esperienze limitate su trattamenti alternativi: infezioni pediatriche vengono trattate in casi lievi in modo sintomatico, in singoli casi viene descritto un'utilizzo efficace di rifampicina. I chinolonici sono attivi in vitro, ma non hanno portato ad un miglioramen-

to dei sintomi nei pazienti. Il cloramfenicolo non è efficace in vitro, ma vi sono descrizioni contraddittorie di casi: mentre negli adulti mancano i successi terapeutici, altri studi mostrano efficacia nei bambini. Sia i chinolonici come anche il cloramfenicolo non dovrebbero essere utilizzati come farmaci di prima scelta. Antibiotici β -lattamici, aminoglicosidi, macrolidi e cotrimoxazolo non sono efficaci.

RISULTATI DI LABORATORIO

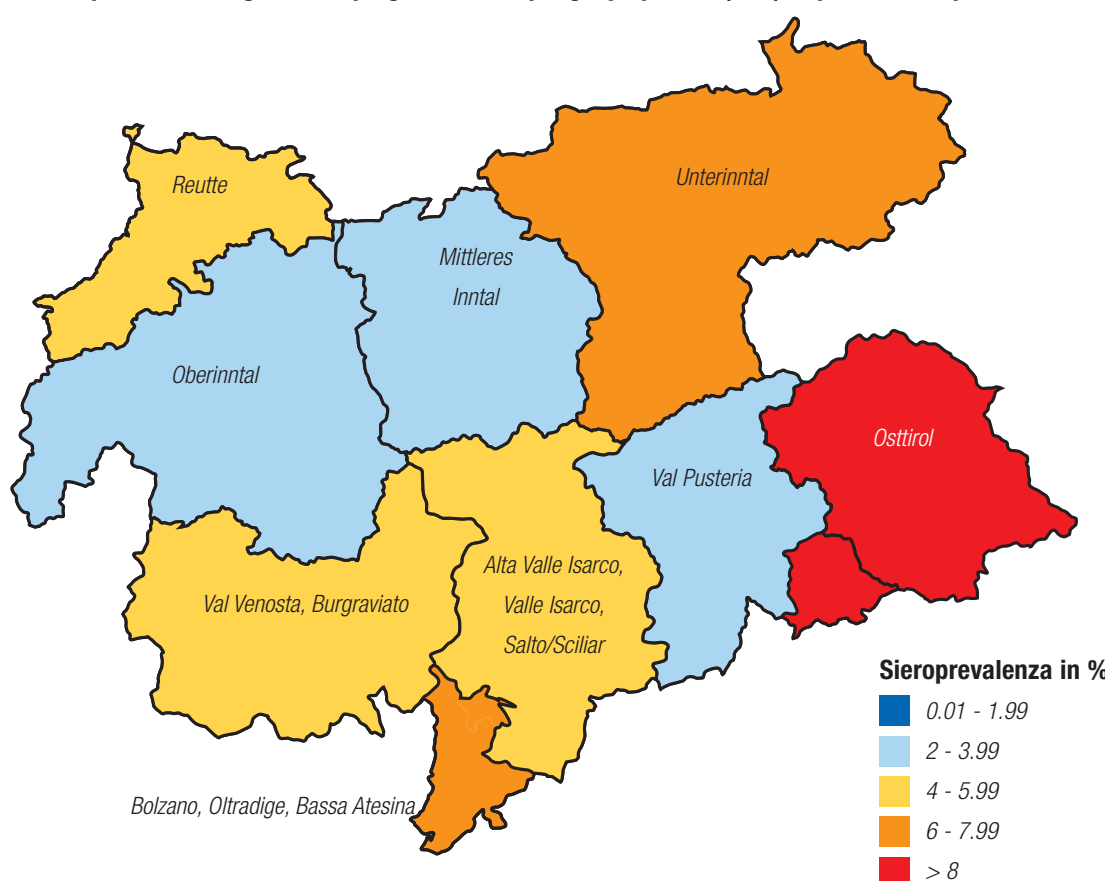
Il 5,2% (n=83) dei campioni dell'intera area in studio era positivo al test di conferma per gli anticorpi IgG contro *Anaplasma phagocytophilum*, l'agente patogeno dell'ehrlichiosi granulocitica umana (HGE). La prevalenza nel bacino idrografico dell'Adige (5,5%) era simile a quello del Donau (5,0%) ($p=0,64$).

Nel bacino idrografico del Donau è stato osservato un numero maggiore di campioni con

un titolo anticorpale 1:256 maggiore (24,5%) rispetto al bacino idrografico dell'Adige (14,7%), ma le differenze non sono statisticamente significative ($p=0,27$) (allegato 1, tabella 20).

Ad una diluizione di 1:2048 nessun siero mostra reazioni positive. In nessun campione di siero sono stati osservati anticorpi contro cellule HL 60.

Figura 19

Sieroprevalenza degli anticorpi IgG contro *A. phagocytophilum* (HGE) in percentuale per area

DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DELLE PERSONE SIEROPOSITIVE PER AREA

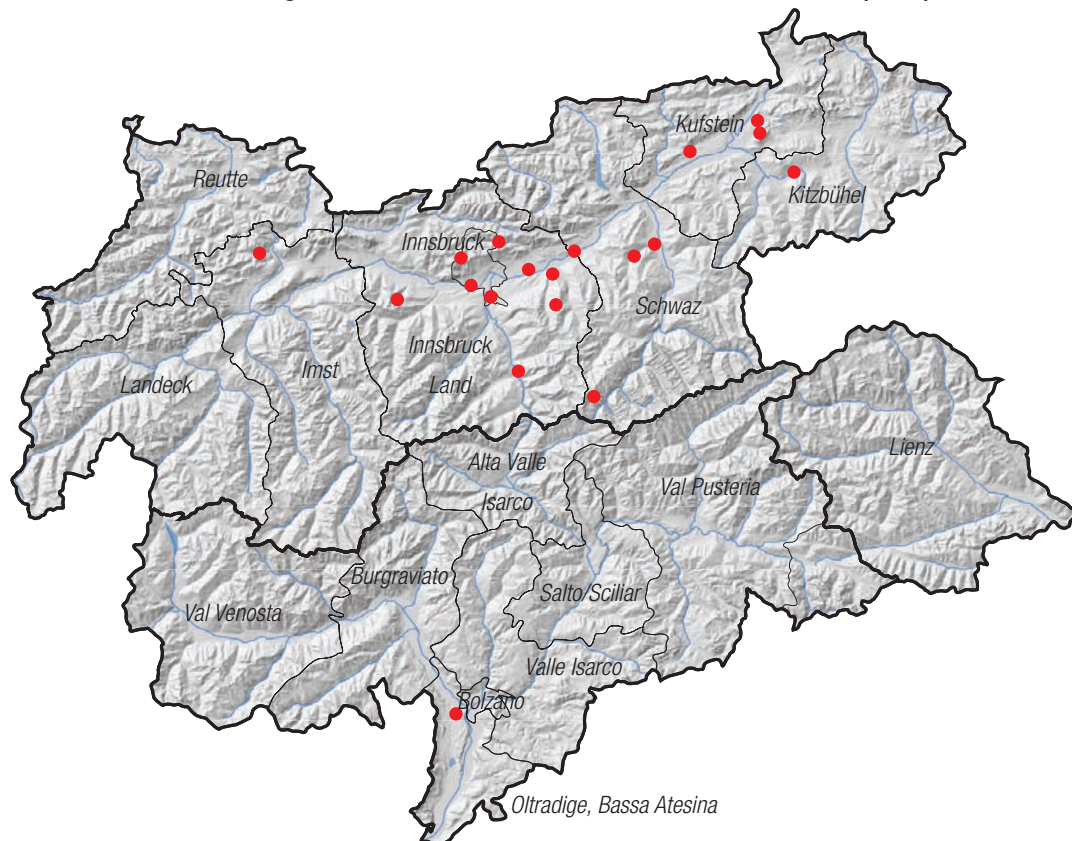
Anticorpi contro *A. phagocytophilum* sono stati rilevati nell'intera area studiata. I tassi di sieroprevalenza più alti sono stati rilevati nel bacino idrografico del Drau (Tirolo orientale con i comuni San Candido, Sesto e Dobbiaco) con l'11,0% (n=11), valore quasi doppio che nell'Unterinntal e a Bolzano-Oltradige-Bassa Atesina con il 6,1% ciascuno (n=19 risp. n=13). Seguono Reutte con il 5,2% (n=3), la Val Venosta -Burggraviato con il 4,9% (n=7), la Val Isarco-Val di Vizze-Salto-Sciliar con il 4,2% (n=6), l'Inntal con

il 3,9% (n=15), il Oberinntal con il 3,5% (n=5) e la Val Pusteria fino alla Sella di Dobbiaco con il 3,2% (n=3). I probabili luoghi di infezione con e senza puntura da zecca anamnestica sembrano distribuiti su tutto il territorio studiato (Figura 20 e 21; tabella 22 dell'allegato 1).

I probabili luoghi di infezione sembrano distribuiti su tutta l'area studiata, anche se gran parte delle volte manca un'anamnesi di zecca (Figura 20 e 21).

Figura 20

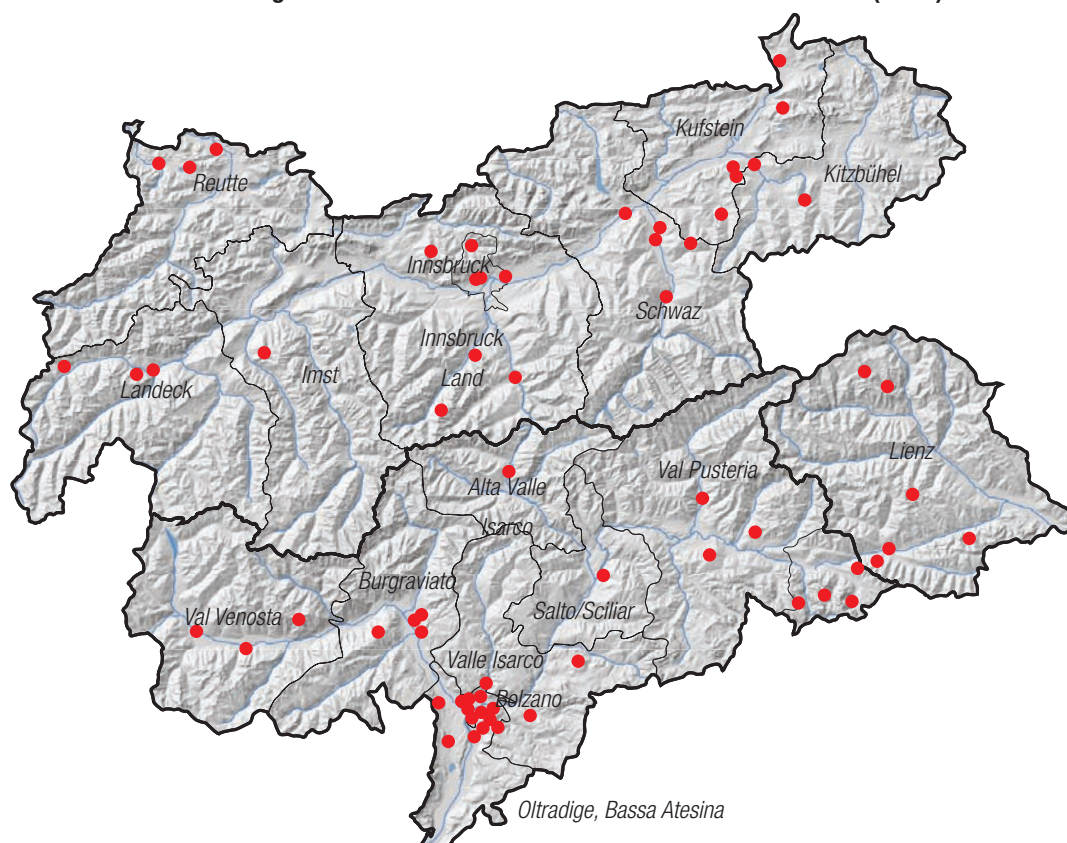
Probabili luoghi di infezione con l'HGE con un'anamnesi di zecca (n=19)



● luogo della puntura da zecca

Figura 21

Probabili luoghi di infezione con l'HGE senza un'anamnesi di zecca (n=66)



● luogo di residenza delle persone sieropositive

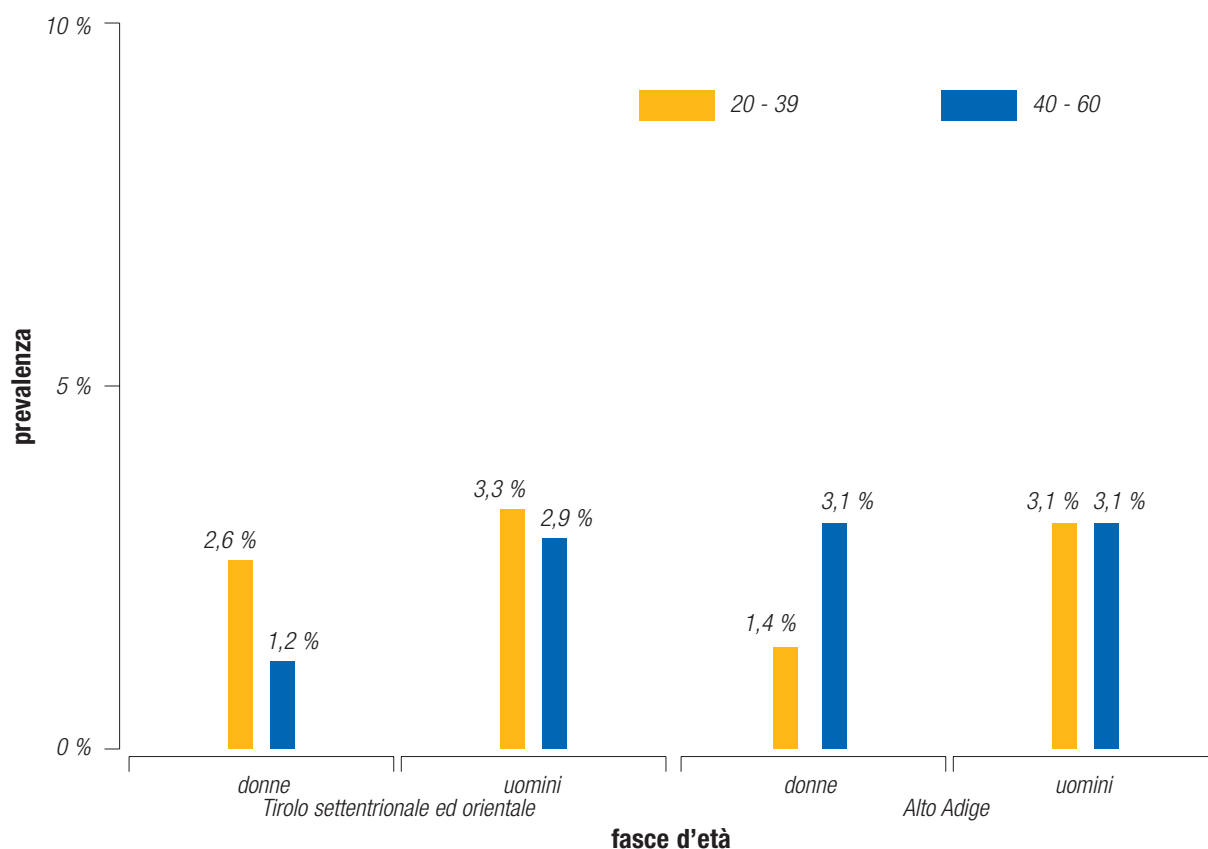
DISTRIBUZIONE PER ETÀ E SESSO

Una differenza significativa della prevalenza è stata osservata ($p=0,04$) tra uomini (6,2%; $n=50$) e donne (4,0%; $n=32$). Nel Tirolo settentrionale ed orientale sembrano essere colpiti

maggiormente i partecipanti giovani delle due fasce d'età, in Alto Adige più raramente le donne giovani (allegato 1, tabelle 23 e 24).

Figura 22

Distribuzione per età e sesso per anticorpi IgG contro *A. phagocytophilum* ('HGE) per regione studiata ($n=83$)



Commento: La differenza della prevalenza osservata in donne del Tirolo settentrionale ed orientale e in quelle altoatesine per fasce d'età, dovrebbe essere un artefatto dovuto al numero ridotto di persone sieropositive.

FATTORI DI RISCHIO PER UN'HGE

Non sono stati identificati fattori di rischio per una sieropositività contro l'*A. phagocytophilum*, ma l'indicazione di un'attività lavorativa all'aperto è risultata significativamente negativa

nell'analisi univariata (OR 0,28; 95% intervallo di confidenza: 0,12-0,63) correlata ad una risposta immune all' HGE (allegato 1, tabella 25).

Commento: Il fatto che nella popolazione studiata un'occupazione professionale all'aperto non rappresenti un fattore di rischio potrebbe essere dovuto alla maggiore informazione ed applicazione di misure di protezione da parte di questa categoria di persone. Questo fatto si presenta anche per la babesiosi (OR 0,36; 95% intervallo di confidenza: 0,09-1,27), ma non per la borreliosi (OR 1,30; 95% intervallo di confidenza: 0,62-2,73).

Non sono state rilevate informazioni su animali domestici e da reddito (bovini, cani e maiali) questi potrebbero tuttavia avere un ruolo importante viste le poche informazioni esistenti sui serbatoi. Anche altri vettori come le zecche del genere *Rhipicephalus*, tafani potrebbero avere un ruolo nella trasmissione, su questi non esiste attualmente alcun tipo di indicazione.

INFORMAZIONI CLINICHE

Delle 83 persone sieropositive tre hanno riferito di aver sofferto di sintomi: un'altoatesina di 51 anni della Val di Vizze ha riferito di aver sofferto nel 1973 di una malattia febbrile renale, senza tuttavia ricordare una puntura da zecca. Una donna di 31 anni del Tirolo settentrionale dell'area rurale di Innsbruck ha riferito di essersi ammalata nel 1978 di un'anemia infettiva e ha raccontato di ca. 5 punture da zecca nel

1980. La donna non ha potuto stabilire una correlazione temporale tra la malattia e la puntura da zecca. Una paziente di ca. 40 anni dello Zillertal ha riferito di una puntura da zecca nella Steiermark, seguita da sintomi influenzali, cefalea e artralgie. È risultata sieropositiva per borreliosi ed era stata punta da più zecche nello Zillertal.

DISCUSSIONE

Mentre la presenza di infezioni autoctone con *Anaplasma phagocytophilum* è stata confermata per il Tirolo settentrionale, infezioni acquisite in Alto Adige e nel Tirolo orientale non sono mai state documentate e in Alto Adige non sono mai

stati rilevati dati sierologici. Lo scopo di questo studio era il confronto dei dati di prevalenza tra il bacino idrografico del Donau e quello dell'Adige per stimare la probabilità della presenza dell'HGE in Alto Adige.

CONFRONTI CON LE REGIONI CONFINANTI

La Slovenia è l'area europea con attualmente il numero maggiore di casi di ehrlichiosi, Cizman ha rilevato una sieroprevalenza nei bambini e nei giovani del 15,3%, nella Steiermark Deutz ha rilevato una prevalenza del 15% nei cacciatori. Nella Germania meridionale e nella Svizzera orientale la percentuale di cacciatori sieropositivi era rispettivamente del 14% e 9%, in questi territori la sieroprevalenza in donatori di sangue è sensibilmente più bassa (1-2%).

In Italia settentrionale persone sieropositive si trovano più raramente che in altri luoghi: nel Friuli la sieroprevalenza nelle persone a rischio è pari all'0,6%, in altre aree italiane l'infezione dei gruppi a rischio raggiunge il 5,7%, quelle dei donatori l'0,9%.

I dati rilevati dallo studio nel bacino idrografico del Donau si collocano tra quelli rilevati rispettivamente nei cacciatori e nei donatori della Germania meridionale e dell'Austria orientale.

Se si considerano le differenze metodologiche i dati di prevalenza del Tirolo settentrionale e meridionale sono più simili a quelli dei cacciatori e nettamente superiori a quelli rilevati nei donatori. Questo fatto, come già spiegato nel capitolo della borreliosi, è spiegabile con un maggiore rischio di esposizione alle zecche per la popolazione del Tirolo settentrionale ed orientale.

La sieroprevalenza rilevata nel bacino idrografico dell'Adige si colloca tra i valori più alti pubblicati fino ad oggi per l'Italia. Il grado di infezione dalle zecche rilevato da Sanogo per la provincia di Belluno e da Santino per la provincia di Trento rende plausibile il dato. Mentre in Trentino il 9,8% del DNA delle zecche mostrava tracce di *A. phagocytophilum*, in provincia di Belluno questa percentuale corrispondeva allo 0,3%.

IL VALORE RILEVATO CORRISPONDE ALLA REALTÀ?

Il tasso di sieroprevalenza rilevato è rappresentativo per il gruppo dei donatori, cioè corrisponde approssimativamente a quello della popolazione intera. Punture da zecca avvenute al di fuori del territorio esaminato come anche reazioni crociate aspecifiche possono portare ad una sovrastima della prevalenza, mentre l'insufficiente formazione di anticorpi oppure la perdita di anticorpi dopo l'infezione primaria possono portare ad una sottostima della prevalenza.

Per mantenere il numero di reazioni crociate il più basso possibile, i campioni risultati positivi nell'IFT sono stati saggiati tramite Western-blot e il valore di cut-off del metodo combinato è stato stabilito secondo le indicazioni dell'OMS con sieri predefiniti.

Una sottostima della prevalenza potrebbe essere anche dovuta al fatto che 2 anni dopo un'infezione, nel 50% dei pazienti gli anticorpi calano al di sotto del limite di conferma dell'IFT, come dimostrato da Lotric-Furlan e Woessner nel 2001 in pazienti sloveni e tedeschi. Questa osservazione viene sostenuta dal fatto che la sieroprevalenza non aumenta con il progredire dell'età.

Non è noto se una terapia precoce con antibiotici sia in grado di sopprimere la formazione di anticorpi specifici.

CI SONO INDICAZIONI RELATIVE AD UN AUMENTO DELLA MALATTIA OPPURE DIFFERENZE REGIONALI ALL'INTERNO DELL'AREA STUDIATA?

Negli anni 2000/2001 nel Tirolo settentrionale ed orientale Tiwald ha rilevato una sieroprevalenza media del 9,0%. Il tasso di prevalenza rilevato nell'area studiata è inferiore a questa. Questo recesso è dovuto l'introduzione del Westernblot come test di conferma, è perciò metodologicamente spiegabile ed è stato osservato nella stessa misura anche in altre aree. Un esame di prova su 260 campioni casuali secondo i criteri di Tiwald, ha dato come risultato 24 campioni positivi (9,2%), ciò significa che non vi è un cambiamento della prevalenza in quest'area. Il fatto che le punture da zecca ricordate dai soggetti sieropositivi erano avvenute 30 anni fa, fanno escludere una diffusione recente dell'agente patogeno nel Tirolo settentrionale ed orientale ed in Alto Adige.

Visti i dati del nord d'Italia è molto improbabile che l'agente patogeno si sia diffuso da quelle aree e sia avanzato fino in Alto Adige. Si può

supporre che l'agente patogeno sia stato diffuso attraverso le attività umane su tutto il territorio oggetto dello studio, similmente a quanto constatato per la babesiosi. Il serbatoio europeo per l'A. phagocytophilum non è ancora stato identificato. I dati di questo studio rendono sensata una ricerca negli animali da reddito.

Le persone residenti ad un'altitudine superiore ai 1200 m mostravano meno frequentemente (2,8%, n=4) anticorpi IgG contro *Anaplasma phagocytophilum*, rispetto alle persone residenti al di sotto dell'altitudine sopraccitata (5,3%; n=53), la differenza è statisticamente significativa ($p=0,2$).

Lungo l'Inntal e la Valle dell'Adige è stata osservata una tendenza alla riduzione della sieroprevalenza, risultato attendibile data la correlazione negativa tra l'altitudine e la probabilità di infezione. Anche per le babesie e l'HGE è stato osservato un trend simile nell'Inntal.

I MEDICI DEVONO ASPETTARSI IL QUADRO CLINICO?

Le infezioni con *Anaplasma phagocytophilum* avvengono in Alto Adige nella stessa proporzione del Tirolo settentrionale, casi clinici sono assolutamente prevedibili in tutti i luoghi del territorio oggetto dello studio. Dato che i sintomi della malattia non sono specifici e non possono

sempre essere correlati con una puntura da zecca e visto il lungo periodo di incubazione, la mancanza di indicazioni relative alla malattia nell'anamnesi è da attribuire più ad una scarsa attenzione che non alla totale mancanza di decorsi sintomatici.

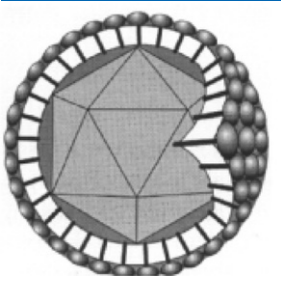
RACCOMANDAZIONI

I pazienti che in estate si rivolgono al medico per un'infezione con sintomi influenzali dovrebbero essere testati per verificare la presenza di un'ehrlichiosi granulocitica umana, specie se presentano una trombopenia con una CRP elevata dopo un'esposizione da zecca. I medici responsabili per l'assistenza di base dovrebbero essere informati della malattia e considerarla nella diagnosi differenziale di infezioni febbrili.

Per la conferma della malattia si dovrebbero analizzare due campioni di siero con un intervallo di 7 giorni e con una diluizione di 1:64 per IgG e una diluizione di 1:160 per IgM. Il referto IgM positivo deve far sospettare la presenza della malattia, mentre una sier conversione oppure un aumento di quattro volte del titolo anticorpale IgG sono la conferma. La verifica diretta dell'agente patogeno nella striscia di sangue oppure tramite PCR conferma altrettanto la diagnosi. Se il primo test sierologico e/o il test diretto decorrono negativi, bisogna ripetere per lo meno il test sierologico entro 7-14 giorni. La presenza di IgG specifici a un livello del titolo di 1:128 oppure maggiore e la mancanza di anticorpi IgM nel primo siero rendono improbabile la presenza di un'ehrlichiosi granulocitica umana florida.

TBE

(encefalite da zecche dell'Europa centrale)



Virus

Foto: thikquest-library, Internet

TBE (encefalite da zecche dell'Europa centrale)

DEFINIZIONE

La TBE è un'infezione acuta del sistema nervoso centrale e/o della meninge, causata da un rappresentante dei Flavivirus. Gran parte delle infezioni decorrono clinicamente asintomatiche. La gravità della malattia varia, casi lievi si

presentano spesso con cefalea e febbre oppure si manifesta una meningite asettica; possono presentarsi anche casi gravi con esito mortale oppure sequele neurologiche dopo la guarigione.

L'AGENTE PATOGENO

Insieme agli agenti patogeni della febbre gialla, dell'encefalite giapponese B, della febbre emorragica Dengue e della febbre West-Nile, il virus della encefalite da zecche viene assimilato al gruppo dei Flavivirus. Il virus TBE è un virus

relativamente piccolo composto da un filamento RNA positivo, racchiuso da un capside composto da una proteina (proteina C) ed un involucro di due proteine (proteina E e prM/M) associate alla membrana.

PRESENZA

Il virus TBE è presente in tre sottogruppi strettamente impartentati, diffusi in regioni diverse: il sottotipo occidentale è diffuso in Europa fino ai Paesi Baltici, all'Ucraina e alla parte occidentale della Russia dove la sua presenza si sovrappone al sottotipo orientale che è diffuso fino in Siberia. La presenza del terzo sot-

totipo, quello dell'Estremo Oriente, è limitata alla parte orientale della Siberia. Tra tutti e tre i sottotipi esiste una neutralizzazione crociata; quindi una vaccinazione o un'infezione con uno dei sottotipi protegge al contempo contro gli altri due sottotipi.

SERBATOIO

Il serbatoio naturale del virus della TBE sono i roditori e gli insettivori, il ruolo più importante

viene attribuito ai generi dei topi selvatici *Apodemus* e *Clethrionomys*.

TRASMISSIONE

La trasmissione all'uomo avviene attraverso la zecca *Ixodes ricinus*. Le zecche si contaminano durante il pasto di sangue oppure in rari casi per trasmissione transovarica. Il cosiddetto Co-Feeding, cioè il pasto di sangue contemporaneo

di una larva ed una ninfa allo stesso animale sembra avere un ruolo importante nella diffusione del virus nel vettore. Esse restano portatrici del virus per tutta la vita.

GRUPPI A RISCHIO

Tutte le persone non vaccinate vanno considerate come ricettive. La malattia lascia un'immunità permanente.

PERIODO DI INCUBAZIONE

Tre fino a massimo 28 giorni.

IL QUADRO CLINICO DELLA TBE

L'encefalite da zecche dell'Europa centrale (TBE) si manifesta tipicamente in due fasi: 2-7 giorni dopo la puntura si manifesta nei pazienti una febbre leggera che dura in genere 2 giorni, con nausea, diarrea, artralgie e un malessere generale che regredisce spontaneamente.

Dopo lo stadio prodromico si manifesta febbre alta con cefalea e ipersensibilità alla luce. Il quadro clinico si manifesta generalmente con una rigidità nucale, un forte dolore nella parte frontale del osso occipitale e una sintomatologia

vegetativa oppure si osserva il quadro clinico di un'encefalite, con disorientamento e un cambiamento della personalità.

Dalle analisi di laboratorio risultano una leucocitosi fino a 13.000 cellule/ μ l, una CPR leggermente aumentata (fino a 5 mg/dl) e un aumento leggero dei valori enzimatici epatici. Il livello del neopterina nel siero rimane generalmente ad un livello normale mentre nel liquor si può osservare un aumento chiaro di tale valore.

DIMOSTRAZIONE DELLA TBE

Un'infezione con il virus TBE viene confermata sierologicamente. All'inizio dei sintomi si possono dimostrare sia gli anticorpi IgM come anche quelli IgG. L'aumento significativo degli anticorpi IgG conferma la diagnosi. Reazioni crociate con altri Flavivirus possono essere escluse attraverso un test per anticorpi neutralizzanti

durante la convalescenza tardiva. Dopo la vaccinazione contro la TBE non è possibile distinguere tra anticorpi IgG, formati contro il virus vaccinale e quelli formati dopo un contatto con il virus selvaggio. Una descrizione dettagliata dei test utilizzati per questo studio è riportata nell'allegato 2.

TERAPIA

Non esiste una terapia causale, il trattamento è sintomatico. La malattia decorre in maniera autolimitante, può però provocare danni permanenti in particolare nelle persone anziane.

Dagli anni 70 è stata introdotta in Austria una vaccinazione protettiva che ha ridotto notevolmente il numero di infezioni manifeste: in Carin-

zia il numero di casi clinici si è ridotto da 155 casi in media all'anno nel periodo dal 1973 al 1982 (anno in cui è iniziata l'immunizzazione della popolazione) a 4 casi in media all'anno negli ultimi anni. In altri territori endemici europei vengono osservate incidenze invariabilmente alte (Cecoslovacchia, Slovenia).

PROFILASSI (VACCINAZIONE)

La vaccinazione protettiva contro il virus della TBE prevede un'immunizzazione di base (3 dosi nell'intervallo di minimo quattro fino a sei anni tra la prima e la seconda dose e un intervallo di uno fino a due anni per la terza dose) e dosi di richiamo con un intervallo originariamente di tre e da poco di cinque anni. Anche altri piani di vaccinazione sembrano adatti per suscitare una risposta immunitaria. L'efficacia della vaccinazione è da considerarsi elevata, sugli

effetti collaterali del vaccino in uso viene riferito solo raramente (ogni tanto febbre alta, crampi febbrili). Il vaccino può essere somministrato a seconda del produttore a partire dal 1. oppure dal 3. anno di vita.

Il vaccino (inattivo) non è in commercio in Italia, ma può essere importato dall'estero in certi casi (D.M. del 11.02.1997). Il vaccino può essere fornito dai servizi d'igiene e sanità pubblica su richiesta.

Dato che per quanto riguarda la vaccinazione contro la TBE le strategie sanitarie differiscono tra l'Austria (Tirolo settentrionale ed orientale) e l'Italia (Alto Adige), in questo capitolo i due territori oggetto dello studio vengono trattati singolarmente.

TIROLO SETTENTRIONALE ED ORIENTALE

Visto che non è possibile distinguere sierologicamente tra una risposta immunologica da virus selvaggio e quella da virus vaccinale e che in Austria la vaccinazione contro la TBE viene

fortemente promossa in questo capitolo verrà trattata principalmente la copertura vaccinale contro la TBE nella popolazione oggetto dello studio.



„Hinteres Villgratental: Falkamsee und Wilder Platter“



„Außervillgraten: Oberer Kesstaler See“

LA COPERTURA VACCINALE PER LA TBE NEL TIROLO SETTENTRIONALE ED ORIENTALE

Nella stima conservativa della copertura vaccinale si presuppone che tutte le persone che non hanno dato indicazioni sicure sullo stato vaccinale non siano vaccinate. In questa maniera è chiaro che la copertura vaccinale viene sottostimata, se le persone che non hanno dato indicazioni sullo stato vaccinale vengono considerate nel calcolo.

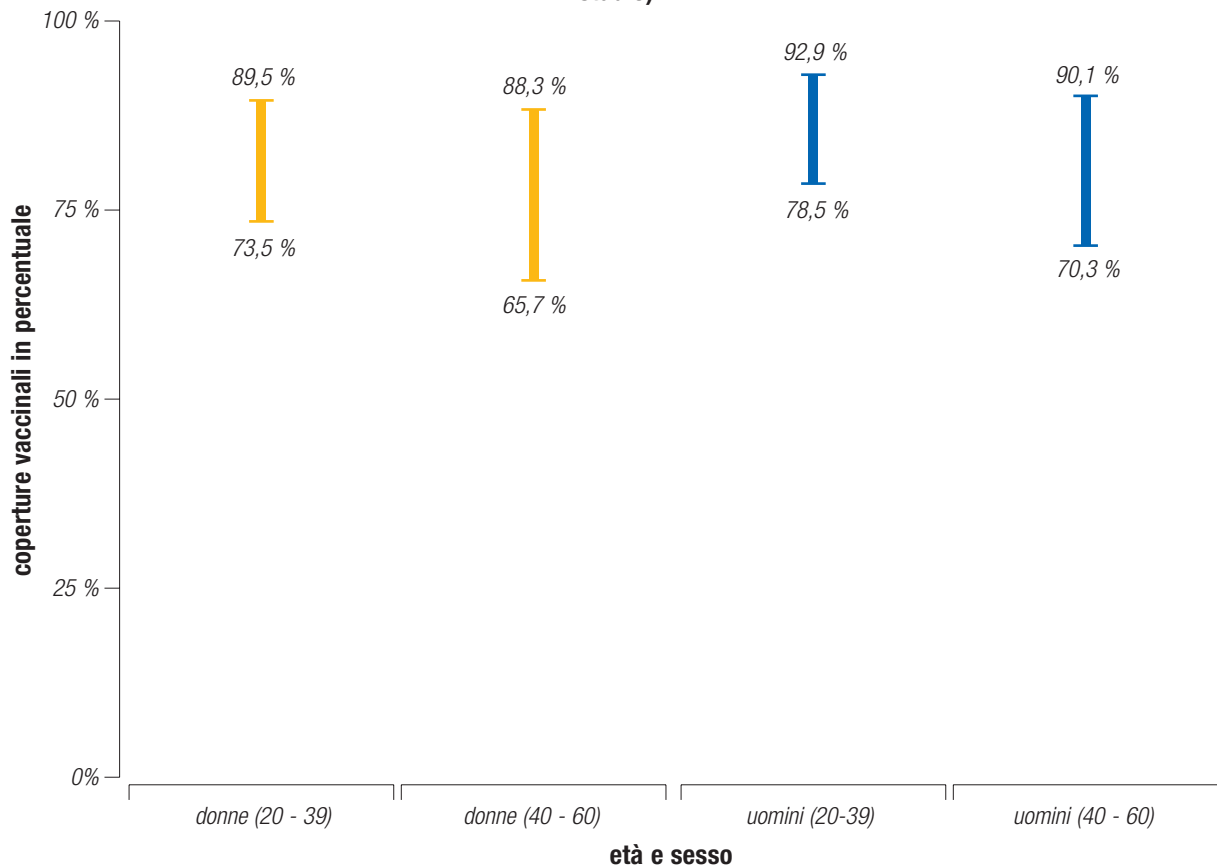
Vaccinazioni eseguite in tempi remoti oppure in correlazione con altre vaccinazioni o trattamenti sono spesso difficilmente identificabili

nell'anamnesi. Considerando nel calcolo della copertura vaccinale soltanto quelle persone che hanno dato indicazioni sicure sullo stato vaccinale, si ha una sovrastima della copertura vaccinale.

La copertura vaccinale reale si troverà probabilmente tra i due valori, per la TBE in questo caso tra il 72,1% ed il 90,2% (figura 23). Non c'è differenza significativa tra uomini e donne ($p=0,23$) e neanche tra le fasce d'età ($p=,38$).

Figura 23

Calcolo delle coperture vaccinali per la TBE per età e sesso nel Tirolo settentrionale ed orientale (massimo: vaccinati/persone che hanno dato indicazioni sullo stato vaccinale) (minimo: vaccinati/partecipanti allo studio)



Dei 279 partecipanti del Tirolo settentrionale ed orientale, che hanno riferito di non essere vaccinati, 89 (32,2%) erano positivi al test di screening (ELISA) e due avevano un titolo IgG al limite della positività. Per motivi economici e a causa

del fatto che una vaccinazione non può essere esclusa con certezza, è stato rinunciato al test di neutralizzazione per i campioni positivi del Tirolo settentrionale ed orientale.

NUMERO DOSI DI VACCINO SOMMINISTRATE

Nel Tirolo settentrionale 468 persone hanno riferito il numero di dosi di vaccino ricevute contro la TBE, in media sono state dichiarate 4 dosi (valore mediano 3 dosi, minimo 1 dose, massimo 11 dosi). L'87,8% ha riferito, di aver ricevuto minimo 3 dosi di vaccino per la TBE. La prima somministrazione del vaccino per la TBE è stata effettuata nell'anno 1980. Quasi la metà dei partecipanti (49,5%) ha riferito, di aver ricevuto una dose di vaccino meno di 3 anni fa.

Dei 712 partecipanti del Tirolo settentrionale, che hanno riferito di essere vaccinati, il 96,2%

(n=685) avevano un titolo anticorpale positivo, il 3,4% (n=24) nessun titolo anticorpale IgG e 3 (0,4%) persone avevano un titolo anticorpale al limite della positività. Delle 18 persone vaccinate, che nel test di screening erano negative ed avevano dato indicazioni sull'ultima dose di richiamo, 14 (77,8%) hanno riferito di essere state rivaccinate dopo il 2000. Queste sono da classificare come "non-responder". Nelle altre 4 persone la vaccinazione di richiamo era avvenuta più di 5 anni fa.

INFORMAZIONI CLINICHE

Dei 16 soggetti del Tirolo settentrionale con un'anamnesi di meningite, 15 hanno riferito di essere vaccinate contro la TBE e per questo non può essere fatta alcuna affermazione sulla TBE come causa della meningite. Delle 15 persone, che si ricordavano l'anno della meningite sofferta, 6 (40,0%) si erano ammalate prima del 5° anno di vita, ulteriori 4 (26,7%) tra il 5° ed il 9° anno di vita, tre (21,0%) tra il 10° ed il 15° anno di vita e due (13,4%) in età più avanzata (19 e 23 anni).

Tutte le meningiti si erano manifestate prima del 1991, il 66,7 % (n=10) prima dell'introduzione della vaccinazione contro la TBE e il 46,7% (n=7) prima del 1970.

La persona che non era in grado di ricordarsi di essere vaccinate contro la TBE, ha riferito di aver avuto una meningite nel primo anno di vita.

Una donna di 51 anni del Tirolo orientale, alla quale era stata diagnosticata una TBE nel 1976, nel 2000 aveva tuttavia ricevuto un'immunizzazione di base.

Un uomo di 45 anni dello Zillertal aveva sofferto di una meningite nel 1965 dopo una puntura da zecca avvenuta nello Zillertal, caratterizzata da sintomi influenzali, mialgie ed artralgie.

Senza subire un controllo sierologico per constatare un'eventuale TBE trascorsa era stato immunizzato nel 1985 contro la TBE ed era stato rivaccinato fino al 2004 per ben sette volte.

Commento: Solo nell'ultimo caso si può sospettare una TBE, vista l'associazione temporale con la puntura da zecca avvenuta in una nota area endemica. Negli altri casi non possono essere fatte affermazioni sulla TBE come causa della meningite anamnesticca, ma sono probabili altre meningiti batteriche oppure virali. A favore di questo vi è sia la distribuzione di età come anche l'anno in cui è avvenuta la meningite. Pur non essendo sensato testare tutte le persone sulla presenza di anticorpi specifici prima di un'immunizzazione di base contro la TBE nelle persone con un'anamnesi di meningite questa procedura sarebbe indicata, in particolare se la malattia è avvenuta nella stagione delle zecche oppure in correlazione temporale con una puntura da zecca.

ALTO ADIGE

COPERTURA VACCINALE PER LA TBE IN ALTO ADIGE

In Alto Adige la copertura vaccinale per la TBE era di ca. l'1,8% (n=11); solo pochi partecipanti (n=17, 2,7%) non erano in grado di ricordarsi e così la stima della copertura vaccinale è stata influenzata di poco. Delle undici persone vaccinate nessuna ha riferito di essere attiva in agricoltura oppure in attività forestali, nove persone

hanno raccontato di eseguire lavori nei campi e undici partecipanti vaccinati hanno riferito di svolgere attività di tempo libero all'aperto. Di questi sette erano di sesso maschile e quattro di sesso femminile, avevano un'età tra i 23 e 57 anni.

RISULTATI DI LABORATORIO

Nel test di screening per la TBE 14 persone avevano un titolo anticorpale positivo e due erano al limite della positività. Tutti i soggetti tranne uno erano vaccinati. Solo il partecipante non vaccinato di 37 anni di Sesto mostrava nel test di conferma anticorpi neutralizzanti contro il virus della TBE con un titolo di 1:10. Il soggetto era positivo anche nel test di conferma per l'HGE. L'uomo non era in grado di ricordarsi di una puntura da zecca e aveva riferito di lavorare in media mezz'ora alla settimana nel giardino, di andare in bicicletta sei ore la settimana e di camminare 4 ore la settimana.

Nel test di neutralizzazione delle 11 persone vaccinate solo sette mostravano anticorpi neutralizzanti contro il virus TBE (allegato 1, tabella 26) con un titolo tra 1:10 e 1:40.

Delle 4 persone vaccinate con un risultato negativo al test di neutralizzazione soltanto una ha riferito di aver ricevuto due dosi di vaccino contro la TBE, due persone avevano concluso l'immunizzazione di base (con 3 dosi, l'ultima dose per tutti e due nel 2000) e una persona ha riferito di aver ricevuto 5 dosi di cui l'ultima nel 1993.

Figura 24



● luogo di residenza della persona sieropositiva

INFORMAZIONI CLINICHE

In Alto Adige la meningite è stata riferita 6 volte, tutte le 6 persone non erano vaccinate contro la TBE, nessuna mostrava anticorpi IgG

contro il virus della TBE, perciò la TBE è da escludere come causa per una meningite.

DISCUSSIONE

È evidente che al di fuori del bacino idrografico del Donau (Tirolo settentrionale ed orientale, Alto Adige fino al Toblacher Feld) non sono stati trovati anticorpi contro la TBE nei soggetti non vaccinati. L'unico donatore altoatesino positivo non vaccinato proviene da Sesto, ma non è chiaro il luogo di infezione.

Un terzo ($n=4$) degli altoatesini vaccinati non è protetto a causa di un'immunizzazione di base non ancora conclusa (una persona) oppure perché l'ultima dose somministrata risaliva a più di 5 anni fa. La metà delle persone non vaccinate e non protette ($n=2$) sono tuttavia da classificare.

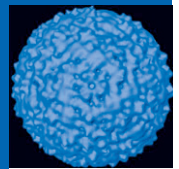
RACCOMANDAZIONI

In base ai risultati ottenuti attraverso questo studio la presenza della TBE in Alto Adige non è da escludere, sono però necessarie ulteriori ricerche. Sulla base dei presenti dati non è possibile fare raccomandazioni per una immunizzazione di massa.

Per questo motivo è stata pianificata un'altra indagine nell'estate 2005 per analizzare la prevalenza del virus della TBE nelle zecche dell'Oltradige. Questo territorio è stato scelto perché in Alto Adige la maggior parte delle punture da zecca vengono segnalate per questa zona e perché è il luogo ricreativo più vicino al capoluogo dell'Alto Adige e ai comuni circostanti, nei quali abita circa un quarto della popolazione altoatesina. Questo territorio è molto popolare dato che offre la possibilità di svolgere varie attività di tempo libero come il ciclismo, escursioni e nuoto, visto che vi si trovano due dei pochi laghi adatti alla balneazione.

Riguardo alla vaccinazione contro la TBE bisogna prestare attenzione ad effettuare una immunizzazione di base completa e somministrare la vaccinazione di richiamo. La registrazione del vaccino in Italia, nel caso che dopo lo studio sulla prevalenza delle zecche venga data la raccomandazione alla vaccinazione, potrebbe semplificare la vaccinazione contro la TBE in Italia in particolare in caso di viaggi nei luoghi esteri endemici.

Febbre del Nilo occidentale (West Nile Virus - WNV)



West Nile Virus

Foto: CNN

Febbre del Nilo occidentale (West Nile Virus - WNV)

DEFINIZIONE

La febbre del Nilo occidentale è un'infezione con sintomi similinfluenzali poco caratteristica, causata da un rappresentante dei Flavivirus. La

gravità della malattia varia, un'interessamento del sistema nervoso centrale oppure decorsi fatali sono stati osservati raramente.

AGENTE PATOGENO

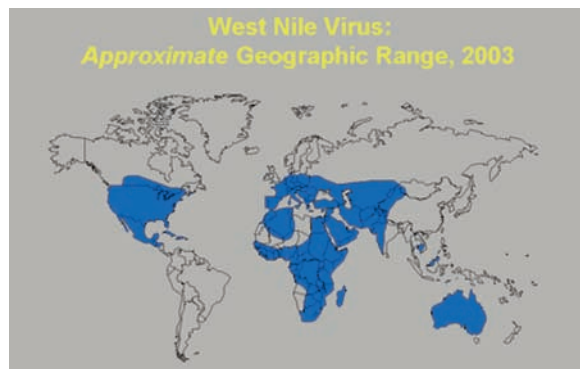
Come il virus dell'encefalite dell'Europa centrale (TBE), anche il virus West Nile fa parte dei Flavivirus, famiglia dei Flaviviridae. Si tratta di un virus icosaeidrica, circondato da una membrana con filamento RNA positivo. La proteina E di superficie sembra essere decisiva per l'intro-

duzione nella cellula ospite. Anticorpi contro questa proteina, possono neutralizzare il virus.

96

PRESENZA

Il virus è diffuso in Africa, Europa, Asia e dalla sua prima comparsa nel 1999 a New York anche nel Nordamerica. In Europa sono stati osservati alcuni casi nel sud della Francia, nell'Italia settentrionale (Toscana) e nei Balcani.



West Nile Virus- probabile distribuzione geografica lt. CDC, Foto: CDC

SERBATOIO

I serbatoi del virus sono numerose specie di uccelli. Recenti ricerche indicano che mammife-

ri (cavalli) e rettili potrebbero essere una fonte d'infezione almeno transitoria per gli artropodi.

TRASMISSIONE

Il vettore più importante è la comune zanzara *Culex pipiens* che ha una diffusione mondiale.

GRUPPI A RISCHIO

Tutte le persone sieropositive vanno considerate ricettive. L'infezione lascia un'immunità permanente.

PERIODO DI INCUBAZIONE

Il periodo di incubazione è di regola di 3-5 giorni.

QUADRO CLINICO

La malattia si manifesta con sintomi simili influenzali con una durata di 3-5 giorni, febbre leggera, cefalea frontale, mal di gola, mialgia, congiuntivite, dolori gastrointestinali e un esantema dalla forma rubeolica o maculopapulosa, limitato al torace. In ca. 15% dei casi si manifesta una meningite con un referto del liquor non specifico. La malattia porta con sé un'immunità permanente; non è nota un'infezione cronica



Zanzara durante il pasto di sangue, Foto: LSHTM

nell'uomo. Spesso il percorso clinico è inapparente e esiste quindi un rischio elevato di trasmissione della malattia in chi riceve le conserve di sangue in paesi endemici. Uno studio di Pealer e collaboratori ha evidenziato negli Stati Uniti nell'estate 2002, l'infezione di più di 20 persone con il virus di West Nile attraverso conserve di sangue.

CONFERMA DEL WNV

Una descrizione dettagliata dei test sierologici utilizzati per questo studio è riportata nell'allegato 2.

TERAPIA

Non esiste una terapia specifica contro la malattia causata dal WNV.

REFERTI DI LABORATORIO

In 461 sieri (28,7%) dei campioni prelevati sono stati dimostrati anticorpi contro il WNV, un altro 3,3% (n=53) mostrava un risultato al limite della positività. Titoli positivi oppure al limite della positività (98,6%, n=507) sono stati osservati quasi esclusivamente in persone vaccinate contro la TBE, quasi tutte erano provenienti dal Tirolo settentrionale ed orientale (allegato 1, tabella 27). L'OR per le persone vaccinate contro la TBE di avere un risultato positivo nel test di screening per il WNV era statisticamente signifi-

cativo (Crude OR 79,6; 95% CI: 46,60-146,33).

Dei ca. 400 soggetti positivi 100, di cui tutti quelli con un titolo IgG contro il virus della TBE basso e un unico partecipante del Tirolo settentrionale negativo alla TBE, sono stati sottoposti ad un test di conferma. Dopo il test soltanto per 4 persone si è avuto un risultato positivo. Tutti erano stati vaccinati più volte contro la TBE. Nessuno degli altoatesini positivi al test ELISA è stato confermato al test di neutralizzazione.

Commento: Con i test disponibili in commercio dopo una vaccinazione contro la TBE oppure un'infezione con il virus della TBE non è più possibile confermare con certezza anticorpi contro il Virus West Nile. Sia con test ELISA ricombinanti come anche con un test immuno fluorescente (IFT) la grande percentuale di sieri che mostrano reazioni crociate rende difficile la determinazione, in caso di alti titoli anticorpali contro la TBE è persino possibile che in vitro si verifichi una neutralizzazione crociata. Per via della forte associazione tra un risultato del test positivo e un'avvenuta vaccinazione contro la TBE come anche la mancanza di un sistema diagnostico per la differenziazione adeguata, non è possibile di fare ulteriori affermazioni e cioè se la conversione del siero sia avvenuta in base alla vaccinazione contro la TBE oppure in base ad un contatto con il WNV.

Delle persone che hanno riferito di non essere vaccinate contro la TBE, solo 15 dei 668 partecipanti (2,2%) hanno mostrato un risultato al test di screening al limite della positività ($n=1$) oppure positivo ($n=14$). Nessuna di queste persone ha riferito di essere vaccinata contro malattie causate da Flavivirus (febbre gialla oppure encefalite giapponese B).

Nessuno dei 3 partecipanti altoatesini non vaccinati e positivi al test di screening WNV aveva anticorpi neutralizzanti contro il Virus West Nile.

Nei partecipanti del Tirolo settentrionale ed orientale, positivi al test di screening per il WNV e che non si ricordavano di una vaccinazione contro la TBE, erano stati trovati anticorpi neutralizzanti nel test di conferma. Bisogna tuttavia considerare che nel Tirolo settentrionale la copertura vaccinale per la TBE è molto alta e per questo spesso l'anamnesi di vaccinazione è erroneamente negativa, in particolare se la vaccinazione è stata somministrata in tempi remoti.

Per i soggetti di questo studio non sono state trovate indicazioni circa un'infezione da Virus West Nile trascorsa.

Commento: Né in Alto Adige e né nel Tirolo settentrionale ed orientale sono state trovate infezioni da Virus West Nile. In base al numero di partecipanti relativamente alto si può supporre che la sieroprevalenza sia molto bassa, probabilmente al di sotto dell'1%. Dato che in questo studio sono stati considerati soltanto i donatori di sangue, non si può comunque escludere che la sieroprevalenza nella popolazione in generale sia leggermente più alta.

Dato che a causa dei cambiamenti climatici la malattia potrebbe diffondersi in Europa, sarebbe consigliabile ripetere la rilevazione tra 5 massimo 10 anni,.

Attualmente le infezioni con il Virus West Nile sono da considerare nella diagnosi differenziale soltanto per persone con un'anamnesi di viaggio corrispondente.

Nel Tirolo settentrionale ed orientale la situazione è un po' più complessa: la conferma degli anticorpi contro il Virus West Nile viene resa difficile dalla copertura vaccinale contro la TBE molto alta e per via degli attuali sistemi diagnostici disponibili che rendono l'identificazione degli anticorpi IgG contro il WNV impossibile. Dato che alcuni soggetti, con un risultato positivo allo screening per anticorpi, non hanno un'anamnesi di viaggio, è comunque possibile che le infezioni con il Virus West Nile siano state acquisite nel Tirolo settentrionale. I risultati tuttavia non confermano questo fatto, dato che in base alle conoscenze attuali non si può escludere una neutralizzazione crociata tra il virus TBE ed il WNV. Anche la vaccinazione contro la febbre gialla può portare a risultati falsamente positivi nella ricerca di anticorpi contro il WNV.

Hantavirus



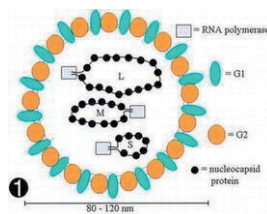
Hantavirus - ELMI

Foto: Università di Vienna

Hantavirus

DEFINIZIONE

Gli Hantavirus del vecchio mondo causano la nefropatia epidemica, un'infezione acuta e febbrile dei reni accompagnata da una massiccia lombalgia e una nefrite interstiziale.

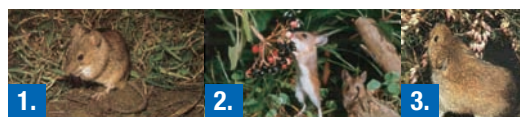


Hantavirus - ELM

Foto: College of American pathologists

AGENTE PATOGENO

Il genere Hantavirus appartiene assieme ai generi Bunyavirus, Phlebovirus, Nairovirus e Tospovirus alla famiglia dei Bunyavirus, che con più di 300 specie fino ad ora descritte è la famiglia di virus più numerosa.



1. *Apodemus agrarius*, Foto: R. Kohlmeyer

2. *Apodemus flavicollis*, Foto: CH-Forschung: Agentur Sutter, W. Büchi

3. *Clethrionomys glareolus*, Foto: Dt. Tierlexikon-Internet

PRESENZA

Gli Hantavirus sono diffusi in tutto il mondo. Le nuove specie americane (p.a. Virus Sin Nombre, Bayou, New York, Black Creek Canal, Andes) sono geneticamente imparentate e causano nell'uomo disturbi clinici simili, principalmente con interessamento polmonare e utilizzano ospiti serbatoio della sottofamiglia dei roditori del Nuovo Mondo (*Sigmodontinae*).

Gli Hantavirus europei mostrano un'elevata diversità genetica. Dei numerosi virus di questo gruppo, descritti negli ultimi anni, tre sono di grande importanza: il Virus Dobrava, Puumala e Hantaan. Casi clinici sono stati riferiti dall'Europa centrale come anche da Austria, Germania e Francia.

SERBATOIO

Tutti e tre i virus utilizzano uno ristretto spettro di roditori come ospiti serbatoio che sono permanentemente infetti ed eliminano il virus attraverso l'urina, le feci e la saliva: il topo selvatico *Clethrionomis glareolus* è un portatore del Virus Puumala, l'*Apodemus agrarius* è il portato-

re del virus Hantaan e i ratti *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus* vengono utilizzati come serbatoio dal virus Seoul. Il virus Dobrava viene diffuso dal topo selvatico *Apodemus flavicollis* nei Balcani, in Europa centrale invece attraverso *A. agrarius*.

TRASMISSIONE

La trasmissione avviene principalmente attraverso l'acqua e gli alimenti contaminati dall'urina, le feci e la saliva dei roditori e che poi vengono assorbiti attraverso la cute oppure dal tratto gastrointestinale.

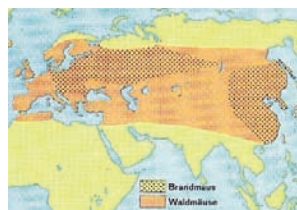


Hantavirus-ciclo di infezione

Foto: Internet, fonte non nota

GRUPPI A RISCHIO

Tutte le persone vanno considerate ricettive. Le persone che sono in contatto con alimenti oppure acqua contaminata e svolgono p. es. lavoro agricolo senza abbigliamento protettivo hanno un rischio più elevato di infezione.



diffusione dell'*Apodemus agrarius*

Foto: Internet, fonte non nota

PERIODO DI INCUBAZIONE

Il periodo di incubazione dura da 9 fino a 35 giorni.

QUADRO CLINICO

La malattia inizia con febbre alta acuta, brividi, cefalea e artralgia. Dopo alcuni giorni iniziano dolori alla schiena, nausea, vomito e diarrea, raramente si sviluppa una miopia transitoria, congiuntivite oppure un eritema in viso. Caratteristico è il coinvolgimento renale che si manifesta con un aumento più o meno forte della creatinina, dell'urea e dell'acido urico, che può portare in casi gravi ad un'interruzione acuta della funzione renale oppure allo sviluppo di una sindrome nefrotica con edema, iperalbuminemia e marcata proteinuria. Dal punto di vista diagnostico evidenziano parametri renali elevati, come

anche e specialmente in caso di infezione con il sierotipo Dobrava, una trombocitopenia. Emorragie vengono osservate soprattutto in caso di infezioni con sierotipi Hantaan, Seoul e Dobrava Af, in questi casi si parla di una febbre emorragica con sindrome renale (HFRS). La maggior parte dei casi ha tuttavia un percorso clinico inapparente. La malattia sembra lasciare un'immunità permanente, dato che dopo la malattia gli anticorpi rimangono dimostrabili nel siero anche dopo decenni.

In Europa vi sono poche informazioni su casi con interessamento polmonare.

CONFERMA DEI HANTAVIRUS

Normalmente viene eseguita una diagnosi sierologica. La conferma di anticorpi IgM fa sospettare un'infezione recente, mentre l'aumento del titolo degli anticorpi IgG confermano la diagnosi. In Europa sono stati diagnosticati più di 1000 casi, che quando è stata eseguita una subtipizzazione per la maggior parte sono stati attribuiti al sierotipo Puumala e/o Hantaan.

La distinzione sierologica delle due varianti è molto difficile a causa delle numerose reazioni crociate, infatti durante la malattia acuta e l'inizio della convalescenza possono insorgere neutralizzazioni crociate.

Una descrizione dettagliata dei test utilizzati per questo studio è riportata nell'allegato 2.

TERAPIA

Non esiste una terapia specifica, la ribavirina è in discussione come possibile trattamento. Può essere necessaria una terapia sintomatica

della malattia di base (dialisi in caso di coinvolgimento dei reni, trasfusioni).

REFERTO DI LABORATORIO

17 partecipanti sono risultati positivi al test di screening, mentre 9 erano al limite della positività. È stato possibile identificare soltanto 7 persone in base al test di conferma dotblot. Nel dettaglio tre erano i soggetti che mostravano anti-

corpi contro il sierotipo Puumala, mentre 4 avevano anticorpi contro il sierotipo Hantaan e/o Dobrava. Il sierotipo Seoul non è stata dimostrata.

DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

La sieroprevalenza più alta è stata rilevata nel Tirolo orientale con San Candido, Dobbiaco e Sesto con il 2,0% (n=2). Nelle altre aree la sieroprevalenza era al di sotto dell'1% (Unterinntal

0,9% (n=3), Oberinntal 0,7% (n=1) e l'Inntal centrale 0,3% (n=1).

(Figura 24, allegato 1, tabella 28).

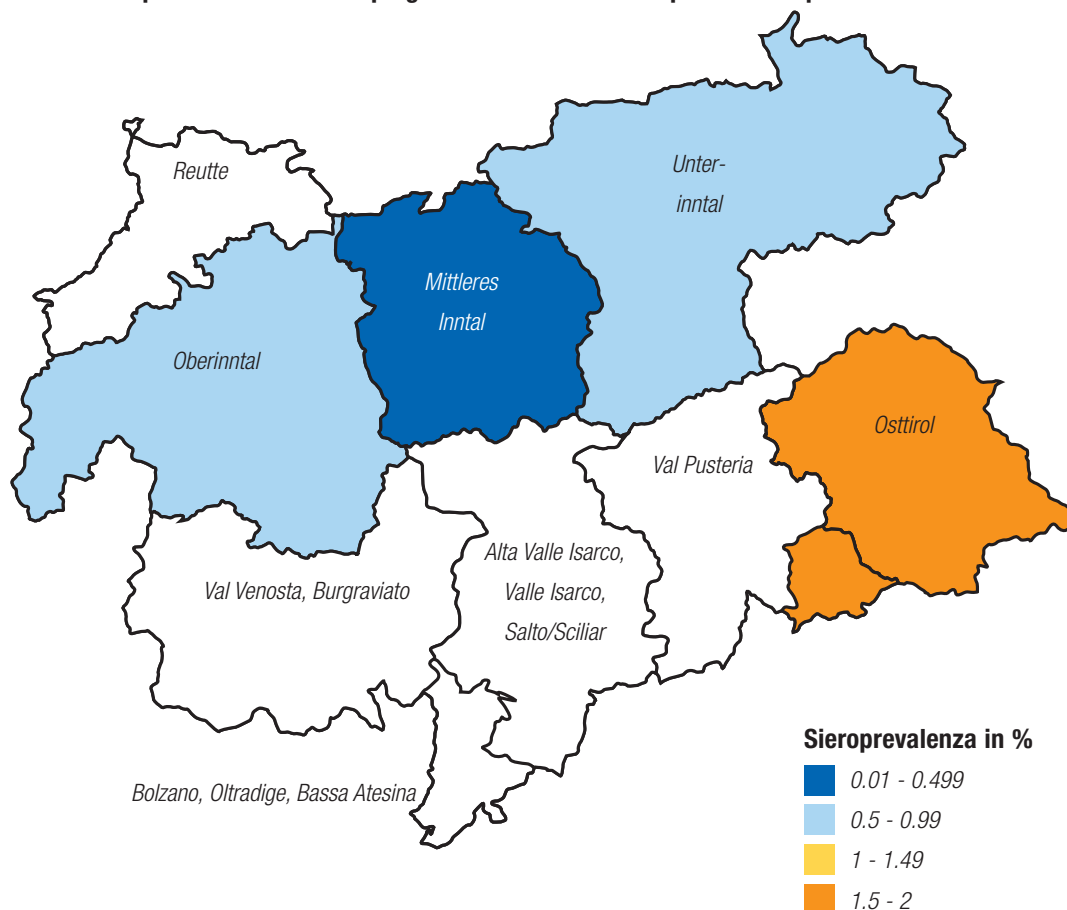
DISTRIBUZIONE PER ETÀ E SESSO

Sono risultati sieropositivi 4 donne (57,1%) e 3 uomini (42,9%), cinque erano le persone di età superiore ai 40 anni (71,4%). Nessuno aveva

indicato sintomi clinici relativi ad un'infezione renale florida oppure già conclusa.

Figura 25

Sieroprevalenza di anticorpi IgG contro Hantavirus in percentuale per area studiata



FATTORI DI RISCHIO

Non sono stati identificati fattori di rischio per una sieropositività (in un'analisi univariata) (allegato 1, tabella 29)

Commento: *Le infezioni con Hantavirus dei sottotipi Puumala e Hantaan/Dobrava sembrano limitarsi al bacino idrografico Donau, la prevalenza corrisponde a quella delle aree confinanti della Germania meridionale. I medici devono essere informati sulla presenza e sul quadro clinico della malattia per poterla considerare nelle diagnosi differenziale. Attualmente presso l'Istituto d'Igiene dell'Università di Innsbruck in base ai risultati di questo studio, viene sviluppato un metodo di accertamento sierologico della diagnosi con sospetto.*

Sebbene anche in Alto Adige siano diffusi i potenziali serbatoi, non è stato possibile trovare un'indicazione su un'infezione con Hantavirus dei sierotipi Hantaan, Puumala, Dobrava e Seoul. Anche qui la sieroprevalenza è probabilmente al di sotto dell'1%, anche se a causa del metodo di selezione dei partecipanti (donatori di sangue) la sieroprevalenza nella popolazione in generale potrebbe essere un poco più alta. In Alto Adige le infezioni con Hantavirus si manifestano attualmente soltanto in persone con un'anamnesi di viaggio corrispondente oppure con una permanenza nel Tirolo settentrionale ed orientale ed è in questi casi che la infezione deve essere considerata nella diagnosi differenziale.

Allegati

Allegato 1

TABELLA

Tabelle demografiche

Tabella 1

Numero campioni della popolazione intera

Distretto	Numero residenti	Numero partecipanti per 1000 abitanti	Numero partecipanti
Bolzano	97232	1,35%	131
Burgraviato	88326	1,11%	98
Val Isarco	44464	1,03%	46
Val Pusteria	73146	1,53%	112
Salto-Sciliar	44441	1,42%	63
Val Venosta	34242	1,34%	46
Alta Val Isarco	17735	1,92%	34
Oltradige-Bassa Atesina	62956	1,32%	83
Imst	52658	1,58%	83
Innsbruck-Land	154940	1,79%	278
Innsbruck-Stadt	113392	0,98%	111
Kitzbühel	59191	1,06%	63
Kufstein	93702	1,49%	140
Landeck	42799	1,38%	59
Lienz	50404	1,65%	83
Reutte	31584	1,84%	58
Schwaz	74834	1,51%	113
TOTALE	1136046	1,41%	1601

Tabella 2

Struttura della popolazione intera e quella oggetto dello studio in Alto Adige

	Popolazione	% della popolazione	Numero campioni	% dei campioni
Intero Alto Adige	467338			
Bolzano	95400	20,4%	131	21,4%
Burgraviato	89718	19,2%	98	16,0%
Val Inarco	45438	9,7%	46	7,5%
Val Pusteria	74182	15,9%	112	18,3%
Salto-Sciliar	45332	9,7%	63	10,3%
Val Venosta	34435	7,4%	46	7,5%
Alta Val Isarco	17983	3,8%	34	5,5%
Bassa Atesina	64850	13,9%	83	13,5%
Uomini	230188	49,3%	323	52,6%
Donne	237150	50,7%	291	47,4%
20-39 anni	142727	30,5%	323	52,2%
40-59 anni	118609	25,4%	296	47,8%
Città (> 10.000 AB)	189977	40,7%	256	41,8%
Paese (<= 10.000 AB)	277361	59,3%	357	58,2%
Luogo di residenza > 1200m	44027	9,4%	55	9,0%
Luogo di residenza fino a 1200m	423311	90,6%	558	91,0%

Tabella 3

Struttura della popolazione intera e quella oggetto dello studio nel Tirolo settentrionale ed orientale

	<i>popolazione</i>	<i>% della popolazione</i>	<i>numero campioni</i>	<i>% dei campioni</i>
<i>Tirolo settentrionale ed orientale intero</i>	673504		988	
<i>Schwaz</i>	74834	11,10%	113	11,4%
<i>Kufstein</i>	93702	13,90%	140	14,2%
<i>Kitzbühel</i>	59191	8,80%	63	6,4%
<i>Innsbruck Stadt</i>	113392	16,80%	111	11,2%
<i>Innsbruck Land</i>	154940	23%	278	28,1%
<i>Imst</i>	52658	7,80%	83	8,4%
<i>Landeck</i>	42799	6,40%	59	6,0%
<i>Reutte</i>	31584	4,70%	58	5,9%
<i>Lienz/Tirolo orientale</i>	50404	7,50%	83	8,4%
<i>Uomini</i>	328010	48,70%	478	48,4%
<i>Donne</i>	345494	51,30%	509	51,6%
<i>20-39 anni</i>	210011	31,20%	512	51,8%
<i>40-59 anni</i>	171491	25,50%	476	48,2%
<i>Città (> 10.000 AB)</i>	188251	28%	188	19,0%
<i>Paese (<= 10.000 AB)</i>	485253	72%	800	81,0%
<i>Luogo di residenza > 1200m</i>	36306	5,40%	66	6,7%
<i>Luogo di residenza fino a 1200m</i>	637198	94,60%	922	93,3%

Tabella 4

Percentuale della popolazione oggetto dello studio che è attiva in agricoltura oppure in attività forestale

	<i>Alto Adige</i>	<i>Tirolo settentrionale ed orientale</i>
<i>Numero persone che sono attive in agricoltura (%)</i>	25 (4,0)	33 (3,3)

Tabella 5

Attività ricreative all'aperto secondo il tipo di attività e la media di ore durante una settimana

	<i>Numero ore in media durante una settimana in tutta l'area studiata (valore medio, minimo-massimo)</i>	<i>Numero partecipanti che hanno risposto</i>
<i>Escursioni</i>	5.4 ore (4; 0.5-48)	724
<i>Ciclismo</i>	4.6 ore (3; 0.3-42)	580
<i>Nuoto</i>	4.2 ore (2; 0.1-36)	392
<i>Giardinaggio</i>	4.3 ore (3; 0.2-30)	403
<i>Raccolta dei funghi</i>	3,1 ore (2; 0,2-20)	162
<i>Agricoltura</i>	11.9 ore (8; 0.1-56)	182
<i>Caccia</i>	11.0 ore (5; 3-40)	9

Tabella 6

Frequenza delle punture da zecca anamnestiche per area studiata (n=338)

	Numero persone che hanno riferito 1-5 punture (%)	Numero persone che hanno riferito 6-20 punture (%)	Numero persone che hanno riferito più di di 20 punture (%)	Totale
<i>Tirol settentrionale ed orientale</i>	242 (81,5)	45 (15,2)	10 (3,4)	297 (87,9)
<i>Alto Adige</i>	34 (82,9)	3 (7,3)	4 (9,8)	41 (12,1)
Numero totale	276 (81,7)	48 (14,2)	14 (4,1)	338 (100)

338 persone hanno dato indicazioni sul numero di punture

Tabella 7

Numero punture da zecca per area studiata

Territorio	Numero punture da zecca riferite	%	Proporzione di partecipanti con un'anamnesi da zecca
<i>Bolzano, Oltradige, Bassa Atesina</i>	57	8,6%	15,0%
<i>Valle Isarco, Alta Valle Isarco, Salto, Sciliar</i>	2	0,3%	4,9%
<i>Val Pusteria senza San Candido, Dobbiaco, Sesto</i>	21	3,2%	3,2%
<i>Val Venosta, Burgraviato</i>	8	1,2%	3,5%
<i>Inntal centrale</i>	169	25,5%	36,5%
<i>Oberinntal</i>	24	3,6%	27,5%
<i>Tirol orientale con San Candido, Dobbiaco, Sesto</i>	15	2,3%	20,0%
<i>Reutte</i>	9	1,4%	24,1%
<i>Unterinntal</i>	358	54,0%	45,9%
TOTALE	663		

rosso = *Tirol settentrionale ed orientale*

nero = *Alto Adige*

Tabella 8

Indicazione dettagliata delle punture da zecca riferite per area studiata (n=663)

Paese	Luogo di notifica della puntura	Numero punture da zecca riferite
<i>Italia</i>	<i>Ora</i>	1
<i>I</i>	<i>Bolzano</i>	24
<i>I</i>	<i>Brunico</i>	20
<i>I</i>	<i>Appiano s.s.d.v.</i>	31
<i>I</i>	<i>Merano</i>	1
<i>I</i>	<i>Val di Vizze</i>	1
<i>I</i>	<i>S. Lorenzo</i>	1
<i>I</i>	<i>Vipiteno</i>	1
<i>I</i>	<i>Tirolo</i>	6
<i>I</i>	<i>Termeno s.s.d.v.</i>	1
<i>I</i>	<i>Senales</i>	1
<i>Austria</i>	<i>Innsbruck</i>	31
<i>A</i>	<i>Imst</i>	1
<i>A</i>	<i>Jerzens</i>	5
<i>A</i>	<i>Mieming</i>	2
<i>A</i>	<i>Mils bei Im</i>	5
<i>A</i>	<i>Nassereith</i>	3
<i>A</i>	<i>Silz</i>	2
<i>A</i>	<i>Umhausen</i>	1
<i>A</i>	<i>Wenns</i>	3
<i>A</i>	<i>Absam</i>	1
<i>A</i>	<i>Axams</i>	1
<i>A</i>	<i>Fritzens</i>	2
<i>A</i>	<i>Fulpmes</i>	1
<i>A</i>	<i>Gnadenwald</i>	6
<i>A</i>	<i>Gries am Br</i>	1
<i>A</i>	<i>Hall in Tir</i>	9
<i>A</i>	<i>Inzing</i>	4
<i>A</i>	<i>Kematen in</i>	2
<i>A</i>	<i>Kolsass</i>	7
<i>A</i>	<i>Mils</i>	2
<i>A</i>	<i>Mühlbachl</i>	2
<i>A</i>	<i>Natters</i>	2
<i>A</i>	<i>Navis</i>	1
<i>A</i>	<i>Neustift im Stubaital</i>	2
<i>A</i>	<i>Pfons</i>	2
<i>A</i>	<i>Ranggen</i>	1
<i>A</i>	<i>Steinach am Brenner</i>	2
<i>A</i>	<i>Volders</i>	3
<i>A</i>	<i>Völs</i>	2
<i>A</i>	<i>Wattens</i>	7
<i>A</i>	<i>Zirl</i>	78
<i>A</i>	<i>Brixen im T</i>	3
<i>A</i>	<i>Fieberbrunn</i>	3
<i>A</i>	<i>Hopfgarten</i>	1
<i>A</i>	<i>Kirchberg i</i>	1
<i>A</i>	<i>Kirchdorf i</i>	2
<i>A</i>	<i>Kitzbühel</i>	2
<i>A</i>	<i>Kössen</i>	2
<i>A</i>	<i>St. Johann</i>	4

<i>Paese</i>	<i>Luogo di notifica della puntura</i>	<i>Numero punture da zecca riferite</i>
A	Westendorf	1
A	Alpbach	2
A	Breitenbach	7
A	Brixlegg	2
A	Ebbs	6
A	Kramsach	31
A	Kufstein	62
A	Kundl	22
A	Münster	28
A	Niederndorf	4
A	Niederndorf	6
A	Rettenschöß	6
A	Schwoich	2
A	Thiersee	2
A	Wildschönau	3
A	Wörgl	11
A	Stengen	2
A	Leisach	5
A	Lienz	2
A	Nikolsdorf	1
A	Nußdorf-Debant	6
A	Virgen	1
A	Breitenwang	1
A	Ehrwald	1
A	Lechaschau	1
A	Lermoos	1
A	Pflach	2
A	Reutte	2
A	Schattwald	1
A	Aschau im Z.	6
A	Buch bei J.	2
A	Finkenberg	2
A	Fügen	25
A	Fügenberg	8
A	Hainzenberg	1
A	Hart im Zillertal	6
A	Hippach	1
A	Jenbach	43
A	Rohrberg	1
A	Stumm	19
A	Stummerberg	1
A	Terfens	7
A	Vomp	2
A	Weer	1
A	Wiesing	1
A	Zell am Zil	12
A	Zellberg	7
TOTALE		663

BORRELIA BURGDORFERI S.L.

Tabella 9

Numero e percentuale di positivi gli area (n=79)

Territorio	Numero persone positive per gli anticorpi IgG per B. burgdorferi s.l.	Prevalenza	Numero partecipanti
Bolzano, Oltradige, Bassa Atesina	4	1,9%	214
Valle Isarco, Alta Valle Isarco, Salto, Sciliar	1	0,7%	143
Val Pusteria senza San Candido, Dobbiaco, Sesto	1	1,1%	95
Val Venosta, Burgraviato	3	2,1%	144
Inntal centrale	24	6,2%	389
Oberinntal	6	4,2%	142
Tirol orientale con San Candido, Dobbiaco, Sesto	6	6,0%	100
Reutte	5	8,6%	58
Unterinntal	29	9,2%	316
TOTALE	79	4,9%	1601

rosso = Tirol settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 10

Possibili luoghi di infezione con (n=24) e senza un'anamnesi da zecca (n=56)

Comuni	Alto Adige	Tirol settentrionale ed orientale	Anamnesi da zecca	Comune di residenza
Badia	X			1
Ora	X			1
Bolzano	X			2
Appiano s.s.d.v.	X			1
Cornedo	X			1
Castelbello	X			1
Parcines	X			1
Sluderno	X			1
Innsbruck		X	2	6
Jerzens		X	1	1
Mils bei Imst		X	1	1
Silz		X	1	
Wenns		X		1
Gries am Brenner		X	1	
Hall in Tirol		X	1	1
Inzing		X		1
Kematen		X		2
Neustift im Stubaital		X		1
Oberperfuss		X		1
Pfons		X		1
Rum		X		1
Telfes im Stubaital		X	1	
Thaur		X	1	
Zirl		X	2	2
Brixen im Thale		X	1	

Comuni	Alto Adige	Tirolo settentrionale ed orientale	Anamnesi da zecca	Comune di residenza
Itter		X		1
Sankt Johann		X		3
Westendorf		X		1
Brixlegg		X	1	1
Kirchbichl		X		1
Kramsach		X	2	
Kufstein		X	2	2
Münster		X	1	
Niederdorf		X		1
Schwoich		X		2
Wörgl		X	1	1
Assling		X		1
Dölsach		X		1
Leisach		X		3
Lienz		X		1
Gramais		X	1	
Höfen		X		1
Musau		X		1
Pflach		X	1	
Rette		X		1
Finkenberg		X	1	
Fügen		X	1	1
Hart im Zillertal		X		1
Jenbach		X		1
Rohrberg		X	1	
Wiesing		X		1
Zell am Ziller		X		2
TOTALE			24	56

Tabella 11

Distribuzione per sesso e per area studiata (n=79)

	Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)	Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)	Numero totale campioni positivi (%)
Donne	25 (4,9)	2 (0,7)	27 (3,4)
Uomini	45 (9,4)	7 (2,2)	52 (6,5)

Tabella 12

Distribuzione per età e area studiata (n=79)

	<i>Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)</i>	<i>Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)</i>	<i>Numero totale campioni positivi (%)</i>
20-39 anni	29 (5,7)	3 (0,9)	32 (3,8)
40-60 anni	41 (8,6)	6 (2,0)	47 (6,1)

Tabella 13

Fattori di rischio per la sieropositività contro le Borrelie

	<i>Crude OR</i>	<i>95% intervallo di confidenza</i>
*puntura da zecca anamnestic	2,89	1,76-4,76
Nessuna puntura da zecca anamnestic	Ref.	
Attività ricreativa all'aperto	1,25	0,51-3,28
Nessuna attività ricreativa all'aperto	Ref.	
Attività lavorativa collegata alla permanenza all'aperto	1,30	0,62-2,73
Nessun attività lavorativa collegata alla permanenza all'aperto	Ref.	
Anamnesi di viaggio positiva (Africa, Asia, Sudamerica, Stati GUS)	0,90	0,50-1,62
Anamnesi di viaggio negativa	Ref.	
Rimozione della zecca con olio, colla, crema ecc.	0,72	0,31-1,68
Altro metodo di rimozione della zecca	Ref.	
Attività di agricoltura e giardinaggio eseguiti	1,16	0,72-1,90
Nessun attività di agricoltura e giardinaggio eseguiti	Ref.	

* differenza statistico significativa

BABESIE

Tabella 14

Livello del titolo anticorpale IgG per babesie per area studiata (n=38)

	<i>Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)</i>	<i>Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)</i>	<i>Numero totale campioni positivi (%)</i>
1:64	9 (42,9)	3 (17,6)	12 (31,6)
1:128	9 (42,9)	5 (45,8)	14 (36,8)
1:256	3 (14,3)	7 (41,2)	10 (26,3)
1:512	-	1 (5,9)	1 (2,6)
1:1024	-	1 (3,1)	1 (2,6)
TOTALE	21 (55,3)	17 (44,7)	38

Tabella 15

Numero e percentuale di persone positive per area studiata (n=38)

	Numero persone positive per anticorpi IgG per babesia	Prevalenza	Numero partecipanti
Bolzano, Oltradige, Bassa Atesina	6	2,8%	214
Valle Isarco, Alta Val Isarco, Salto, Sciliar	3	2,1%	143
Val Pusteria senza San Candido, Dobbiaco, Sesto	5	5,3%	95
Val Venosta, Burgraviato	3	2,1%	144
Inntal centrale	11	2,8%	389
Oberinntal	1	0,7%	142
Tirol orientale con San Candido, Dobbiaco, Sesto	2	2,0%	100
Reutte	1	1,7%	58
Unterinntal	6	1,9%	316
TOTALE	38	4,9%	1601

rosso = Tirol settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 16

Possibili luoghi di infezione con (n=7) e senza puntura da zecca ricordata (n=32)

Comuni	Alto Adige	Tirol settentrionale ed orientale	Anamnesi da zecca	Luogo di residenza
Innsbruck		x	1	5
Jerzens		x	1	
Axams		x		2
Fulpmes		x		2
Kolsass		x		1
Steinach am Brenner	x		1	
Sankt Johann	x	1	1	
Kufstein		x		1
Münster		x		1
Leisach		x		1
Virgen		x		1
Reutte		x		1
Fügen		x	2	
Bolzano	x		1	4
Corvara	x			1
Campo Tures	x			1
Chienes	x			1
Lana	x			1
Merano	x			2
Natz-Scaves	x			1
S. Lorenzo	x		1	.
Terlano	x			1
Monguelfo	x			2
Selva Gardena	x			1
TOTALE			7	32

Tabella 17

Distribuzione per sesso con anticorpi IgG per babesie per area studiata (n=38)

	<i>Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)</i>	<i>Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)</i>	<i>Numero totale campioni positivi (%)</i>
<i>Donne</i>	13 (2,6)	11 (3,8)	24 (3,0)
<i>Uomini</i>	8 (1,7)	11 (1,9)	14 (1,7)

Tabella 18

Altersverteilung der Babesien IgG AK nach Studienregion (n=38)

	<i>Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)</i>	<i>Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)</i>	<i>Numero totale campioni positivi (%)</i>
<i>20-39 anni</i>	6 (1,2)	6 (1,9)	12 (1,4)
<i>40-60 anni</i>	15 (3,2)	11 (3,7)	26 (3,4)

Tabella 19

Fattori di rischio per la babesiosi

	<i>Crude OR</i>	<i>95% intervallo di confidenza</i>
<i>Puntura da zecca anamnestic</i>	0,67	0,26-1,63
<i>Nessuna puntura da zecca anamnestic</i>	Ref.	
<i>Attività ricreativa all'aperto</i>	1,19	0,34-4,98
<i>Nessuna attività ricreativa all'aperto</i>	Ref.	
<i>Attività lavorativa collegata alla permanenza all'aperto</i>	0,36	0,09-1,27
<i>Nessun attività lavorativa collegata alla permanenza all'aperto</i>	Ref.	
<i>Anamnesi di viaggio positiva (Africa, Asia, Sudamerica, Stati GUS)</i>	0,96	0,44-2,09
<i>Anamnesi di viaggio negativa</i>	Ref.	
<i>Rimozione della zecca con olio, colla, crema ecc.</i>	1,17	0,24-7,84
<i>Altro metodo di rimozione della zecca</i>	Ref.	

HGE (*Anaplasma phagocytophilum*)

Tabella 20

Livello del titolo anticorpale IgG per l'HGE per area studiata (n=83)

	Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)	Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)	Numero totale campioni positivi (%)
1:64	21 (42,9)	18 (52,9)	39 (47,0)
1:128	16 (32,7)	11 (32,4)	27 (32,5)
1:256	8 (16,3)	3 (8,8)	11 (13,3)
1:512	3 (6,1)	2 (5,9)	5 (6,0)
1:1024	1 (2,0)		1 (1,2)
TOTALE	49 (59,0)	34 (41,0)	83

Tabella 21

Numero e percentuale delle persone positive per area (n=83)

	Numero persone positive con anticorpi IgG per HGE	Prevalenza	Numero partecipanti
Bolzano, Oltradige, Bassa Atesina	13	6,1%	214
Valle Isarco, Alta Val Isarco, Salto, Sciliar	6	4,2%	143
Val Pusteria senza San Candido, Dobbiaco, Sesto	3	3,2%	95
Val Venosta, Burgraviato	7	4,9%	144
Inntal centrale	15	3,9%	389
Oberinntal	5	3,5%	142
Tirolo orientale con San Candido, Dobbiaco, Sesto	11	11,0%	100
Reutte	3	5,2%	58
Unterinntal	19	6,0%	316
TOTALE	82	5,1%	1601

rosso = Tirolo settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 22

Possibili luoghi di infezione con (n=19) e senza puntura da zecca ricordata (n=66)

Comuni	Alto Adige	Tirolo settentrionale ed orientale	Anamnesi da zecca	Comune di residenza
Innsbruck		X	1	3
Jerzens		X		1
Nassereith		X	1	
Fulpmes		X		1
Hall in Tirol		X	1	
Inzing		X	1	
Neustift im Stubaital	X		1	
Rum		X		1
Seefeld in Tirol	X		1	
Steinach am Brenner	X	1	1	
Thaur		X	1	
Völs		X	2	

Comuni	Alto Adige	Tirol settentrionale ed orientale	Anamnesi da zecca	Comune di residenza
Zirl		X	1	
Brixen im Thale		X	1	
Westendorf		X		1
Breitenbach		X	1	
Kufstein		X	1	1
Niederndorf		X		1
Schwoich		X	1	
Wildschönau		X		2
Wörgl		X		2
Sankt Anton am Arlberg	X		1	
Strengen		X		2
Assling		X		2
Leisach		X	1	
Lienz		X		2
Schlaiten		X		1
Virgen		X		1
Musau		X		1
Nesselwängle	X		1	
Tannheim		X		1
Finkenberg		X	1	
Fügen		X	1	1
Fügenberg		X	1	
Hart im Zillertal	X		2	
Jenbach		X		1
Terfens		X	1	
Zell am Ziller		X		1
Bolzano	x			8
Brennero	x			1
Bressanone	x			1
Brunico	x			1
Nova Ponente	x			1
Appiano s.s.d.v.	x		1	1
Gais	x			1
San Candido	x			1
Caldaro s.s.d.v.	x			1
Cornedo	x			1
Castelrotto	x			1
Lana	x			1
Laces	x			1
Laives	x			3
Merano	x			3
Prato allo Stelvio	x			1
Silandro	x			1
Sesto	x			2
Vipiteno	x			1
Dobbiaco	x			1
Monguelfo	x			1
TOTALE			19	66

Tabella 23

Distribuzione per sesso per anticorpi IgG per HGE per area studiata (n=83)

	<i>Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)</i>	<i>Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)</i>	<i>Numero totale campioni positivi (%)</i>
<i>Donne</i>	19 (3,7)	13 (4,5)	32 (4,0)
<i>Uomini</i>	30 (6,3)	20 (6,2)	82 (5,1)

Tabella 24

Distribuzione per età per anticorpi IgG per HGE per area studiata (n=83)

	<i>Numero campioni positivi nel Tirolo settentrionale ed orientale (%)</i>	<i>Numero campioni positivi per L'Alto Adige (%)</i>	<i>Numero totale campioni positivi (%)</i>
<i>20-39 anni</i>	29 (5,7)	15 (4,6)	44 (5,3)
<i>40-60 anni</i>	20 (4,2)	19 (6,4)	39 (5,1)

Tabella 25

Risikofaktoren für HGE

	<i>Crude OR</i>	<i>95% intervallo di confidenza</i>
<i>Puntura da zecca anamnestica</i>	1,16	0,68-1,96
<i>Nessuna puntura da zecca anamnestica</i>	Ref.	
<i>Attività ricreativa all'aperto</i>	0,64	0,32-1,32
<i>Nessuna attività ricreativa all'aperto</i>	Ref.	
<i>Attività lavorativa collegata alla permanenza all'aperto</i>	0,28	0,12-0,63
<i>Nessun attività lavorativa collegata alla permanenza all'aperto</i>	Ref.	
<i>Anamnesi di viaggio positiva (Africa, Asia, Sudamerica, Stati GUS)</i>	0,82	0,46-1,47
<i>Anamnesi di viaggio negativa</i>	Ref.	
<i>Rimozione della zecca con olio, colla, crema ecc.</i>	1,0	0,41-2,56
<i>Altro metodo di rimozione della zecca</i>	Ref.	

* differenza statisticamente significativa

TBE

Tabella 26

Livello di titolo anticorpale contro il virus della TBE negli altoatesini vaccinati contro l'EEC (n=11)

	Numero vaccinati (%)
1:40	1 (9,1)
1:30	1 (9,1)
1:20	3 (27,3)
1:15	1 (9,1)
1:10	1 (14,3)
Nessun anticorpo evidenziato nel test di neutralizzazione	4 (36,4)

West Nile Virus (WNV)

Tabella 27

Stato vaccinale contro l'EEC e sieropositività contro il WNV

	Numero di persone che hanno riferito di essere vaccinate contro la TBE (%)	Numero di persone che hanno riferito di non essere vaccinate contro la TBE (%)	Stato vaccinale contro l'EEC non chiaro	Totale
Positivi	417 (90,5)	14 (3,0)	30 (6,5)	461 (89,7)
Al limite della positività	51 (96,2)	(1,9)	1 (9,1)	53 (3,3)
Negativi	255 (23,3)	653 (59,7)	185 (16,9)	1093 (68,0)
TOTALE	723 (45)	668 (41,6)	216 (13,4)	

121

Hantaviren

Tabella 28

Numero e percentuale di persone positive per area (n=7)

	Numero persone positive per anticorpi IgG per B. burgdorferi s.l.	Prevalenza	Numero partecipanti
Bolzano, Oltradige, Bassa Atesina		0,0%	214
Val Isarco, Alta Valle Isarco, Salto, Sciliar		0,0%	143
Val Pusteria senza San Candido, Dobbiaco, Sesto		0,0%	95
Val Venosta, Burgraviato		0,0%	144
Inntal centrale	1	0,3%	389
Oberinntal	1	0,7%	142
Tirol orientale con San Candido, Dobbiaco, Sesto	2	2,0%	100
Reutte		0,0%	58
Unterinntal	3	0,9%	316
TOTALE	7	0,4%	1601

rosso = Tirol settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 29

Fattori di rischio per la sieropositività per Hantavirus

	OR	95% intervallo di confidenza
<i>Attività ricreativa all'aperto indicata</i>	0,61	0,07-13,75
<i>Attività ricreativa all'aperto non indicata</i>	Ref.	
<i>Attività lavorative correlate alla permanenza all'aperto</i>	0,92	0,02-34,00
<i>Attività lavorative non correlate alla permanenza all'aperto</i>	Ref.	
<i>Anamnesi di viaggio positiva (Africa, Asia, Sudamerica, Stati GUS)</i>	0,35	0,02-2,95
<i>Anamnesi di viaggio negativa</i>	Ref.	
<i>Agricoltura e giardinaggio</i>	1,11	0,21-6,30
<i>Nessuna agricoltura e giardinaggio</i>	Ref.	

Allegato 2

DISEGNO DELLO STUDIO, MATERIALI E METODI

Indice

Disegno dello studio	124
Selezione dei partecipanti	124
Alto Adige	124
Tirolo settentrionale ed orientale	125
Riflessioni etiche	125
Sicurezza dei dati/privacy	126
Materiali e Metodi	127
Borrelia burgdorferi sensu lato	127
Scelta dei sistemi d'analisi	127
Esecuzione dei test	127
Babesia spp.	127
Scelta dei sistemi d'analisi	127
Produzione dei sistemi di test	128
Esecuzione dei test	128
Stabilire i valori di cut-off	129
Anaplasma phagocytophilum	129
Scelta dei sistemi d'analisi	129
Test d'immunofluorescenza	130
IgG-Westernblot	130
Stabilire i valori di cut-off	130
TBE	131
Scelta dei sistemi d'analisi	131
Esecuzione dei test	131
West Nile Virus	131
Scelta dei sistemi d'analisi	131
Esecuzione dei test	132
Hantavirus	132
Scelta dei sistemi d'analisi	132
Esecuzione dei test	133

Disegno dello studio

Lo studio condotto è uno studio „cross sectional“ per rilevare la sieroprevalenza per gli agenti patogeni contro *Borrelia spp*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia spp.*, *Virus TBE*, *Hantavirus*, *WNV* e *Rosolia* (donne tra i 20-45 anni) in una popolazione sana. Per tutti i partecipanti è stato rilevato un questionario standardizzato

(vedi allegato) al fine di analizzare i probabili fattori di rischio oppure anche fattori con una possibile influenza sul risultato del test (p.es. vaccinazione). Il questionario è stato compilato dal partecipante stesso, controllato, e i dati sono stati inseriti nella banca dati elettronica (epiinfo versione 3.3 2003, CDC Atlanta) ed analizzati.

Selezione dei partecipanti

A causa della diversa organizzazione dei servizi trasfusionali in Italia rispetto all'Austria, il metodo di selezione dei partecipanti differisce leggermente nei due Paesi.

La selezione è stata eseguita in modo che partecipasse allo studio circa uno su mille appartenenti alle diverse fasce d'età della popolazione residente e che per la maggior parte delle sieroprevalenze esaminate vi fosse una precisione al di sotto del 3% basata sulla rilevazione eseguita nel Tirolo settentrionale ed in altre regioni dell'Europa centrale.

Per lo studio sono state considerate le persone che:

- nel periodo dal 1 dicembre 2003 al 1 maggio 2004 si sono recate a donare sangue in uno dei 7 servizi trasfusionali che sono situati negli ospedali della Provincia Autonoma di Bolzano oppure si sono rivolte alla Croce Rossa del Tirolo settentrionale ed orientale, responsabili per l'organizzazione delle necessarie procedure;
- sono di età tra i 20 ed i 60 anni (nati tra il 1 dicembre 1943 ed il 1 dicembre 1983) e sono residenti da almeno 5 anni in Alto Adige oppure nel Tirolo settentrionale ed orientale.

Alto Adige

I servizi trasfusionali sono situati all'interno degli ospedali, vale a dire a Bolzano, Bressanone, Brunico, Vipiteno e San Candido, e vengono coordinati dal servizio trasfusionale di Bolzano (primario Dr. O. Prinoth), mentre quello di Silandro viene coordinato da Merano (primario Dr. M. Mitterer). In Alto Adige sono registrati ca. 18.000 donatori di sangue, che si presentano di solito una volta all'anno nei vari ospedali per donare il

sangue. La lista dei 611 partecipanti selezionati è stata trasmessa al servizio centrale responsabile per l'invio degli inviti scritti (AVIS). All'invito scritto sono stati allegati una lettera informativa, una dichiarazione di consenso e il questionario. Ogni partecipante è stato pregato di compilare quest'ultimo e la dichiarazione di consenso ed è stato invitato a portarla con sé alla prossima donazione. I partecipanti dell'Alto Adige sono

stati 611. Le caratteristiche demografiche della popolazione oggetto dello studio erano molto simili a quelle dell'intera popolazione altoatesina (Tabella 1). Ai partecipanti è stato spiegato lo scopo dello studio ed il questionario da loro compilato è stato controllato. Il questionario, il campione di sangue e la dichiarazione di consenso sono poi stati muniti di codice identificativo.

Durante il prelievo per lo screening per la donazione di sangue sono quindi stati prelevati ulteriori 10ml di sangue, centrifugati e surgelati a -70°C e trasportati adeguatamente (ghiaccio secco) fino al Laboratorio del Dipartimento di Igiene, Microbiologia e Medicina Sociale dell'Università di Medicina di Innsbruck per eseguire la maggior parte dei test di laboratorio.

Tirolo settentrionale ed orientale

Nel Tirolo settentrionale ed orientale l'attività della donazione del sangue è stata eseguita nell'Istituto centrale per le trasfusioni di sangue delle Cliniche Universitarie di Innsbruck (=servizio donazione sangue) (Primario Prof. Dr. D. Schönitzer). Le persone iscritte come donatori sono ca. 200.000. Le donazioni sono state raccolte decentralmente dai servizi trasfusionali; i servizi trasfusionali hanno invitato per iscritto un certo numero di donatori di un determinato comune dove poi le persone si sono recate per eseguire il prelievo.

I partecipanti sono stati scelti come in Alto Adige in modo casuale, sono poi stati contattati

per iscritto allegando all'invito la documentazione necessaria pregando di consegnarla al momento della donazione. La procedura della donazione di sangue corrispondeva a quella in Alto Adige (vedi sopra).

Dato che la percentuale di partecipazione delle persone scelte era più bassa che in Alto Adige, sono stati reclutati ulteriori partecipanti. Per garantire la rappresentatività sono stati esclusi alcuni partecipanti.

I partecipanti scelti per lo studio sono 988, per i quali fattori demografici coincidono con quelli della popolazione generale. (Tabella 2).

Riflessioni etiche

La partecipazione allo studio è stata volontaria. Tutti i partecipanti sono stati informati sullo scopo dello studio per iscritto (tramite breve descrizione) e verbalmente (da parte delle infermiere oppure dal medico che ha eseguito il prelievo). Sono stati informati che solo in caso di mancata protezione contro la rosolia era previ-

sta la comunicazione dei risultati ai partecipanti.

Nell'ambito dell'esame di screening per la donazione del sangue è stato prelevato un ulteriore campione di sangue e per questo motivo non è stato previsto un ulteriore prelievo venoso. A tutti i partecipanti è stata chiesta una

dichiarazione di consenso (vedi allegato).

In assenza di anticorpi IgG e di indicazione di malattia cronica, eccetto per la borreliosi, non è stata prevista alcuna terapia anche in caso di

risultato del test positivo. Lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'Azienda sanitaria di Bolzano.

Sicurezza dei dati/privacy

Tutti i dati rilevati sono stati trattati con la massima riservatezza. Non è possibile identificare i singoli individui nella banca dati epidemiologica e in quella di laboratorio.

Materiali e Metodi

BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO

Scelta dei sistemi d'analisi

L'analisi degli anticorpi contro *Borrelia burgdorferi* avviene principalmente in due fasi: i campioni vengono testati con l'ELISA e i risultati positivi vengono confermati con il Westernblot. Per entrambi i test sono a disposizione più metodi commerciali. È stato scelto il test ELISA che viene utilizzato anche dal Dipartimento di

Igiene, Microbiologia e Medicina Sociale dell'Università di Innsbruck per la Diagnostica di Routine e di cui conosciamo già i valori clinici visualizzati in caso di una borreliosi confermata. Come Westernblot è stato scelto un test commerciale, che contiene una proteina VSLE ricombinante.

Esecuzione dei test

È stato utilizzato un IgG-ELISA commerciale (Enzygnost, Dade Behring) e un Westernblot commerciale (Euroline WB, Euroimmun), l'elabo-

razione è stata eseguita secondo le indicazioni del produttore.

BABESIA SPP.

Scelta dei sistemi d'analisi

Al momento non sono disponibili in commercio metodi di analisi per anticorpi contro babesie nel siero umano. Solo la ditta Focus offre un test per l'immunofluorescenza standardizzato sensibile a *Babesia microti*. Tranne un caso in Svizzera, fino adesso in Europa non è stato dimostrato alcun caso umano di *Babesia microti*. È vero che anche in alcuni donatori dell'Europa centrale sono stati trovati anticorpi contro *Babesia microti*, ma si potrebbe trattare di rari casi di contaminazioni crociate con anticorpi per *Babesia divergens*. Anche l'agente patogeno di due casi scoperti in Austria e in Italia risulta essere *Babesia divergens* e dato che non è avvenuta una produzione di anticorpi crociati con la *Babesia microti* è sensato analizzare solo il gruppo della *Babesia divergens*. Come

sistema di analisi è stato scelto un test per l'immunofluorescenza che non richiede un grande piano di sviluppo e quindi è stato disponibile dopo breve tempo.

Un'analisi contemporanea di *Babesia microti* sarebbe scientificamente interessante, ma con la dotazione diagnostica disponibile, specialmente nel Tirolo settentrionale, non è stato possibile. A causa dei dati disponibili nelle regioni vicine si è ipotizzata una bassa sieroprevalenza (al di sotto del 10%). Perciò i metodi usati dovevano garantire la sola evidenziazione degli anticorpi contro babesie. Un campione falso positivo avrebbe gravemente alterato il risultato.

120 sieri di donatori sono stati analizzati con un metodo di rischio infettivo minimale per i loro anticorpi IgG e il cut-off è stato stabilito secon-

do le linee guide della OMS per diminuire le reazioni secondarie aspecifiche al minimo.

Per escludere che gli anticorpi influenzasse-ro altre parti del sistema di analisi, soprattutto gli eritrociti di criceto, ogni siero positivo è stato riesaminato con eritrociti non contaminati e con un sistema di analisi identico.

Per l'aumentare il valore predittivo positivo e per migliorare la specificità sarebbe stato idea-

le usare un sistema d'analisi di conferma possibilmente indipendente.

Tuttavia attualmente si conosce solo il sistema usato per l'analisi di babesie e la rilevanza dei Westernblots non è stata verificata con sieri umani. Per questo ci si è limitati a ricontrollare i sieri positivi con lo stesso sistema utilizzato fin'ora.

Produzione dei sistemi di test

Un ceppo di *Babesia divergens* Hannover è stato iniettato per via intraperitoneale in alcuni topi mongoli (*Meriones unguiculatus*). Inizialmente il ceppo è stato isolato da bovini e per la conservazione del suo carattere patogeno è stato reiniettato dopo un certo intervallo. I topi sono stati controllati continuamente tramite prelievo di sangue per lo sviluppo di babesia nei loro eritrociti.

Durante le paressitemie sono stati isolati eritrociti dalla vena della coda e fissati su un portaobiettivi. Come controllo dei negativi sono stati usati eritrociti di topi non infetti.

La contaminazione crociata con il ceppo patogeno umano EU 1 è stata controllata nel siero del paziente austriaco, con risultato positivo per un titolo anticorpale di 1:256.

Esecuzione dei test

I sieri sono stati diluiti con PBS fino al livello del titolo anticorpale desiderato e incubati a 37°C per 30 minuti in una stanza umida su un portaobiettivi rivestito con antigeni.

Successivamente è stato rimosso il siero e il portaobiettivi è stato lavato con un tampone per

PBS. Poi sono stati aggiunti 20µl di coniugato e il siero è stato nuovamente incubato a 37°C per 30 minuti nella stanza umida. Dopo un ulteriore lavaggio è stata valutata la fluorescenza sotto il microscopio con un ingrandimento di 400 volte.

Stabilire i valori di cut-off

Prima dell'inizio delle analisi dei sieri dei donatori, è stato stabilito il valore locale di cut-off per i test di conferma sierologici usati, qualora non fosse stato stabilito dal fabbricante o mediante una precedente conferma con lo stesso metodo.

Secondo le linee guida OMS sono stati presi in considerazione almeno 100 sieri negativi per esaminarli con diverse diluizioni. Come cut-off è stato stabilito un livello di diluizione in cui almeno 2% dei sieri risultassero positivi.

Per questo esame sono stati previsti 120 sieri di donatori residenti in comuni ad una altitudine sul livello dal mare superiore ai 1200m senza puntura da zecche anamnestiche, che non avevano ricevuto una trasfusione di sangue e non erano stati trattati con farmaci immunomo-

dulanti, che non avevano ricevuto una somministrazione di immunoglobuline e non avevano anticorpi contro *Borrelia burgdorferi* o *Anaplasma phagocytophilum*. Soggetti non vaccinati contro l'encefalite trasmessa da zecche dell'Europa centrale (TBE) sono stati controllati per la presenza di anticorpi contro TBE. Sieri risultanti positivi non sono stati presi in considerazione per la determinazione del valore di cut-off. Nessun siero risultava positivo agli anticorpi contro gli eritrociti di criceto. Iniziando con un livello di titolo anticorpale pari a 1:16 i sieri sono stati esaminati con un livello di diluizione 1:2. Al livello 1:64 del titolo anticorpale solo un siero risultava ancora positivo (0,83%). Quindi il valore cut-off è stato stabilito a 1:64.

ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM

Scelta dei sistemi d'analisi

Attualmente esiste un sistema commerciale per l'analisi degli anticorpi contro *Anaplasma phagocytophilum*: un test immunofluorescente rivestito con un isolato di *Anaplasma phagocytophilum* e coltivato su cellule HL60. Il ceppo HGE1 utilizzato è stato isolato da un paziente ammalato di ehrlichiosi. Un unico esame contiene anche cellule non infette per riconoscere una reazione sierologica contro cellule HL60 non infette. Questo sistema d'analisi è stato utilizzato già alcune volte negli studi di sieroprevalenza europei e tra questi anche in una piccola indagi-

ne del Tirolo settentrionale ed orientale nel 2001.

Per la conferma dei risultati positivi esiste fra l'altro anche un Westernblot commerciale rivestito con due proteine di *Anaplasma phagocytophilum* con un peso molecolare di 41 e 42 kDa. In una ricerca in pazienti americani queste proteine vengono descritte come immunodominanti. Il Westernblot è stato testato in un esame preliminare di sei sieri di pazienti HGE del Tirolo corrispondenti ai criteri CDC con un'ehrlichiosi umana granulococitica certa. Nel periodo di

quattro settimane dopo l'inizio dei sintomi tutti i pazienti avevano sviluppato anticorpi contro almeno una delle proteine dimostrabili anche dopo 6 e 24 mesi. In base a questi risultati si è deciso di usare il Westernblot come test di con-

ferma. Il cut-off per questo sistema combinato è stato stabilito secondo le raccomandazioni dell'OMS con 120 sieri di persone con un rischio d'esposizione basso.

Test d'immunofluorescenza

I portaobiettivi rivestiti con antigeni sono stati incubati a 37°C per 30 minuti in una stanza umida, dopo di che sono stati lavati con un tampone di PBS. I sieri sono stati diluiti al livello del titolo anticorpale desiderato tramite l'aggiunta di PBS.

Dopo l'incubazione sono stati aggiunti 20µl di additivo e i sieri sono stati incubati di nuovo per 30 minuti a 37°C in una stanza umida. Dopo un altro lavaggio è stata esaminata la fluorescenza sotto il microscopio con un ingrandimento di 400 volte.

IgG-Westernblot

È stato utilizzato un IgG-Westernblot (MarDx, Trinity Biotech, Bray, Irland) in commercio rivestito con due proteine di *Anaplasma phagocyto-*

philum (42 und 44 KDa); seguendo le indicazioni del produttore.

Determinazione del valore di cut-off

Da una ricerca nell'anno 2000 è noto che si può usare solo un cut-off di 1:128 per descrivere l'IFA degli IgG specifici di *A. phagocytophilum*. In una ricerca del 2000 sono stati descritti i risultati positivi di un Westernblot ed era necessario verificare il cut-off del titolo anticorpale. Secondo le linee guida OMS sono stati esaminati almeno 100 sieri negativi a diversi livelli di diluizione. Come cut-off è stato stabilito quel livello di diluizione per cui almeno 2% dei sieri risultano positivi.

Per questo esame sono stati previsti 120 sieri di donatori residenti in comuni ad una altitudi-

ne sul livello del mare superiore ai 1200 m. Le persone scelte erano negative all'anamnesi di una puntura da zecche, non avevano ricevuto una trasfusione di sangue, non erano state trattate con farmaci immunomodulanti, non avevano ricevuto una somministrazione di immunoglobuline e non avevano anticorpi contro *Borrelia burgdorferi* e sono state testate con un'IFA ad un livello di diluizione di 1:64. Quattro di loro sono risultati IFA positivi, ma nessuno risultava positivo alla ricerca di IgG nel Westernblot. Il valore di cut-off della presente ricerca è stato stabilito al livello di 1:64.

TBE

Scelta dei sistemi d'analisi

Per la determinazione degli anticorpi contro la TBE sono disponibili diversi sistemi commerciali, spesso sulla base dell'ELISA. Per lo studio sono stati utilizzati due sistemi ELISA, che vengono applicati dal Dipartimento di Igiene, Microbiologia e Medicina Sociale dell'Università di Innsbruck per la Diagnostica di Routine. A causa dell'area geografica e dei pochi casi fino ad ora notificati (in nessuno dei casi è stata possibile confermare come luogo di infezione l'Alto Adige) è stata stimata una sieroprevalenza molto bas-

sa. È apparso necessario ottimizzare la specificità della procedura di conferma con un test di conferma. È stato scelto un test di neutralizzazione con un ceppo TBE austriaco che viene utilizzato dall'Istituto di Virologia dell'Università di Medicina di Vienna. Questo test permette la distinzione tra gli anticorpi rivolti contro il virus TBE e quelli formati dopo l'infezione oppure la vaccinazione contro altri Flavivirus (febbre gialla, encefalite giapponese B, virus Dengue, WNV).

Esecuzione dei test

È stato utilizzato un ELISA IgG commerciale (Enzygnost, Dade Behring), la rimozione è stata eseguita secondo le istruzioni del produttore.

Come test di conferma è stato utilizzato il Plaque-reduction-Test come raccomandato.

WEST NILE VIRUS

Scelta dei sistemi di analisi

Dopo la notifica di infezioni del Virus West Nile nell'America settentrionale sono apparsi sul mercato alcuni test commerciali di conferma degli anticorpi. Questi sono stati testati su pazienti americani, nessun test è stato sviluppato per l'Europa. In un esperimento preliminare è stato verificato quale dei metodi di analisi fosse meno influenzato da una vaccinazione antecedente contro la TBE.

In base agli esperimenti preliminari sul siero di bambini di età al di sotto dei 5 anni, immunizzati contro la TBE, è stato deciso di scegliere un

test ELISA rivestito con tre proteine ricombinanti del Virus West Nile. I risultati ottenuti nel Tirolo settentrionale hanno mostrato che anche questo test dà un numero elevato di risultati falsamente positivi in pazienti vaccinati contro la TBE. Dato che al momento non sono disponibili Westernblot che permettano la differenziazione tra anticorpi contro il Virus West Nile e quelli contro il Virus TBE, la conferma dei risultati positivi poteva avvenire soltanto attraverso un test di neutralizzazione. Questo test è stato eseguito dal Prof. Pauli dell'Istituto Robert Koch a Berlino.

Esecuzione dei test

È stato utilizzato un ELISA IgG commerciale (Focus WNV, Focus Technologies), la rimozione è stata eseguita secondo le istruzioni del produt-

tore. Come test di conferma è stato utilizzato un Plaque-reduction-Test come descritto altrove.

HANTAVIRUS

Scelta dei sistemi di analisi

Per l'analisi degli anticorpi contro gli Hantavirus sono disponibili sul mercato diversi metodi di analisi. La principale differenza sta nella tecnica adottata (IFA e ELISA) come anche nel tipo di antigeni utilizzati. Esistono test ai quali viene sottoposto un unico sierotipo (Puumala, Hantaan, Seoul) e metodi con i quali viene analizzato un antigene ricombinante che è uguale a tutti i sierotipi. Nonostante intense ricerche non è stato possibile trovare un sierotipo Dobrava sensibilizzato ELISA.

I dati di altre regioni europee facevano stimare una sieroprevalenza bassa (<10%) per cui per aumentare la specificità è risultato opportuno utilizzare un test di conferma per i risultati positivi.

Dopo brevi test preliminari è stato deciso di utilizzare lo Screening-ELISA ricombinante. I risultati positivi sono stati confermati con il Westernblot che permette di differenziare tra i sierotipi Hantaan europei, Dobrava, Puumala e Seoul e che contemporaneamente è il test meno costoso a disposizione.

Esecuzione dei test

È stato utilizzato un ELISA IgG commerciale (Hantavirus-ELISA, Focus technologies) e un Westernblot commerciale (Bunya-dot-blot,

Microgen); l'esecuzione è stata eseguita secondo le istruzioni del fabbricante.

Allegato 3

QUESTIONARIO

Studio TIMO

----- NON COMPILARE ----- viene compilato dal servizio trasfusionale -----NON COMPILARE -----

Data del prelievo di sangue: ____/____/2003

Servizio trasfusionale: Bolzano ☐ Brunico ☐ San Candido ☐ Bressanone ☐

Vipiteno ☐ Merano ☐ Silandro ☐

Istituto per medicina trasfusionale Innsbruck ☐

----- prego segnare la risposta -----

Iniziali ____ Sesso: maschio ☐ femmina ☐ Data di nascita: _____

Luogo di residenza: _____

----- prego segnare la risposta -----

1.) La Sua professione prevede attività all'aperto? sì, spesso ☐ a volte ☐ no, mai ☐

Se si oppure a volte prego indicare la professione _____

----- prego segnare la risposta -----

2.) Quale attività svolge in primavera, estate ed in autunno?

camminare ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

andare in bicicletta ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

nuotare ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

giardinaggio ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

rafting ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

attività agricole ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

raccogliere funghi ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

andare a caccia ☐ quante volte alla settimana ____ x in media per quante ore ____

altro _____

----- prego segnare la risposta -----

3.) .) Si ricorda se è mai stato punto da una zecca? sì ☐ no ☐ non ricordo ☐

a) se sì, numero di punture: <5 ☐ 6-20 ☐ >20 ☐

b) se sì, l'ultima puntura era nell'anno _____ (prego indicare l'anno solare)

c) se sì, è stato punto al di fuori dell'Alto Adige /Tirolo dell'Est/zona Reutte/Inntal? ☐ sì ☐ no

d) luogo della puntura (il più preciso possibile) _____

----- se alla domanda 3) ha risposto con no proseguire con la domanda 5) -----

4.) Dopo la puntura di una zecca, ha avuto i seguenti sintomi?

febbre ☐ influenza ☐ mal di testa ☐

dolori muscolari oppure alle articolazioni ☐ diarrea/malessere ☐

eritema (Erythema migrans) ☐ disturbi del battito cardiaco ☐

altro _____

----- prego segnare la risposta -----

5.) Come rimuove la zecca:

pinza ☐ olio/smalto per unghie ☐ mano ☐ affatto ☐

altro: _____

----- prego segnare la risposta -----

6.) È mai stato vaccinato contro una delle seguenti malattie (consigliato solo per i viaggi all'estero)?

FSME (meningite da zecca) ☐ numero dosi _____ ultima dose nell'anno _____ non ricordo ☐

Febbre gialla (Africa, Sudamerica) ☐ numero dosi _____ ultima dose nell'anno _____ non ricordo ☐

Encephalite giapponese B (Asia) ☐ numero dosi _____ ultima dose nell'anno _____ non ricordo ☐

----- prego segnare la risposta -----

7.) È mai stato in uno dei seguenti paesi?

si ☐ no ☐ non ricordo ☐

se sì, prego segnare la risposta Africa ☐ Asia ☐ ex UdSSR ☐ Sudamerica ☐

se sì, è stato malato di un'infezione febbrile? si ☐ no ☐

8.) È mai stato malato di meningite? si ☐ no ☐ non ricordo ☐

se sì, indicare l'anno _____

----- prego segnare la risposta -----

9.) Le è mai stata diagnosticata una malattia infettiva con valori bassi di globuli rossi (anemia), non dati da un'assenza di ferro? si ☐ no ☐ non ricordo ☐

se sì, indicare l'anno _____

----- prego segnare la risposta -----

10.) È mai stato curato per un'infezione ai reni?

si ☐ no ☐ non ricordo ☐

se sì, indicare l'anno _____

11.) È mai stata malata di rosolia? si ☐ no ☐ non ricordo ☐

12.) È mai stata vaccinata contro la rosolia? si ☐ no ☐ non ricordo ☐

se sì, indicare l'anno in cui è stata vaccinata _____

13.) È mai stata malata di morbillo? si ☐ no ☐ non ricordo ☐

12.) È mai stata vaccinata contro il morbillo? si ☐ no ☐ non ricordo ☐

se sì, indicare l'anno in cui è stata vaccinata _____

Tutti i dati verranno trattati nel rispetto della privacy.

Ringraziamo per la collaborazione

DICHIARAZIONE DI AVVENUTA INFORMAZIONE E DI CONSENSO AL PRELIEVO DI SANGUE

Il/La sottoscritto/a nato/a il.....
residente a
scelto/a quale partecipante allo studio TIMO, studio sieroprevalente sulle malattie trasferibili
attraverso zecche e zanzare, condotto dall'Osservatorio Epidemiologico dell'Assessorato alla Sanità
della Provincia Autonoma di Bolzano in collaborazione con i servizi trasfusionali di Bolzano e Mera-
no e l'Istituto di igiene e medicina sociale dell'Università di Innsbruck,

dichiara di:

- - essere stato/a adeguatamente informata sugli scopi dello studio
- dare il proprio assenso per il prelievo di 10ml di sangue per l'accertamento di un eventuale
contatto con i seguenti agenti patogeni (FSME, Borrelia spp., Anaplasma phagocytophila,
Babesia spp., Puumla oder West Nile Virus)
- dare il proprio consenso al trattamento dei dati personali necessari alla gestione amministra-
tiva e sanitaria nei limiti, ed esclusivamente per gli usi della ricerca in oggetto, nonché della
Legge 31.12.1996, n. 675 "Tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei
dati personali"

Data

Firma del partecipante

Timbro e firma dell'intervistatore

LETTERA INFORMATIVA PER I PARTECIPANTI ALLO STUDIO TIMO

L'Osservatorio epidemiologico dell'Assessorato alla Sanità della Provincia Autonoma di Bolzano sta svolgendo in collaborazione con i servizi trasfusionali di Bolzano e Merano e con l'Istituto di medicina trasfusionale dell'Università di Innsbruck e l'Istituto di igiene e medicina sociale della Clinica Universitaria di Innsbruck uno studio sieroprevalente (Studio TIMO) sulle malattie trasmissibili attraverso zecche e zanzare in donatori di sangue sani del Tirolo del nord, sud ed est.

Scopo dello studio è verificare se la popolazione sana della Provincia ha avuto contatto con diversi agenti patogeni (FSME, *Borrelia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia* spp., Hantavirus o Virus West Nile), che a volte possono provocare malattie.

Questo studio servirà inoltre a poter dare raccomandazioni rispetto alla vaccinazione contro la meningite trasmessa da zecche (FSME), che viene consigliata nel Tirolo del nord ed est. Solo in base ai dati rilevati sarà possibile stabilire il grado di infezione nella popolazione altoatesina e redigere raccomandazioni adeguate. Inoltre è importante rilevare la frequenza del contatto con specifici agenti patogeni, perché da questi dati potrebbero risultare conseguenze sulla sicurezza degli emoderivati.

Le analisi effettuate possono solamente confermare un eventuale contatto con uno o più

agenti patogeni; essi NON danno informazioni su eventuali malattie in corso, né permettono conclusioni su infezioni pregresse. Per questo motivo solo in casi eccezionali è prevista la comunicazione del risultato al partecipante.

Per le donne tra i 20-45 anni è previsto l'esame del titolo anticorpale relativo alla rosolia, per poter stabilire la suscettibilità alla malattia in età feconda. Le donne suscettibili verranno avvisate per potersi proteggere dal rischio di una embriopatia da rosolia causato da un'infezione durante la gravidanza.

Nel caso fosse disposto ad amettere a disposizione il Suo sangue per questa importante ricerca, sarà necessario compilare un breve questionario (ca. 5 min.) e Le verranno prelevati ulteriori 10 ml di sangue (1 ulteriore tubetto) senza dover "bucare" una seconda volta.

Lo studio non tratterà né comprenderà dati personali che permettono di identificare la persona.

Le chiediamo gentilmente di firmare l'allegata lettera di consenso, di compilare il questionario e portarlo con sé alla donazione di sangue prevista.

La ringraziamo per la Sua collaborazione.

I servizi trasfusionali e l'osservatorio epidemiologico

Allegato 4

BIBLIOGRAFIA

Anonymous (2003) Strategic Plan for Measles and Congenital Rubella Infection in the European Region of OMS
<http://www.euro.who.int/document/e81567.pdf>

Aguero-Rosenfeld ME, Donnarumma L, Zentmaier L, Jacob J, Frey M, Noto R, Carbonaro CA, Wormser GP (2002) Sero-prevalence of antibodies that react with *Anaplasma phagocytophila*, the agent of human granulocytic ehrlichiosis, in different populations in Westchester County, New York. *J Clin Microbiol* 40:2612–2615.

Allwinn R, Doerr HW, Emmerich P, Schmitz H, Preiser W (2002) Cross-reactivity in flavivirus serology: new implications of an old finding? *Med Microbiol Immunol (Berl.)*; 190(4): 199-202.

Assadian O, Stanek G (2002) Theobald Smith: the discoverer of ticks as vectors of disease. *Wien-Klin-Wochenschr.* 114(13-14): 479-81.

AvsicZupanc T, Xiao SY, Stojanovic R, Gligic A, Groen G, LeDuc JW (1992) Characterization of Dobrava virus: a Hantavirus from Slovenia, Yugoslavia. *J Med Virol.* 38(2): 132-7.

Autorino GL, Battisti A, Deubel V, Ferrari G, Forletta R, Giovannini A, Lelli R, Murri S, Scicluna MT (2002) West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg Infect Dis.* 12 1372-8.

Bassetti D, Cristofolini A, DeVenuto G, Costanzi C, Ciufolini MG, Nicoletti L, Verani P (1994) Prevalence of tick-borne encephalitis virus in Trentino (northern Italy) *Alpe Adria Microbiol J.* 3(2): 113-118.

Baumann D, Pusterla N, Peter O, Grimm F, Fournier PE, Schar G, Bossart W, Lutz H, Weber R. (2003) Fever after a tick bite: clinical manifestations and diagnosis of acute tick bite-associated infections in northeastern Switzerland. *Dtsch Med Wochenschr* 128:1042-7.

Berglund J, Eitrem R, Ormstein K, Lindberg A, Ringner A et al. (1995) An epidemiological study of Lyme disease in southern Sweden. *N. Engl. J. Med.* 133: 1319-1324.

Brouqui P, Dumler JS, Lienhard R, Brossard M, Raoult D (1995) Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Lancet* 346: 782–783.

Bundesministerium für Gesundheit und Frauen, persönliche Kommunikation DDr. Strauss
<http://www.bmgf.gv.at/cms/site/detail.htm?thema=CH0019&doc=CMS1038915594445>

Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grudwaldt E et al. (1982) Lyme disease- a tick-borne Spirochetosis. *Science* 216: 1317-1319.

Centers for Disease Control and Prevention (1999) Outbreak of West Nile-like viral encephalitis New York, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 48: 845-9.

Chin J (2000) *Control of Communicable Diseases Manual*, 17th Edition, America Public Health Association, Washington: 435-440

Chisholm ES, Sulzer AJ, Ruebush TK (1986) Indirect immunofluorescence test for human Babesia microti infection: antigenic specificity. *Am J Trop Med Hyg.* 35(5): 921-5.

Ciceroni L, Ciarrocchi S, Simeoni J (1998) Antigenic and genomic analysis of a Borrelia burgdorferi sensu stricto strain isolated from Ixodes ricinus ticks in Alto Adige-South Tyrol, Italy. *Eur J Epidemiol.* 5:511-7.

Ciofi degli Atti, Salmaso S, Bella A (2003) Icona 2003 Copertura vaccinale <http://www.epicentro.iss.it/problemi/vaccinazioni/sintesi-icona.htm>

Dade Behring (1998): A new method for rapid CSF Diagnostic for the detection of Neuroborreliosis. Eigenverlag. Marburg 1998.

Duh D, Petovec M, Avsic-Zupanc T. (2001) Diversity of Babesia infecting European sheep ticks (Ixodes ricinus). *J Clin Microbiol* 39:3395-7.

Dumler JS, Asanovich KM, Bakken JS, Richter P, Kimsey R, Madigan JE (1995) Serologic cross-reactions among Ehrlichia equi, Ehrlichia phagocytophilum and human granulocytic Ehrlichia. *J Clin Microbiol* 33: 1098-1103.

Elgh F, Linderholm M, Wadell G, Tarnvik A, Juto P (1998) Development of humoral cross-reactivity to the nucleocapsid protein of heterologous hantaviruses in nephropathia epidemica. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 22(4): 309-15.

Groseclose SL, Hall PA, Knowles CM, Adams DA, Park S, Perry F, Sharp P, Anderson WJ, Snaveley K, Fagan RF, Aponte JJ, Jones GF, Nitschke DA, Worsham CA, Glynn MK, Chang M, Doyle T, Jajosky RA, Noldy S (1999) Summary of notifiable diseases, United States, 1999. *MMWR* 48: iv-xvi; 1-101

Hagberg L, Dotewall L, Norkrans G, Larsson M, Wachter H, Fuchs D (1993) Cerebrospinal fluid Neopterin concentrations in central nervous system infection. *J Infect Dis* 168: 1285-8.

Hannoun C, Panthier R, Mouchet J, Eouzan JP (1964) Isolement en France du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex molestus* Ficalbi. *Compte Rendu de l'Académie des Sciences* D259: 4170-2.

Heinz FX, Berger R, Majdic O, Knapp W, Kunz C (1982) Monoclonal antibodies to the structural glycoprotein of tick-borne encephalitis virus. *Infect Immun.* 37(3): 869-74.

Herwaldt BL, Neitzel DF, Gorlin JB, Jensen KA, Perry EH, Peglow WR, Slemenda SB, Won KY, Nace EK, Pieniazek NJ, Wilson M (2002) Transmission of *Babesia microti* in Minnesota through four blood donations from the same donor over a 6-month period. *Transfusion* 42(9): 1154-8.

Herwaldt BL, Cacciò S, Gherlinzoni F, Aspöck H, Slemenda SB, Piccaluga P, Martinelli G, Edelhofer R, Hollenstein U, Poletti G, Pampiglione S, Löschenberger K, Tura S, Pieniazek NJ (2003) Molecular Characterization of a Non-*Babesia* divergens Organism Causing Zoonotic Babesiosis in Europe. *Emerg Inf Dis* 9: 942-948.

Hudson PJ, Rizzoli A, Rosa R, Chemini C, Jones LD, Gould EA (2001) Tick-borne encephalitis virus in northern Italy: molecular analysis, relationships with density and seasonal dynamics of *Ixodes ricinus*. *Med Vet Entomol.* 3: 304-13.

Holzmann H (2003) Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine* 21 Suppl 1: S36-40.

Horowitz HW, Raffalli J, Nadelman RB, Wu J, Wormser GP (1998) Saddleback fever due to human granulocytic ehrlichiosis. *Lancet* 351: 650.

Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z (1999) West Nile fever in Czechland. *Emerg Infect Dis* 5(4): 594-5.

Hubalek Z, Halouzka J (1999) West Nile fever-a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg-Infect-Dis.* 5(5): 643-50.

Hujakka H, Koistinen V, Kuronen I, Eerikainen P, Parviainen M, Lundkvist A, Vaheri A, Vapalathi O, Narvanen A (2003) Diagnostic rapid tests for acute hantavirus infections: specific tests for Hantaan, Dobrava and Puumala viruses versus a hantavirus combination test. *Journal of virological methods.* 108 (1): 117-122.

Hunfeld KP, Allwinn R, Peters S, Kraiczy P, Brade V (1998) Serologic evidence for tick-borne pathogens other than *Borrelia burgdorferi* (TOBB) in Lyme borreliosis patients from midwestern Germany. *Wien Klin Wochenschr* 110: 901-908.

Hunfeld KP, Lambert A, Kampen H, Albert S, Epe C, Brade V, Tenter AM (2002) Seroprevalence of *Babesia* Infections in Humans Exposed to Ticks in Midwestern Germany. *Journal of clinical microbiology,* 40: 2431-2436.

Kalish RA, Leong JM, Steere AC (1993) Association of treatment-resistant chronic Lyme arthritis with HLA-DR4 and anti-body reactivity to OspA and OspB of *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 61: 2774-9.

Karlsson U, Bjöersdorff A, Massung RF, Christensson B (2001) Human granulocytic ehrlichiosis – a clinical case in Scandinavia. *Scand J Infect Dis* 33: 73–74.

Kocan AA, Kocan KM (1991) Tick-transmitted protozoan diseases of wildlife in North America. *Bull Soc Vector Ecol* 16:94–108.

Koraka P, Zelle H, Niedrig M, Osterhaus AD, Groen J (2002) Reactivity of serum samples from patients with a flavivirus infection measured by immunofluorescence assay and ELISA *Microbes and infection*. 4 (12): 1209-1215.

Kulzer P, Schaefer RM, Heidbreder E, Heidland A (1992) Hantavirus Infektion mit akutem Nierenversagen. *Dtsch Med Wochenschrift* 117: 1429–33.

Kunz C (2003) TBE vaccination and the Austrian experience. *Vaccine*. 21 Suppl 1: S50-5.

Leschinskaya EV, Tkachenko EA, Dzagurova TK, Drozdov SG (1991) Acute haemorrhagic fever with renal syndrome in Austria. *Acta Virol* 35: 1991.

Lotric-Furlan S, Petrovec M, Avsic-Zupanc T, Nicholson WL, Summer JW, Childs JE, Strle F (1998) Human granulocytic ehrlichiosis in Europe: clinical and laboratory findings for four patients from Slovenia. *Clin Inf Dis* 27:424–428.

Martens H (2000) Serologische Untersuchungen zur Prävalenz und zum Verlauf von Hantavirus-Infektionen in Mecklenburg-Vorpommern. *Gesundheitswesen*. 62(2): 71-7.

McLeRoy AK, Bray M, Reed DS, Schmaljohn CS (2002) Andes virus infection of cynomolgus macaques. *J Infect Dis* 186: 1706-1712.

Ministero della Salute (2003) Piano Nazionale per l'Eliminazione del Morbillo e della rosolia congenita <http://www.governo.it/backoffice/allegati/20894-1712.pdf>

Morosetti G, Molè S (1992): Notes on the role of wildlife in the epidemiology of zoonoses. *Veterinary public Health Reports ISS/OMS/FAO-CC/IZSTe/92.19*

Murgue B, Murri S, Zientara S, Durand B, Durand JP, Zeller H (2001) West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg Infect Dis* 7:692–6.

Gray JS (2002) Biology of Ixodes species ticks in relation to tick-borne zoonoses. *Wien Klin Wochenschr* 114: 473–478.

Myhrman G (1934) En njursjukdom med egenartad symptombild. *Nord Med* 7: 793–4.

Panagiotopoulos T, Antoniadou I, Valassi-Adam E (1999) Increase in congenital rubella occurrence after immunisation in Greece: retrospective survey and systematic review *BMJ* 319: 1462-1467

Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, Lanciotti RS, Page PL, Stramer SL, Stobierski MG, Signs K, Newman B, Kapoor H, Goodman JL, Chamberland ME (2003) Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med.* 349(13): 1236-45.

Penttinen K, Lähdevirta J, Kekomäki R, Ziola B, Salmi A, Settergren B, Ahlm C, Juto P, Niklasson B (1991) Specific Puumala virus IgG half a century after haemorrhagic fever with renal syndrome. *Lancet* 338: 66.

Petrovec M, Bidovec A, Sumner JW, Nicholson WL, Childs JE, Avsic-Zupanc T (2002) Infection with *Anaplasma phagocytophila* in cervids from Slovenia: evidence of two genotypic lineages. *Wien Klin Wochenschr* 114: 641–647.

Platonov AE (2001) West Nile encephalitis in Russia 1999-2001: Were we ready? Are we ready? *Ann New York Acad Sci.* 951: 102-116.

Prükk T, Ainsalu K, Laja E, Aigro A. (2003) Human granulocytic ehrlichiosis in Estonia. *Emerg Infect Dis* 9 Advanced publication: Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol9no11/03-0480.htm>

Reimer B, Marschang A, Fingerle V, Wilske B, Hoecke C, Sonnenburg F (2001) Lyme Borreliosis in South and East Bavaria, Germany: Prevalence of *Borrelia* antibodies and incidence of tick-bites and *Borrelia* infection in men. Symposium on tick-transmitted diseases, compendium of Abstracts: P32.

Rollin PE, Coudrier D, Sureau P (1994) Hantavirus epidemic in Europe. *Lancet* 343: 115–6.

Salmaso S, Rota M C, Ciofi degli Atti M L, Tozzi A E, Kreidl P & the ICONA study group (1999) Infant immunisation coverage in Italy: estimates by simultaneous Epi cluster surveys of regions. *Bull WHO* 77, 10 : 787-866

Schauman K, Kovanen J, Seppala I (1989) Lyme borreliosis in Finland in 1986-1988. *Biomed Pharmacother* 43: 427-30.

Schmaljohn CS, Hasty SE, Dalrymple JM, LeDuc JW, Lee HW, Bonsdorff CH et al. (1985) Antigenic and genetic properties of viruses linked to hemorrhagic fever with renal syndrome. *Science* 227: 1041–4.

Schmutzhard E, Dierich MP, Gerstenbrand F, Kunz C, Pohl P, Stanek G, Wimmer P (1985) Zur Epidemiologie der durch Zecken übertragenen neurologischen Erkrankungen in Tirol. *Neuropsychiatr.* 1: 18-23.

Settergren B, Boman J, Linderholm M, Wiström J, Hägg E, Arvidsson PA (1992) A case of nephropathia epidemica with panhypopituitarism and nephrotic syndrome. *Nephron* 61: 234–5.

Settergren BO (2000) Clinical Aspects of Nephropathia Epidemica (Puumala Virus Infection) in Europe: A Review. *Scand J Infect Dis* 32: 125–132.

·krabalo Z, Deanovic Z. (1957) Piroplasmosis in man: report on a case. *Documenta de Medicina Geographica et Tropica* 9:11–6.

Simeoni J (1989) L'importanza della zecca nella patologia umana nell arco alpino. Tesi di specializzazione, Università di Ferrara

Sixl W, Stunzner D, Withalm H (1988) Serological examinations for antibodies against West Nile virus, Semliki virus and Chikungunyavirus in laboratory mice, parasitized by nidicole fauna from swallow's nests. *Geogr Med Suppl.* 1: 51-5.

Sixl W, Kock M, Withalm H, Stunzner D, Voigt B (1989) Serological investigations of small mammals in waste disposal sites in Austria. 2nd report. *Geogr Med Suppl.* 2: 65-8.

Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH (1940) A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 20: 471-92.

Stanek G (1994) Hofmann H: *Krank durch Zecken*, Verlag Maudrich Wien, München Bern.

Stegeman JR, Birkenheuer AJ, Kruger JM, Breitschwerdt EB (2003) Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 222(7):959-63.

Strle F, Stantic-Pavlinic M (1996) Lyme disease in Europe. *N. Engl. J. Med* 334: 803.

Tiwald G (2002) Tick-borne bacterial diseases in the Tyrol—diagnosis and seroepidemiology. Dissertation, University of Innsbruck, Austria

Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI (1998) West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet* 352: 767-71.

Tylewska-Wierzbanska S, Chmielewski T, Kondrusik M, Hermanowska-Szpakowicz T, Sawicki W, Sulek K (2001) First cases of acute human granulocytic ehrlichiosis in Poland. *Eur J Clin Infect Dis* 20: 196–198.

Walder G, Tiwald G, Dierich MP, Würzner R (2003): Serological Evidence for Human Granulocytic Ehrlichiosis in Western Austria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* :

Walder G, Dierich MP, Würzner R (2001) First documented case of tick-borne encephalitis in Vorarlberg, Austria. Wien Klin Wochenschr 113:454–458.

Walder G, Falkensammer B, Aigner J, Tiwald G, Dierich MP, Würzner R, Lechleitner P (2003) First documented case of human granulocytic ehrlichiosis in Austria. Wien Klin Wochenschr 115:263–266.

World Health Organization Veterinary Public Health Unit. 1995. WHO Workshop on Lyme Borreliosis Diagnosis and Surveillance. Document no. WHO/CDS/VPH/95.141. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Zetterholm SG (1934) Akuta nefriter simulerande akuta bukfall. J Swed Med Assoc 31: 425–9.

Impressum

Autori: Peter Kreidl, Gernot Walder, Giulia Morosetti
Concetto grafico: Matern Creativbüro
Stampa: La Bodoniana

