



# Co-INFEZIONI nella BORRELIOSI DI LYME



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI DI TRIESTE



INCOLLABORAZIONE CON:

7°  
CONGRESSO  
NAZIONALE GISML



Hotel Royal Continental  
Via Partenope, 38 - 44

**Giusto Trevisan**  
**Napoli – 18-19 ottobre 2019**

# DEFINIZIONE DI CO-INFEZIONI

- Le infezioni trasmesse da vettori costituiscono il 18% e quelle causate dalle zecche ne sono una parte rilevante. Questo gruppo di malattie include patogeni virali, batterici e parassitari
- Le zecche *Ixodes* possono trasmettere altri patogeni umani in concomitanza con *Borrelia burgdorferi*. Un'infezione causata da un agente patogeno oltre alla *Borrelia* di Lyme (BL) è denominata coinfezione.
- Le Co-infezioni possono esacerbare la BL così come possono indurre manifestazioni cliniche simili o modificarne il decorso della malattia.

# LYME & CO-INFEZIONI

## QUANDO SOSPETTARLE?

- Ai sintomi della Lyme si associa **Febbre e/o Cefalea**.
- Pazienti che non migliorano clinicamente o i cui sintomi si sono modificati dopo adeguato trattamento antibiotico.
- Pazienti presentano Anemia, Leucopenia, Neutropenia o Monocitosi, persistente dopo il trattamento oppure test di flogosi elevati.
- Pazienti presentano porpora, anche lo stesso Erythema migrans purpurico, nella nostra esperienza.

# INFEZIONI TRASMESSE DA ZECCHIE *IXODES SPP*

- **VIRUS:**        **FLAVIVIRUS**  
                     **HANTAVIRUS**
- **BATTERI:**   **BORRELIA SP**  
                     **RICKETTSIA SP**  
                     **EHRLICHIA – ANAPLASMA**  
                     **BARTONELLA**
- **PROTOZOI**   **BABESIA**

# FLAVIVIRUSES USED IN THE PHYLOGENETIC STUDY

| Virus (strain)                               | Vector association <sup>2</sup> | Distribution                      | GenBank accession no. <sup>3</sup> | Virus (strain)                                               | Vector association <sup>2</sup> | Distribution                     | GenBank accession no. <sup>3</sup> |
|----------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| Alfox (MRM-3929)                             | M                               | Australia                         | <a href="#">AF013360</a>           | Narantal (25008)                                             | M                               | Ecuador                          | <a href="#">AF013390</a>           |
| Agou (original)                              | N (rodent)                      | Japan                             | <a href="#">AF013361</a>           | Negishi (original)                                           | N (human)                       | Japan and former Soviet Union    | <a href="#">AF013391</a>           |
| Arara (VenA-1809)                            | N (sentinel rodent)             | Venezuela                         | <a href="#">AF013362</a>           | Nitaya (original)                                            | M                               | Central and South Africa         | <a href="#">AF013392</a>           |
| Bageza (DakAr B209)                          | M                               | Central African Republic          | <a href="#">AF013363</a>           | Ornsk hemorragic fever (Kubiro)                              | T                               | Russia                           | <a href="#">AF013393</a>           |
| Banzi (SAH-336)                              | M                               | South and East Africa             | <a href="#">L40951<sup>4</sup></a> | Phnom Penh bat (CAMA-38D)                                    | N (bat)                         | Cambodia, Malaysia               | <a href="#">AF013394</a>           |
| Bum Cave (P70-1459)                          | N (bat)                         | Malaysia                          | <a href="#">AF013369</a>           | Poliskum (IBAN 10069)                                        | N (rodent)                      | Nigeria                          | <a href="#">AF013395</a>           |
| Boubou (DakAr B490)                          | M                               | Central and West Africa           | <a href="#">AF013364</a>           | <del>Enxuanan (LB)</del>                                     | <del>T, M</del>                 | <del>North America, Russia</del> | <del>L06436<sup>5</sup></del>      |
| Bukalasa bat (UGBP-111)                      | N (bat)                         | Uganda                            | <a href="#">AF013365</a>           | Rio Bravo (M-64)                                             | N (bat)                         | United States, Mexico            | <a href="#">AF013396</a>           |
| Bussuqueno (BeAn 4073)                       | M                               | South America                     | <a href="#">AF013366</a>           | Rocio (H-34675)                                              | M                               | Brazil                           | <a href="#">AF013397</a>           |
| Cacinscore (BeAn 327600)                     | N (bird)                        | Brazil                            | <a href="#">AF013367</a>           | Royal Farm (EgAn 371)                                        | T                               | Afghanistan                      | <a href="#">AF013398</a>           |
| Carey Island (P70-1215)                      | N (bat)                         | Malaysia                          | <a href="#">AF013368</a>           | Russian spring summer encephalitis (Sofjin)                  | T                               | Russia, Japan                    | <a href="#">AF013399</a>           |
| Cowdron Ridge (W-10986)                      | N (rodent)                      | Florida                           | <a href="#">AF013370</a>           | Sahaya (DakAn D4600)                                         | N (rodent)                      | Senegal                          | <a href="#">AF013400</a>           |
| Dakar bat (209)                              | N (bat)                         | West Central Africa Madagascar    | <a href="#">AF013371</a>           | Sal Vicia (38TWM-106)                                        | N (rodent)                      | Texas                            | <a href="#">AF013401</a>           |
| Dengue type 1 (Singapore S275/90)            | M                               | Tropical and semitropical areas   | <a href="#">M87512<sup>6</sup></a> | San Perlita (71V-1251)                                       | N (rodent)                      | Texas                            | <a href="#">AF013402</a>           |
| Dengue type 2 (Jamaica)                      | M                               | Tropical and semitropical areas   | <a href="#">M20558<sup>6</sup></a> | Saumarok Reef (CSIRO-4)                                      | T                               | Australia                        | <a href="#">AF013403</a>           |
| Dengue type 3 (H-87)                         | M                               | Tropical and semitropical areas   | <a href="#">M93130<sup>6</sup></a> | Sepik (MK 7148)                                              | M                               | Papua New Guinea                 | <a href="#">AF013404</a>           |
| Dengue type 4 (814669)                       | M                               | Tropical and semitropical areas   | <a href="#">M17255<sup>6</sup></a> | Sokuluk (LEIV-400K)                                          | N (bat)                         | Kazakhstan                       | <a href="#">AF013405</a>           |
| Edge Hill (AusC-281)                         | M                               | Australia                         | <a href="#">AF013372</a>           | Spondweni (SAAR-94)                                          | M                               | Africa                           | <a href="#">AF013406</a>           |
| Entebbe bat (UgII-30)                        | N (bat)                         | Uganda                            | <a href="#">AF013373</a>           | St. Louis encephalitis (MSI-7)                               | M                               | Americas                         | <a href="#">AF013416</a>           |
| Gadgets Gully (CSIRO 122)                    | T                               | Australia                         | <a href="#">AF013374</a>           | Stratford (AUSC-338)                                         | M                               | Australia                        | <a href="#">AF013407</a>           |
| Iguazu (SP An71686)                          | N (sentinel rodent)             | Brazil                            | <a href="#">AF013375</a>           | Tick-borne encephalitis—central European subtype (Neudoerfl) | T                               | Europe                           | <a href="#">V27495<sup>4</sup></a> |
| Ilheus (original)                            | M                               | Central South America, Trinidad   | <a href="#">AF013376</a>           | Tick-borne encephalitis—far eastern subtype (Sofjin)         | T                               | Europe                           | <a href="#">X07755<sup>4</sup></a> |
| Israel turkey meningoencephalitis (original) | M                               | Israel, South Africa              | <a href="#">AF013377</a>           | Tembusu (MM 1775)                                            | M                               | Southeast Asia                   | <a href="#">AF013408</a>           |
| Javanese encephalitis (SA-14)                | M                               | Asia and parts of the Pacific     | <a href="#">U15763<sup>4</sup></a> | THC-Arc                                                      | M                               | Thailand                         | <a href="#">AF013409</a>           |
| Juara (P9-314)                               | M                               | Malaysia                          | <a href="#">AF013378</a>           | Tyulenix (LEIV-6C)                                           | T                               | Russia, Oregon                   | <a href="#">AF013410</a>           |
| Jutiapa (JG-128)                             | N (rodent)                      | Guatemala                         | <a href="#">AF013379</a>           | Uganda S (original)                                          | M                               | Africa                           | <a href="#">AF013411</a>           |
| Kadam (MP-6640)                              | T                               | Uganda, Saudi Arabia              | <a href="#">AF013380</a>           | Usutu (SAAR-1776)                                            | M                               | Africa                           | <a href="#">AF013412</a>           |
| Karshi (LEIV-2247)                           | T                               | Kazakhstan                        | <a href="#">AF013381</a>           | West Nile (EG-101)                                           | M, T <sup>6</sup>               | Africa, Asia, Europe             | <a href="#">M12294<sup>6</sup></a> |
| Kedougou (Dak. An. D1470)                    | M                               | Senegal                           | <a href="#">AF013382</a>           | Yaounde (DakAr Y276)                                         | M                               | Central African Republic         | <a href="#">AF013413</a>           |
| Kokobera (AusMRM 281)                        | M                               | Australia                         | <a href="#">AF013383</a>           | Yellow fever (Asibi)                                         | M, T <sup>6</sup>               | Tropical areas                   | <a href="#">K02749<sup>6</sup></a> |
| Koutoukou (DakAr D1470)                      | M, T                            | Senegal, Central African Republic | <a href="#">AF013384</a>           | Yellow fever (TN-96) <sup>6</sup>                            | M                               | Tropical areas                   | <a href="#">AF013417</a>           |
| Kuquin (MRM61C)                              | M                               | Australia, Asia                   | <a href="#">D00246<sup>4</sup></a> | Yokose (Oita 36)                                             | N (bat)                         | Japan                            | <a href="#">AF013414</a>           |
| Kyzasur Forest disease (W371)                | T                               | India                             | <a href="#">AF013385</a>           | Zika (MR-766)                                                | M                               | Africa, Asia                     | <a href="#">AF013415</a>           |
| Lengat (TP21)                                | T                               | Southeast Asia, Russia            | <a href="#">M86650<sup>6</sup></a> | Cell fusing agent                                            | Unknown                         | Unknown                          | <a href="#">M91761<sup>4</sup></a> |
| Meaban (Brest ART707)                        | T                               | France                            | <a href="#">AF013386</a>           |                                                              |                                 |                                  |                                    |
| Modoc (M544)                                 | N (rodent)                      | Western United States             | <a href="#">AF013387</a>           |                                                              |                                 |                                  |                                    |
| Montana myxitis leukoencephalitis (40649)    | N (bat)                         | Montana                           | <a href="#">AF013388</a>           |                                                              |                                 |                                  |                                    |
| Murray Valley encephalitis (original)        | M                               | Australia, Papua New Guinea       | <a href="#">AF013389</a>           |                                                              |                                 |                                  |                                    |

# COINFEZIONI: FLAVIVIRUSES

## ○ Tick-borne encephalitis

- Trasmissione:
- Area di diffusione:
- GenBank:

## Central European subtype (Neudoerfl)

*Zecche Ixodes*

*Europa*

*n° V27495<sup>c</sup>*

## ○ Tick-borne encephalitis

- Trasmissione:
- Area di diffusione:
- GenBank:

## Far Eastern subtype (Sofjin)

*Zecche Ixodes*

*Europe*

*n° X07755<sup>c</sup>*

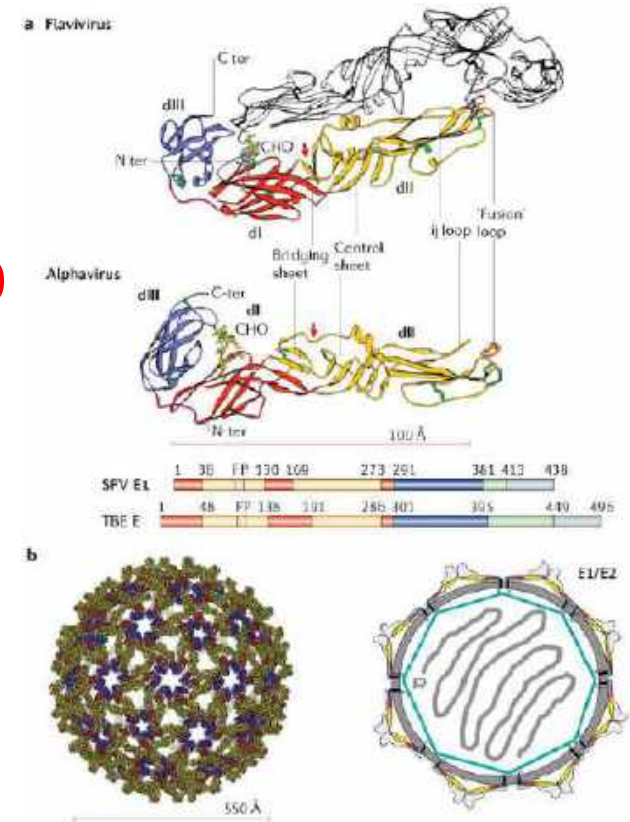
## ○ Powassan (LB)

- Trasmissione:
- Area di diffusione:
- GenBank:

*Zecche Ixodes*

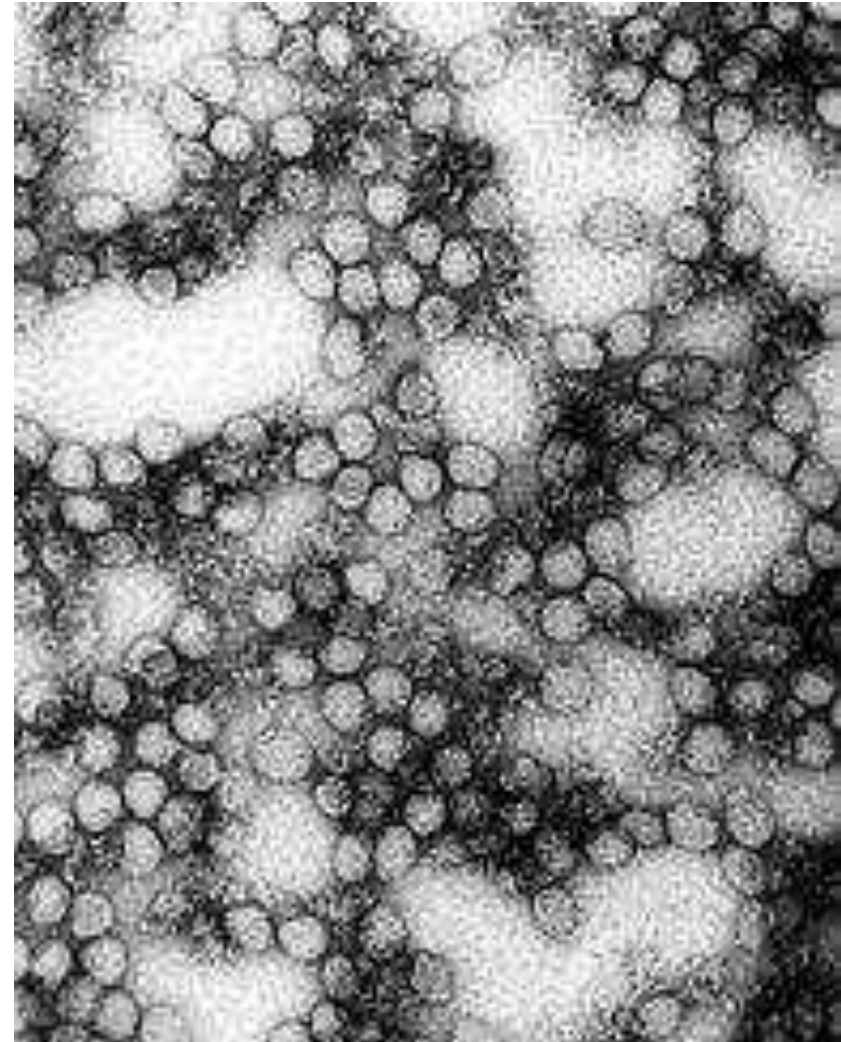
*North America, Russia*

*n° L06436<sup>c</sup>*



# TICK-BORN ENCEFALITIS (TBE – FSME)

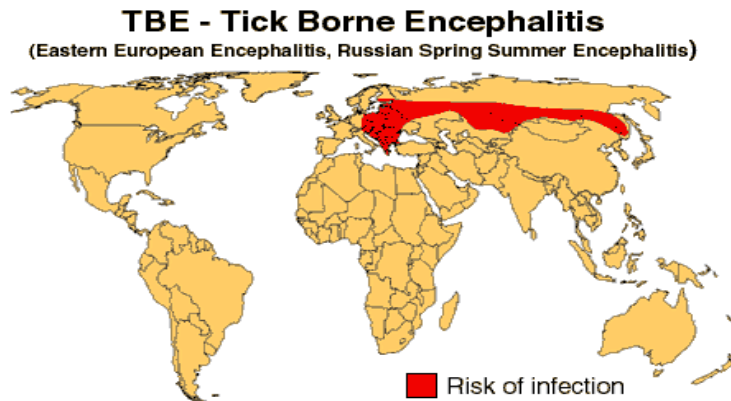
La **Meningoencefalite da Zecche** (***TBE: Tick Borne Encephalitis; FSME: Frühsommer-Meningoenzephalitis***), o meningoencefalite primaverile-estiva, è una malattia virale acuta del sistema nervoso centrale, causata da un arborvirus appartenente al genere *Flavivirus*, molto simile ai virus della *Powassan Neurosensitive Disease*, della *Yellow Fever* (TN – 96), della *Dengue* (Type 1 - Singapore S275/90, type 2 - Jamaica, type 3 - H-87, type 4 - 814669) , della *West-Nile Fever* e della *Japanese Encephalitis* (SA – 14).



# TICK-BORN ENCEFALITIS (TBE – FSME)

- È diffusa in Austria, soprattutto Stiria e Carinzia, ma è presente anche in Slovenia, e piccoli focolai sono presenti in alcune aree ristrette della nostra Regione (Friuli-Venezia Giulia).
- Causa un'encefalite, che spesso evolve come una comune forma influenzale, altre volte determina complicanze neurologiche, che possono lasciare delle sequele, e in una piccola percentuale di casi può portare all'exitus.

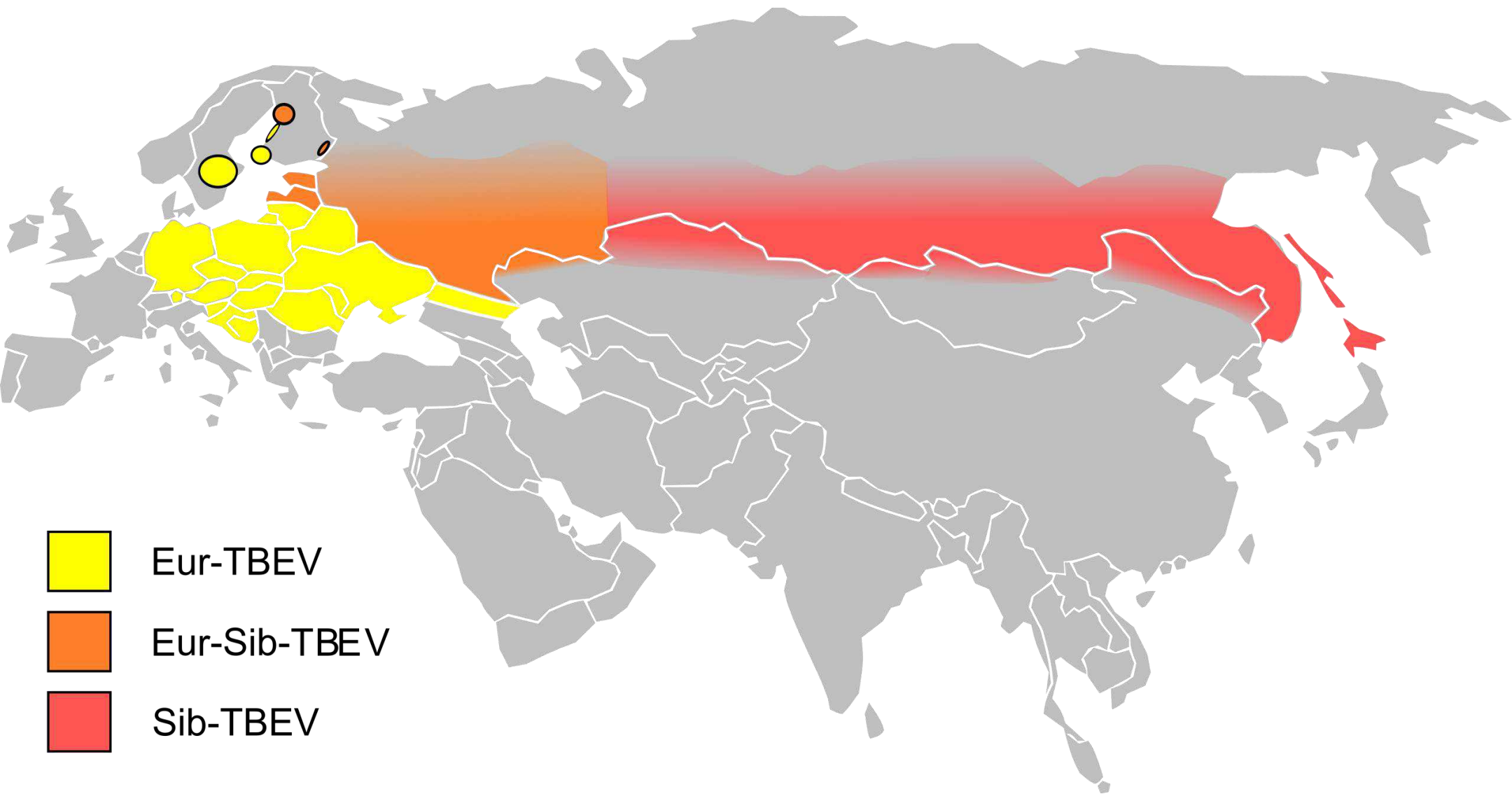
# TICK-BORN ENCEFALITIS (TBE – FSME)



Come abbiamo visto ci sono due/tre varianti del Virus TBE

- L'encefalite da morso di zecca è stata identificata per la prima volta in Italia nel 1994 in provincia di Belluno.
- Dal punto di vista epidemiologico, oggi la TBE è presente in focolai endemici in molti Paesi dell'Europa centro orientale e settentrionale, Italia compresa. In particolare nel nostro Paese dal 1994 al 1999 sono stati identificati 35 casi di malattia in provincia di Belluno, e attualmente si può stimare che i casi sono stati alcune centinaia.

# TICK-BORN ENCEFALITIS (TBE – FSME)



# TBE: I VETTORI

Le zecche, e in particolar modo *Ixodes ricinus* e *Ixodes persulcatus*, operano sia come vettori che come serbatoi. Anche le zecche del genere *Dermacentor* (zecca del cane) ed *Haemaphysalis* possono trasmettere l'infezione.



# TBE: I RESERVOIRS

- Il virus trasmesso dalle zecche infetta diversi animali, selvatici o domestici, fra cui roditori, caprioli, ovini, caprini che contribuiscono al mantenimento del ciclo di trasmissione dell'infezione.
- Gli uccelli, molto probabilmente, contribuiscono a trasportare passivamente zecche infette anche a notevole distanza durante le loro migrazioni.



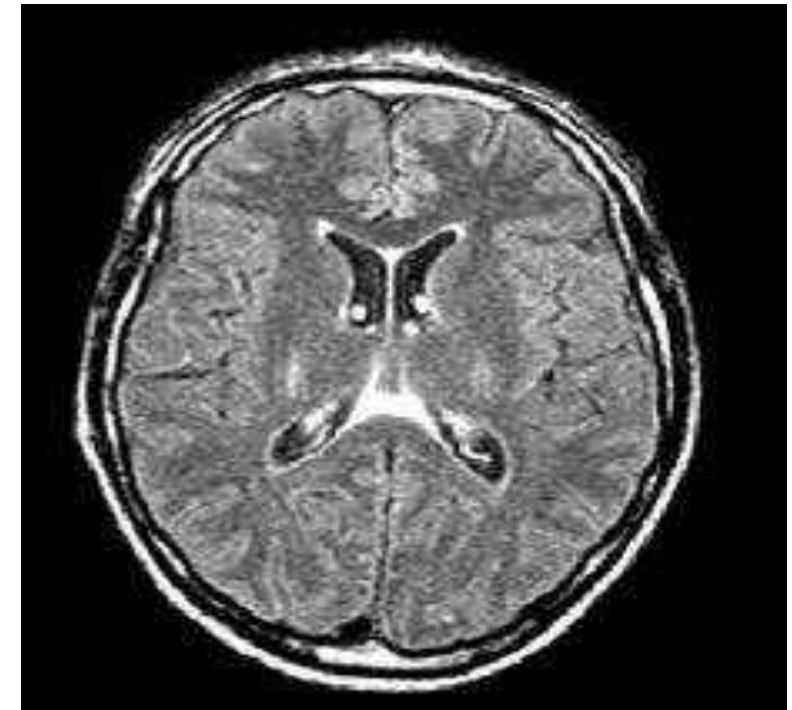
# CLINICA



- Dopo il morso di zecca infetta nell'uomo, nel 70% dei casi circa, si manifesta un'infezione senza o con sintomi poco rilevanti, che può passare inosservata.
- Nel restante 30% dei casi, dopo 3-28 giorni dal morso di zecca si ha una prima fase con sintomi similinfluenzali come febbre alta, mal di testa importante, mal di gola, stanchezza, dolori ai muscoli e alle articolazioni per 2-4 giorni. Poi la temperatura scende e in genere non ci sono ulteriori conseguenze.

# CLINICA

- Nel 10-20 per cento di questi casi, dopo un intervallo senza disturbi di 8-20 giorni, inizia una seconda fase caratterizzata da **disturbi del sistema nervoso centrale** (encefalite, paralisi flaccida a esito mortale nell'1% dei casi).
- Nei bambini e nei soggetti più giovani la TBE mostra generalmente un decorso più mite, con progressivo aumento della severità al progredire dell'età.



# DIAGNOSI

## ➤ *Diagnosi prevalentemente indiretta*

- Ricerca degli Anticorpi mediante *ELISA*, *IFI*
- *Test di Neutralizzazione*
- Conferma positivi mediante Inibizione della *Emoagglutinazione*

## ➤ *Criterio di positività*

- *Dati anamnestici, Sintomi clinici*
- *Sierologia positiva confermata*
- *Sieroconversione.*

# DIAGNOSI

## ➤ *Diagnosi diretta di secondo livello*

- PCR su campioni di liquor.
- Non è al momento una tecnica standardizzata.

## ➤ *Profilassi*

- *Vaccino, disponibile e gratuito presso le ASL della Regione Friuli-Venezia Giulia (3 richiami).*

# TERAPIA

Attualmente non esiste un trattamento risolutivo, la terapia rimane sostanzialmente di sostegno.

# TBE: PROFILASSI SPECIFICA



- Il **Vaccino contro la TBE**, da tempo in uso in molti Paesi dell'Europa centrale e settentrionale, è stato registrato anche in Italia con procedura di mutuo riconoscimento comunitario.
- Il vaccino è entrato in commercio nel nostro Paese all'inizio del 2006.

# TBE: PROFILASSI SPECIFICA

- Il ciclo vaccinale di base prevede la somministrazione di tre dosi (0, 1-3 mesi, 9-12 mesi) con richiami a cadenza triennale, per via intramuscolare, preferibilmente nella regione deltoidea.
- La vaccinazione è fortemente consigliata per le persone che, per motivi ludico-ricreazionali (caccia, raccolta funghi, boyscout) o lavorativi (guardie forestali), si recano in zone a rischio.



# TBE: PROFILASSI SPECIFICA

- La vaccinazione va effettuata preferibilmente nei mesi invernali: in questo modo solo così si è sicuri di avere una sieroconversione e un'efficacia protettiva nei periodi a maggior rischio di morso di zecca.
- Il vaccino attualmente utilizzato è quello inattivato, (Ticovac – Baxter).
- Gli effetti collaterali del vaccino in uso sono rappresentati da reazioni locali come il rossore e il gonfiore nella sede dell'iniezione o tumefazione dei linfonodi locoregionali. Tra le reazioni generali sono segnalate affaticamento, dolore muscolare, nausea e mal di testa, febbre moderata, vomito e rash cutaneo transitorio.

# COINFEZIONI: FLAVIVIRUSES

- **Tick-borne encephalitis**    **Central European subtype (Neudoerfl)**
  - Trasmissione:                      *Zecche Ixodes*
  - Area di diffusione:                *Europa*
  - GenBank:                            *n ° V27495<sup>c</sup>*
  
- **Tick-borne encephalitis**    **Far Eastern subtype (Sofjin)**
  - Trasmissione:                      *Zecche Ixodes*
  - Area di diffusione:                *Europe*
  - GenBank:                            *n ° X07755<sup>c</sup>*
  
- **Powassan (LB)**
  - Trasmissione:                      *Zecche Ixodes*
  - Area di diffusione:                *North America, Russia*
  - GenBank:                            *n ° L06436<sup>c</sup>*

# POWASSAN NEUROSENSITIVE DISEASE

- Il Powassan virus (POWV) è stato isolato per la prima volta nel 1958 ed è stato responsabile di malattia neuroinvasiva. I tassi di infezione sono aumentati negli ultimi dieci anni con numerosi stati che hanno riportato il loro primo caso confermato; New Jersey, New Hampshire e Connecticut riportarono tutti il loro primo caso negli ultimi cinque anni. I vettori sono *Ixodes scapularis* e *Ixodes cookei* nella Regione dei Grandi Laghi negli Stati Uniti.
- Le zecche *Ixodes scapularis*, raccolte nel cervo dalla coda bianca (*Odocoileus virginianus*), presentano un tasso di infezione da Powassan virus dello 0,5%
- Affinché si realizzi la trasmissione del POWV, è sufficiente che la zecca infetta rimanga attaccata all'ospite per 15 minuti, un tempo quindi nettamente inferiore a quanto richiesto per la trasmissione delle altre Coinfezioni e della Malattia di Lyme stessa.

# POWASSAN NEUROSENSITIVE DISEASE

- Il quadro clinico è caratterizzato da improvvisa febbre elevata (40-41 °C), confusione mentale, con sonnolenza e incapacità di riconoscimento.
- Alterazioni del sensorio, convulsioni e deficit neurologici focali.
- Rigidità del collo e debolezza motoria diffusa.
- Powassan IgM ELISA su siero.
- Sequenziamento Rapido Metagenomico.
- Liquor con Pleocitosi linfocitica, Proteine elevate, Glucosio normale.
- Il tasso di mortalità dell'infezione da virus Powassan è di circa il 10-15% e le sequele sono maggiori del 50% nei sopravvissuti.
- Terapia Ig vena
- Sono in sperimentazione Isoxazoli e composti di piombo, derivati 5-Aminoisoxazolo contenenti frazione adamantilica.

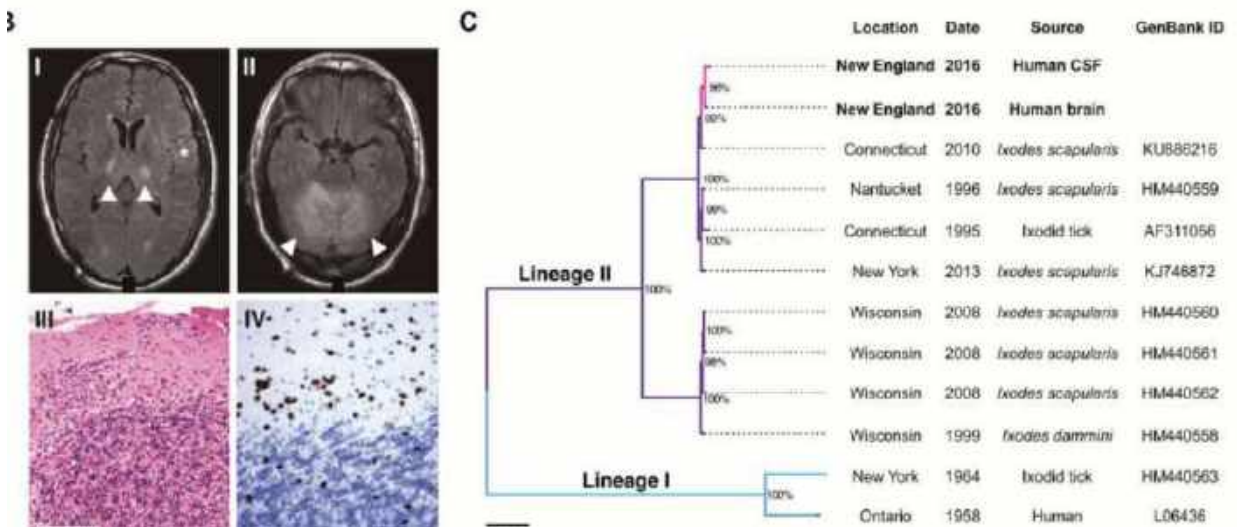
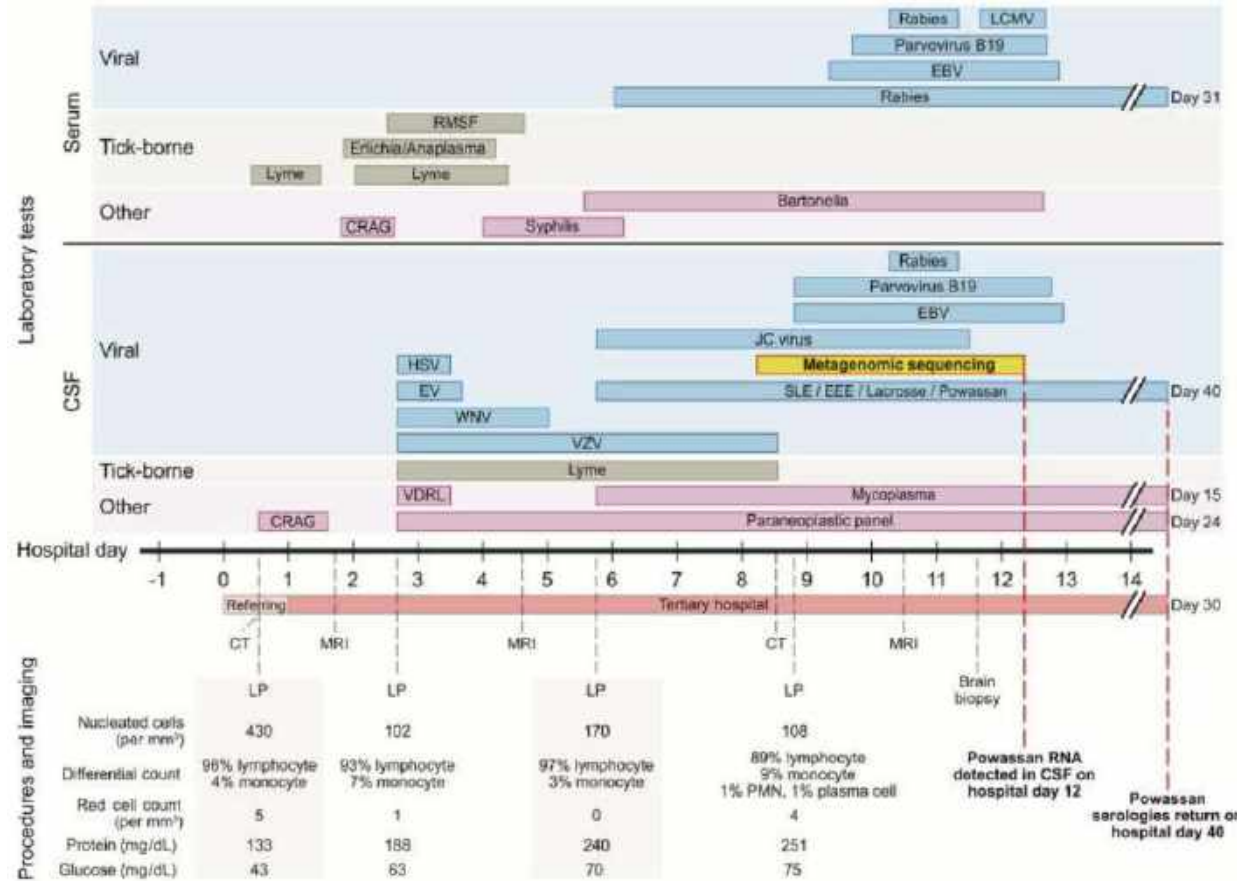
# Dati Clinici Sequenziamento genoma

A. Cronologia dei test diagnostici, imaging e procedure. Per i test diagnostici, ogni barra indica il tempo tra la raccolta dei campioni e il ricevimento dei risultati.

B. Risultati di imaging cerebrale e biopsia cerebrale. Le immagini di RMN cerebrale assiale mostrano iperintensità focali di T2 ponderate / attenuate con fluidi di inversione del talamo bilaterale (pannello I, punte di freccia) e corteccia (pannello I, asterisco) e iperintensità confluenti del cervelletto (pannello II, punte di freccia). La colorazione con ematossilina e eosina di una biopsia della fossa posteriore destra mostra un'ampia infiltrazione linfocitica e ispessimento della dura madre e infiammazione diffusa del cervelletto (pannello III). La colorazione CD3 del cervelletto rivela un infiltrato linfocitario prevalentemente a cellule T nella cellula granulare e negli strati molecolari (pannello IV). Barra scala = 100  $\mu$ m.

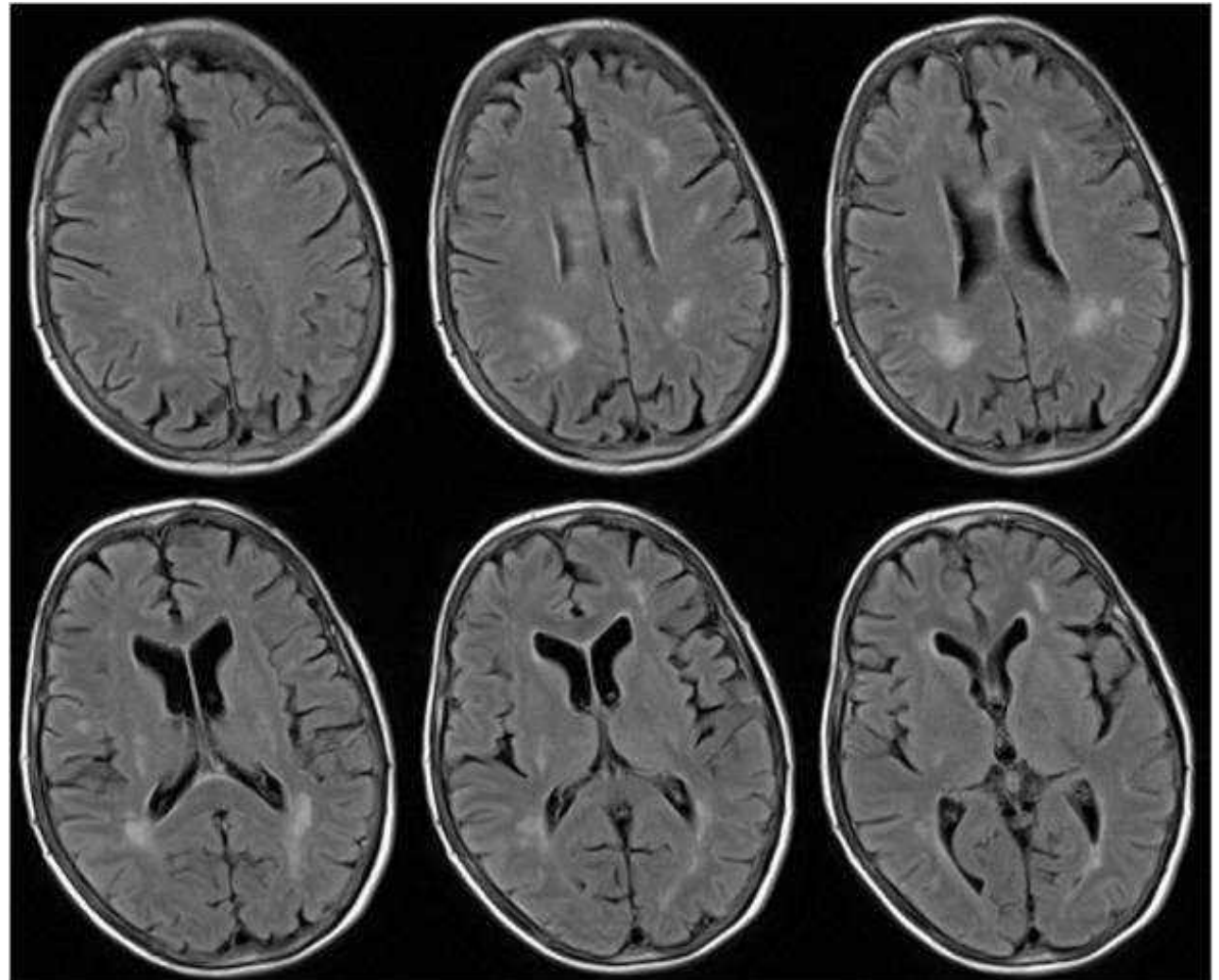
C. Albero filogenetico dei genomi del virus Powassan. I genomi del virus Powassan parziale identificati in questo studio sono etichettati in rosa. Queste sequenze si raggruppano insieme e con altri genomi della linea II del virus Powassan isolati dalle zecche *Ixodes* negli Stati Uniti nordorientali. Gli isolati di genomi della linea II del virus Powassan dalle zecche *Ixodes* nel Midwest sono etichettati in viola. I genomi della stirpe del virus Powassan I sono inclusi come riferimento (etichettati in blu). I rami sono etichettati con la posizione, la data, la fonte e l'ID GenBank di ciascun genoma del virus Powassan. I nodi sono etichettati con una percentuale di supporto per il bootstrap.

Abbreviazioni: CRAG, antigene criptococco; CSF, liquido cerebrospinale; EBV, virus Epstein-Barr; EEE, virus dell'encefalite equina orientale; HSV, virus herpes simplex; IVIG, immunoglobulina per via endovenosa; LCMV, virus della coriomeningite linfocitica; RMSF, febbre delle Montagne Rocciose; SLE, virus dell'encefalite di Saint Louis; LP, puntura lombare; Risonanza magnetica; PMN=Leucociti polimorfonucleati; CT=Tomografia computerizzata; VDRL, Laboratorio di ricerca sulle malattie veneree; VZV= virus varicella-zoster; WNV, West Nile Fvirus.



# POWASSAN NEUROSENSITIVE DISEASE

**MNR Cervello:**  
iperintensità della  
sostanza bianca T2 /  
FLAIR che coinvolge la  
materia bianca  
periventricolare profonda  
e superficiale e il corpo  
calloso.



# INFEZIONI TRASMESSE DA ZECICHE *IXODES SPP*

- **VIRUS:** FLAVIVIRUS  
HANTAVIRUS
- **BATTERI:** BORRELIA HTBRF  
RICKETTSIA SP  
EHRLICHIA – ANAPLASMA  
BARTONELLA
- **PROTOZOI** BABESIA

# COINFEZIONI: BORRELIA (HTBRF)

- **LYME DISEASE - Borrelia burgdorferi sensu lato**
    - Trasmissione: *Zecche Ixodes*
    - Area di diffusione: *Europa, America, Asia, Africa*
  
  - **Hard Tick-Borne Relapsing Fever (HTBRF) – Borrelia miyamotoi sl**
    - Trasmissione: *Zecche Ixodes*
    - Area di diffusione: *Europa, America, Asia, Africa, Oceania*
- 
- *Borrelia miyamotoi*
  - *Borrelia merionesi*
  - *Borrelia johnsoni*
  - *Borrelia lonestari*



# HARD TICK-BORN RELAPSING FEVER

Isolati da zecche *Ixodes persulcatus* in Giappone nel 1990, sull'isola di Hokkaido dall'entomologo giapponese **Kenji Miyamoto**.

Nel 1995, il genoma delle spirochete isolate su Hokkaido fu esaminato da M. Fukunaga, che la identificò come una nuova specie di spirochete, e fu denominata ***Borrelia miyamotoi***.



# HTBRF



- Questo gruppo comprende *Borrelia miyamotoi*, che viene trasmesso da *Ixodes spp.*; infettano animali e l'uomo. **Appartengono alle HTBRF:**
- *Borrelia theileri* e *Borrelia lonestari* causano infezioni negli animali;
- Sono state identificate *Borrelia merionesi* e *Borrelia johnsoni*.
- Fino al 2016, *B. miyamotoi* si sono state isolate zecche del genere *Ixodes*:
  - *I. persulcatus* in **Asia** (Giappone e Russia),
  - *I. scapularis* e *Ixodes pacificus* in **Nord America** (Stati Uniti e Canada),
  - *I. ricinus* in Europa (Svezia, Germania, Francia, Repubblica Ceca, Norvegia, Polonia, Belgio, Gran Bretagna, Danimarca, Estonia, Svizzera e Ungheria. Spagna, **Italia**).
- La morfologia di *Borrelia miyamotoi* (HTBRF) è simile a quella di *B. burgdorferi* sensu lato. Quando si confronta, tuttavia, il **DNA di queste due specie, la somiglianza tra loro è piccola, di circa il 13%**
- Le spirochete *Borrelia miyamotoi sensu lato* assomigliano al gruppo della febbre ricorrente trasmessa da zecche, come *Borrelia hermsii*, *B. turicatae*, *B. parkeri*.

# HTBRF IN ITALIA



Primo rilevamento di ***Borrelia miyamotoi*** in zecche di *Ixodes ricinus* raccolte in due studi indipendenti condotti nel 2016 nelle

- **Alpi Nord-Orientali**
- **Alpi Nord-Occidentali, in ITALIA.**

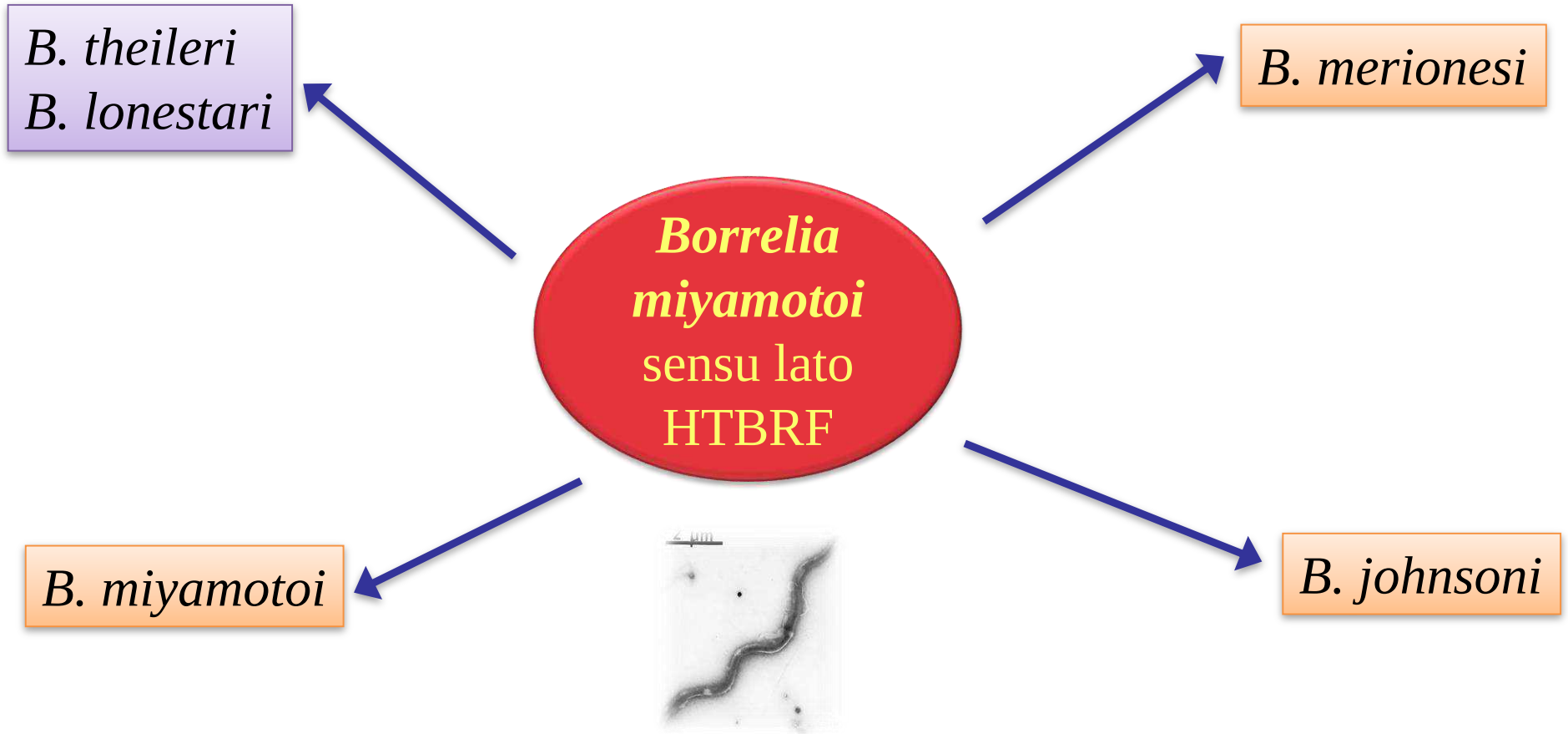
L'esposizione a ***Borrelia miyamotoi*** e il rischio di infezione umana possono verificarsi attraverso i ***morsi di zecca nel Nord Italia***. ***La Febbre ricorrente causata da Borrelia miyamotoi (HTBRF) non è stata segnalata in Italia, ma possono verificarsi diagnosi errate con encefalite trasmessa da zecche, Neuroborreliosi, Anaplasmosi granulocitica umana.***

***In ogni caso questa Borrelia della HTBRF è presente in Italia.***

***Borrelia miyamotoi*** dovrebbe essere considerato nella diagnosi differenziale di pazienti febbrili provenienti da regioni endemiche di Borreliosi di Lyme.

- Silvia Ravagnan, Laura Tomassone, Fabrizio Montarsi, Aleksandra Iwona Ktawczyk, Eleonora Mastroiilli, Hein Sprong, Adelaide Milani, Luca Rossi e Gioia Capelli: First detection of ***Borrelia miyamotoi* in *Ixodes ricinus* ticks from northern Italy**. Parasit Vectors. 2018; 11: 130.

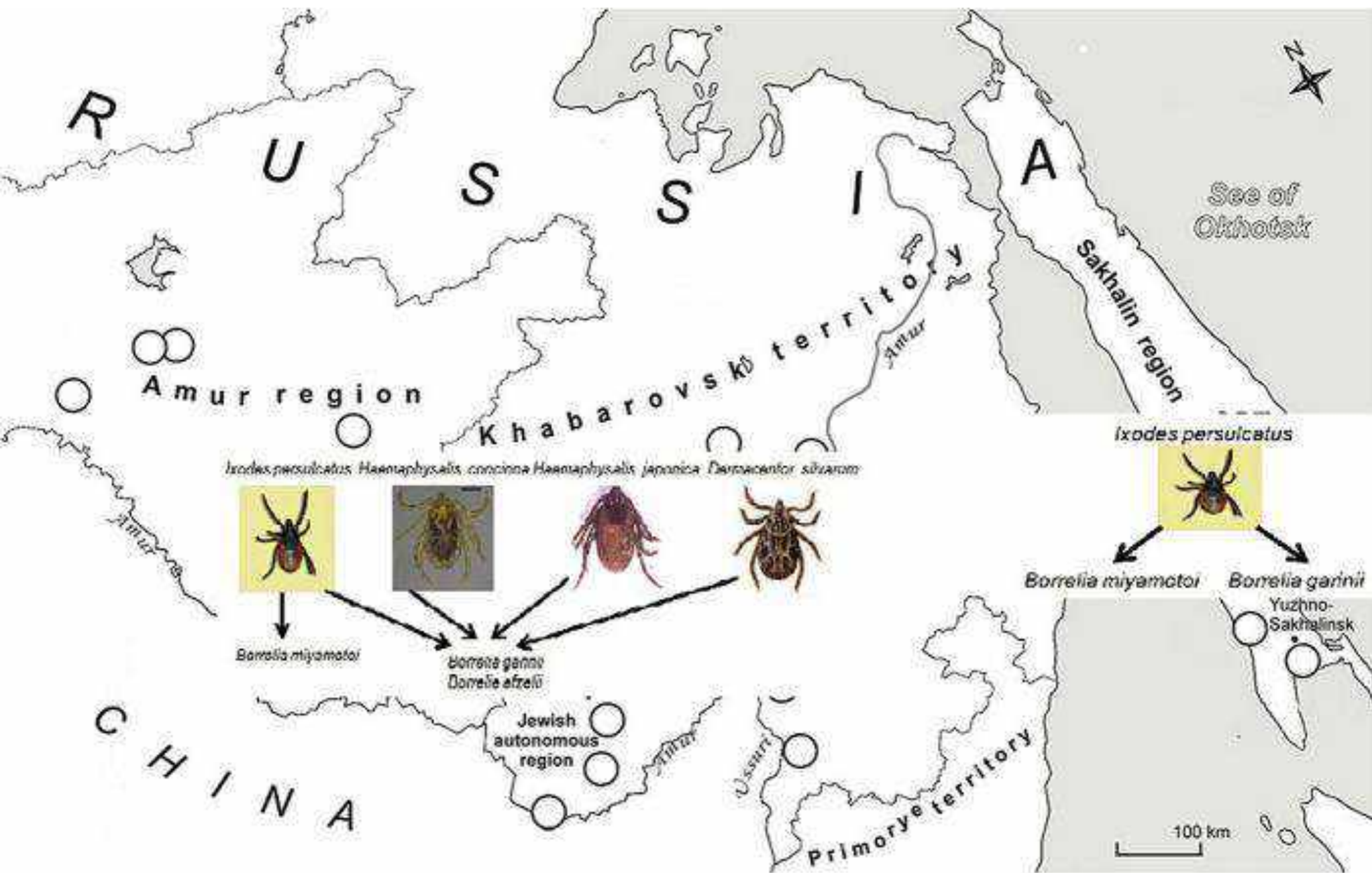
# *Eterogeneità di Borrelia miyamotoi sensu lato*



Non pathogenicity



Known human pathogenic



# HTBRF



- Nel 3-7,4% (Olanda) dei pazienti con BL sono stati rilevati anticorpi anti *B. miyamotoi*.
- Sempre in Olanda sono stati rilevati anticorpi anti-*Borrelia miyamotoi* nel 2% dei donatori di sangue, nel 10% dei forestali.
- *Borrelia miyamotoi* (differentemente da *Borrelia burgdorferi*) si trasmette con le Trasfusioni.
- A causa della presenza di infezioni nell'emisfero settentrionale, la malattia causata da *B. miyamotoi* è stata identificata come una malattia emergente.

# HTBRF CLINICA

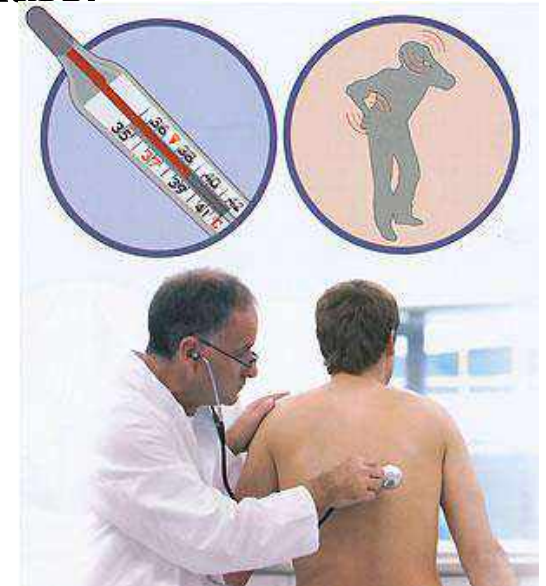


- **Febbre** 2 o 3 episodi, fino a 40 °C
- Vertigini, Brividi, Sudorazione, Aumento della sete, Nausea, Vomito.
- **Dolori Muscolari** e **Articolari**,
- **Meningite**,
- **Nervi cranici**, *in associazione* in alcuni casi *con Borreliosi di Lyme*,
- **Compromissione Funzionalità Renale** (oliguria, leucociti, eritrociti, cellule epiteliali urinarie).
- **Leucopenia** con **Monocitisi** transitoria e **Trombocitopenia**.
- **Epatite**: aumento degli enzimi AST / ALT.
- **Erythema migrans**: compare nelle infezioni miste ***B. burgdorferi*** + ***B. miyamotoi***, mentre non è presente nel caso di *B. miyamotoi da sola*.

# HTBRF IMMUNODEPRESSI



- L'infezione da *B. miyamotoi* è molto più aggressiva nei **Pazienti Immunocompromessi**, in particolare quelli trattati per linfoma non Hodgkin (NHL) con Rituximab,
- Si può rilevare spirochete mobili nel liquor cerebrospinale.
  - Febbre,
  - Cefalea,
  - Meningoencefalite
  - Mialgia, Astenia.
  - Difetti di elaborazione cognitiva,
  - Andatura disturbata.
- I sintomi Neurologici sono spesso simili a quelli causati dalla NeuroLyme.



# HTBRF LABORATORIO



- La somiglianza tra antigeni di *B. miyamotoi* sensu lato e di *Borrelia burgdorferi* sensu lato può portare a **reattività crociata** di anticorpi, specialmente in test con antigeni diagnostici preparati dall'intera cellula batterica (ELISA Sonicato).
- Il **20%** dei pazienti con **Anticorpi anti *B. miyamotoi*** ha reagito con **Antigeni di *B. burgdorferi*** in ELISA
- Le più frequenti proteine cross-reattive erano **FlaB - Flagellina (p41)**, le **Heat-Shock-Proteins** di Groel (**p58 e p66**) e la proteina **BmpA (p39)** .
- I **Test sierologici** sono basati sul rilevamento di anticorpi per la **Proteina GIpQ** presente nella malattia di *Borrelia miyamotoi* ma assenti nella *Borrelia burgdorferi*.

# HTBRF LABORATORIO



**ANALISI SIEROLOGICHE** a due livelli in **ELISA** e **Western Blot** per IgG e IgM, utilizzano come Antigeni:

- **Fosfodiesterasi glicerofosfodiesterasica (GlpQ)**, (**Early Disease**) la quale è altamente conservata in *Borrelia miyamotoi* e in tutti i membri della febbre ricorrente, e **non crossa con *Borrelia burgdorferi*** sensu lato della Malattia di Lyme
- **Anticorpi anti-VMP-1 (Variable Major Protein)**, (**Late Disease**) , che tuttavia sono sono reattivi anche con *B. burgdorferi* s.l.

## AMPLIFICAZIONE GENICA (PCR)

- **RT-PCR** si effettua con una sonda specifica per la HTBRF rivolta al **Gene dell'rDNA 16S** come descritto da Barbour.
- Viene eseguito un secondo test **RT-PCR sul Gene GlpQ** di *B. miyamotoi*.
- Analisi di **Sequenziamento di loci multipli (MLSA)** di sequenze di *B. miyamotoi* nucleotidiche di tre frammenti di **16S rRNA, glpQ e p66**

# HTBRF TERAPIA



- **Nella Meningite e Neuriti craniche:**

- **Ceftriaxone** iv 2 gr/die x 28 giorni

- **Senza Complicanze Neurologiche:**

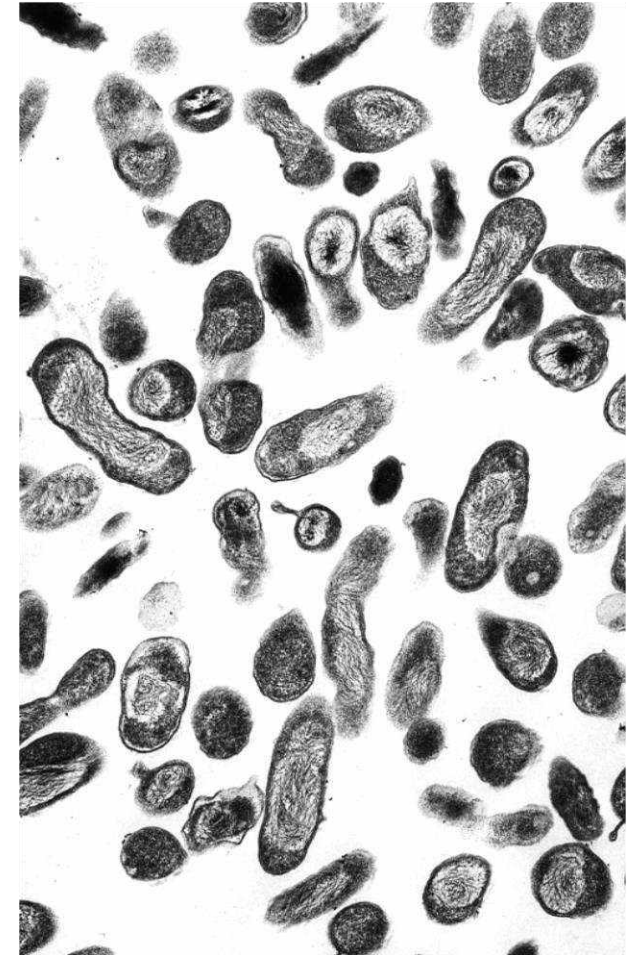
- Doxyciclina 100 mg 2x/die per 20-30 giorni

Suscettibilità in vitro agli Antibiotici di *B. miyamotoi* isolati in Nord America e Asia, e di *Borrelia burgdorferi* s.l. I valori MIC e MBC sono stati determinati con due metodi.

- *B. miyamotoi* e *B. burgdorferi* hanno una sensibilità simile al **Ceftriaxone**.
- *B. miyamotoi* è più sensibili alla **Doxiciclina** e all'**Azitromicina** rispetto a *B. burgdorferi*,
- *B. burgdorferi* è sensibile all'Amoxicillina,
- ***B. miyamotoi* è poco responsiva all'Amoxicillina.**

# INFEZIONI TRASMESSE DA ZECCHIE *IXODES SPP*

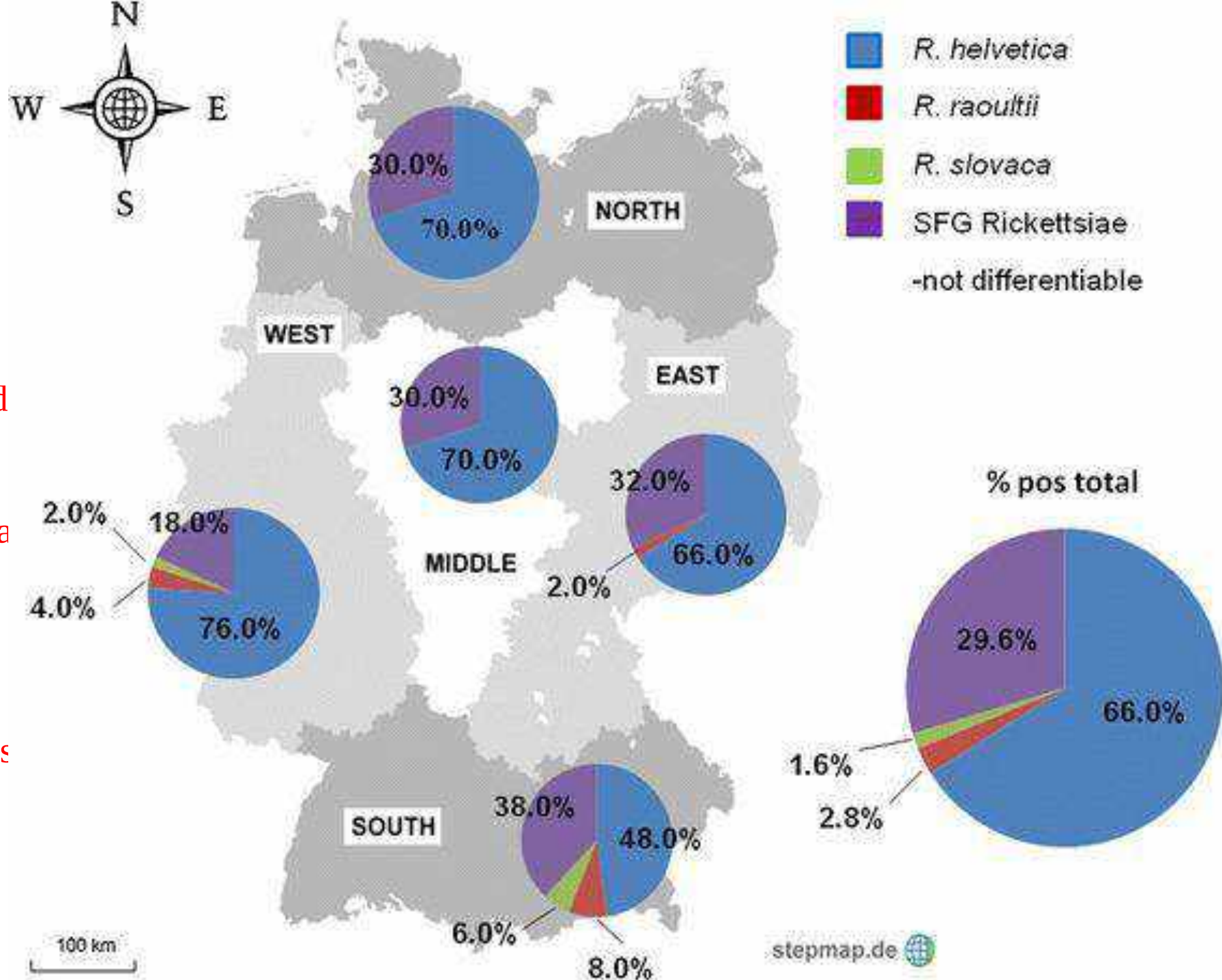
- **VIRUS:** FLAVIVIRUS  
HANTAVIRUS
- **BATTERI:** BORRELIA  
RICKETTSIA SP  
EHRlichia  
BARTONELLA
- **PROTOZOI** BABESIA

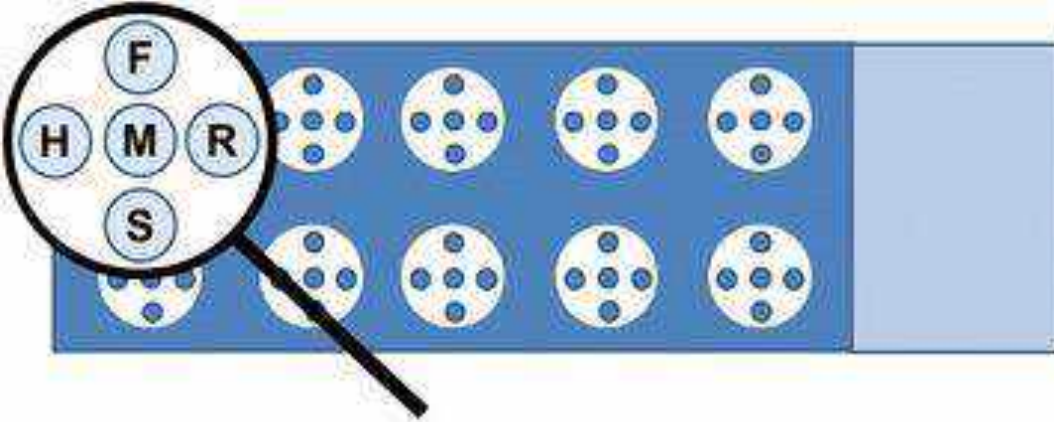


# COINFEZIONI: RICKETTSIA

- RICKETTSIE trasmesse da: *Ixodes sp*
  - Area di diffusione: *Europa, Asia, America Africa*
  - Possibile **Co-presenza di *Borrelia burgdorferi sensu lato***
    - *Rickettsia helvetica* (*I. ricinus, I. scapularis, I. persulcatus*)
    - *Rickettsia monacensis* (*I. ricinus, I. scapularis, I. pacificus*)
    - *Rickettsia slovaca* (*I. ricinus, I. pacificus*)
    - *Rickettsia raoultii* (*I. ricinus*)
    - *Rickettsia buchneri* (*I. scapularis, I. pacificus*)
    - *Rickettsia montanensis* (*I. pacificus*)
- RICKETTSIE trasmesse da: *Dermacentor marginatus*
  - Area di diffusione: *Europa*
    - *Rickettsia slovaca*
    - *Rickettsia raoultii*
    - *Rickettsia massiliae*

Division of Germany for sample assessment in five regions and seroprevalence rates of the tested *Rickettsia* spp. based on the 50 positive samples tested in the five different regions





F: *R. felis*

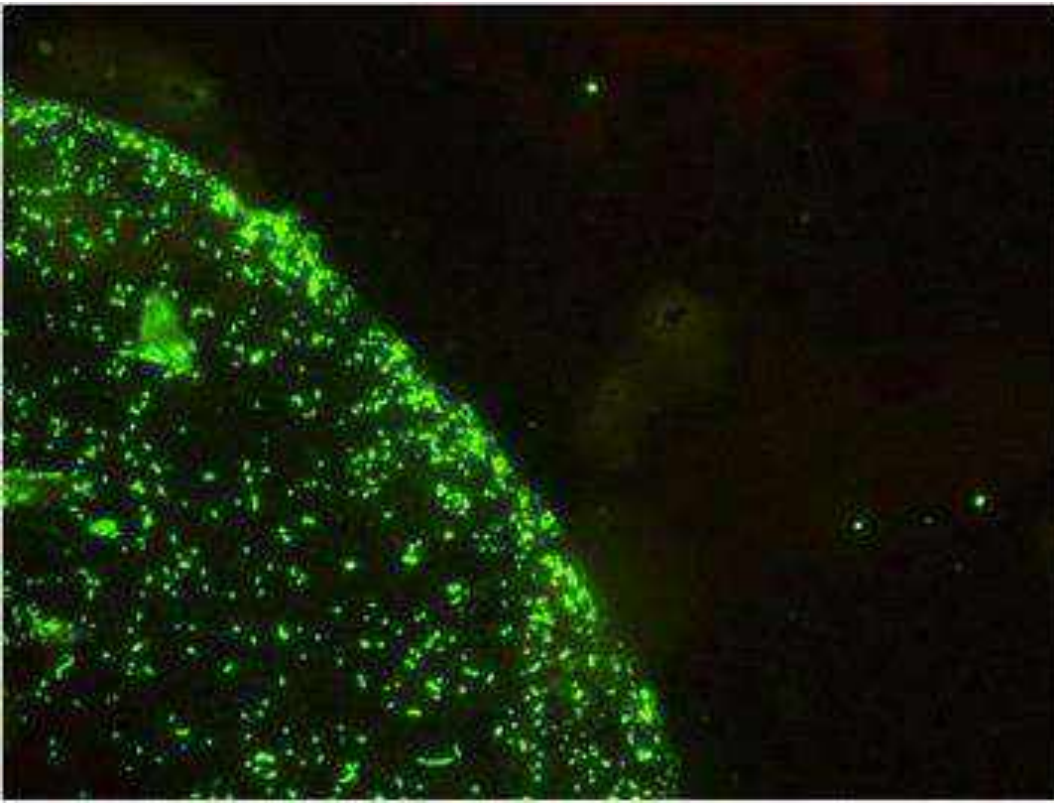
R: *R. raoultii*

S: *R. slovaca*

H: *R. helvetica*

M: *R. monacensis*

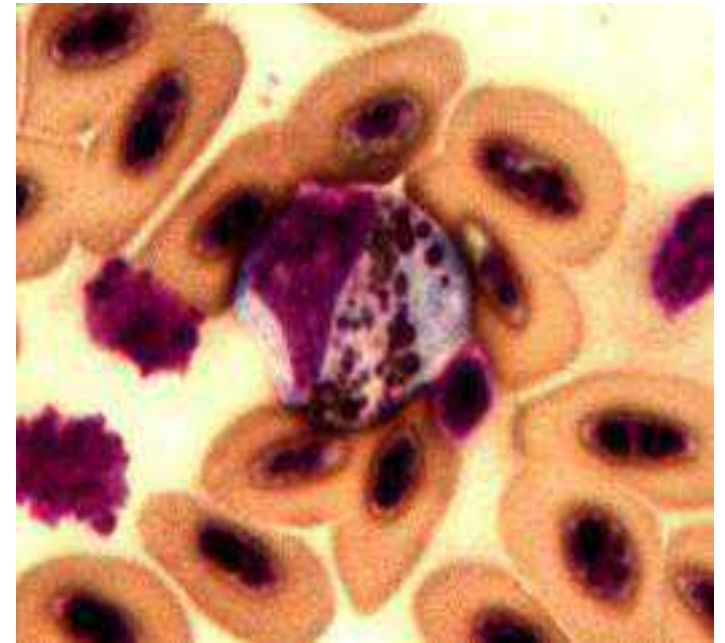
Arrangement of rickettsial antigen dots per spot on the Micro IFA-Slide.



Positive reaction for antibodies against *Rickettsia raoultii* antigen on the Micro IFA-Slide (dilution 1:128).

# INFEZIONI TRASMESSE DA ZECICHE *IXODES SPP*

- **VIRUS:** FLAVIVIRUS  
HANTAVIRUS
- **BATTERI:** BORRELIA  
RICKETTSIA SP  
ANAPLASMA/  
EHRLICHIA  
BARTONELLA
- **PROTOZOI** BABESIA



# ANAPLASMOSI/EHRLICHIOSI

- Una delle infezioni trasmesse da zecche per lo più appartenenti al genere *Ixodes* ed *Amblyomma* sia all'uomo che altri mammiferi è rappresentata dall'Anaplasmosi/Ehrlichiosi.
- È una malattia febbrile, causata da un batterio intracellulare obbligato.

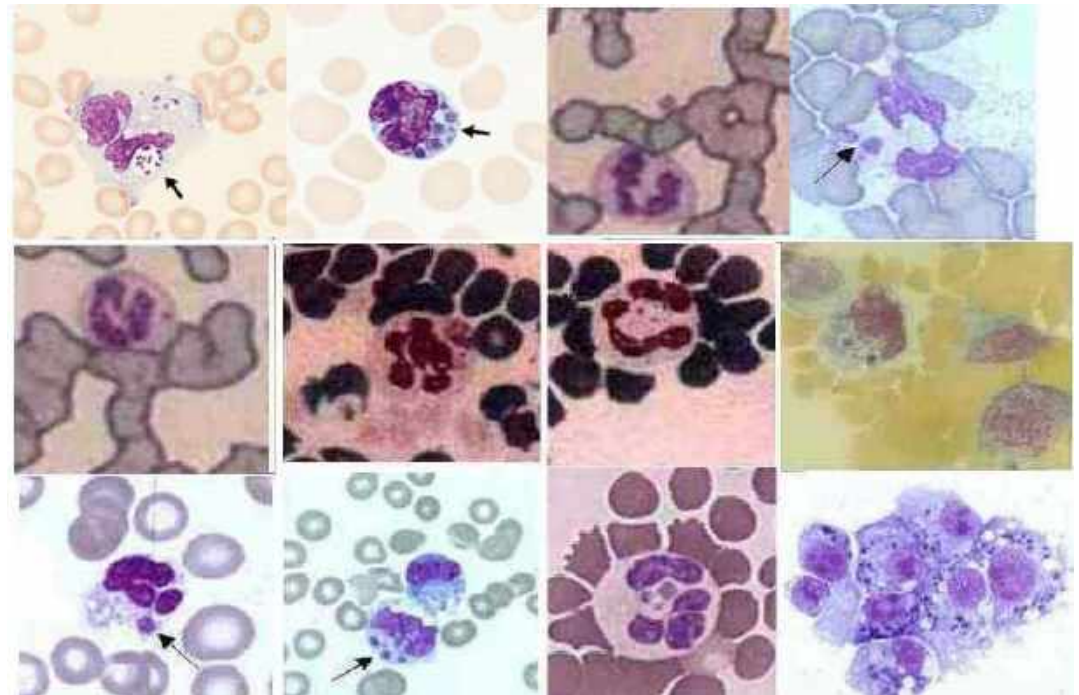


# ANAPLASMA/EHRLICHIA: MICROBIOLOGIA

Nel 2001, in base all'analisi filogenetica della sequenziazione del gene rRNA 16S, le Ehrlichie sono state incluse nel genere Anaplasma e suddivise in tre classi : Anaplasma, Neorickettsia ed Ehrlichia.

Le specie responsabili di Ehrlichiosi umana sono:

- *Anaplasma phagocytophilum* (HGE),
- *Ehrlichia chaffensis* (HME),
- *Ehrlichia edwingii*,
- *Neorickettsia sennetsu*.



# COINFEZIONI: ANAPLASMA – 3 GRUPPI

- **ANAPLASMA** trasmessa da: *Ixodes sp*
  - Area di diffusione: **Europa, USA** (California Oregon DC)
    - *Anaplasma phagocytophilum* *I. ricinus, I. pacificus, I. scapularis, I. spinipalpis*
- **EHRLICHIA** trasmessa da: *Ixodes sp e Amblyomma sp*
  - Area di diffusione: **Europa, Asia, America Africa**
    - *Ehrlichia chaffensis* (*I. scapularis, I. pacificus, I. persulcatus I. turdus, Amblyomma americanum*)
    - *Ehrlichia ewingii* (*Amblyomma americanum*)
    - *Ehrlichia muris* (*I. scapularis*)
    - *Neoehrlichia mikurensis* (*I. ovatus, I. ricinus*)
- **NEORICKETTSIA** trasmessa da: **Ingestione di Pesce infetto**
  - Area di diffusione: **Giappone, Malesia**
    - *Neorickettsia sennetsu* (*Sennetsu Fever, infetta i Monociti*)

# *Anaplasma phagocytophilum*

*Anaplasma phagocytophilum* infetta i neutrofili granulociti, e causa la **Human Granulocitic Anaplasmosis (HGA Agent)**, che infetta i granulociti nell'uomo;

la **Human Granulocitic Ehrlichiosis (HGE Agent)** include *Ehrlichia equi*, che causa la stessa malattia nel cavallo, e

*Ehrlichia phagocytophyla*, agente della febbre da zecche nelle pecore. I casi di HGA si osservano soprattutto in primavera, colpiscono gli adulti e sono stati descritti per la prima volta da Bakken nel 1994. Esistono casi descritti di infezione trasmessa nei neonati.

# *Anaplasma phagocytophilum*



Nel 2007, Grab et al. trovato che l'infezione di *A. phagocytophilum* può essere responsabile di una forma più grave di LD, con maggiore diffusione e possibili complicanze a lungo termine perché la co-infezione causa una riduzione della resistenza elettrica transendoteliale e una maggiore produzione di metalloproteinasi, citochine e chemochine.

Nel 2013 Horowitz ha segnalato che HGA sembra essere meno severa nei pazienti con coinfezione da Lyme rispetto ai pazienti con HGA isolata: febbre alta e citopenia sono meno comuni e importanti.

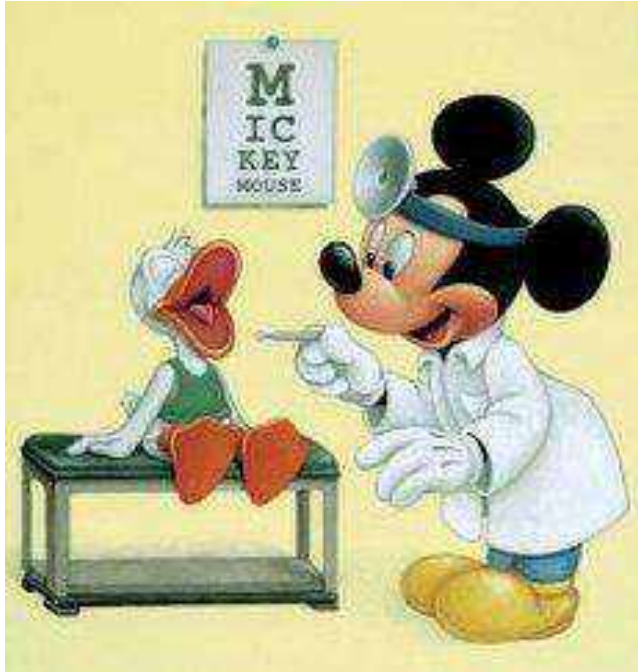
[Horowitz HW<sup>1</sup>](#), [Aguero-Rosenfeld ME](#), [Holmgren D](#), [McKenna D](#), [Schwartz I](#), [Cox ME](#), [Wormser GP](#).

Lyme disease and human granulocytic anaplasmosis coinfection: impact of case definition on coinfection rates and illness severity. [Clin Infect Dis](#). 2013 Jan;56(1):93-9.

# *EHRLICHIOSI MONOCITICA*

- *Ehrlichia chaffeensis* infetta i monociti, causando la Human Monocytic Ehrlichiosis (HME agent); la HME include.
- *Ehrlichia ewingii* agente patogeno del cane, infetta soprattutto pazienti immunocompromessi, è trasmessa da *Amblyomma americanum* ed è diffusa nel Sud e Centro-Sud degli USA.
- *Ehrlichia muris (subsp. Eaucloirensis)* è l'agente eziologico dell'erlichiosi umana nel Minnesota e nel Wisconsin.

# CLINICA



Il tempo che intercorre tra il morso della zecca e i primi sintomi è di circa 7-14 giorni.

I sintomi iniziali possono essere simili a quelli influenzali, e passare inosservati.

- Brividi
- Febbre
- Mal di testa
- Dolori muscolari
- Nausea e Diarrea,
- A Rash maculopapulare e Petecchie.



In rari casi di *Ehrlichia chaffensis* è stata osservata:

- ❑ Evoluzione in malattia multisistemica con shock settico,
- ❑ meningoencefalite
- ❑ sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS).

# DIAGNOSI INDIRETTA 1° LIVELLO

- Un primo campione di siero in fase acuta, ed un secondo in fase di convalescenza.
- Gli anticorpi si sviluppano dopo due settimane dall'inizio dei sintomi in più del 95% dei casi accertati.
- Gli anticorpi, nel primo mese di malattia raggiungono diluizioni di 1:640 o maggiore, e permangono per almeno un anno dopo adeguata terapia antimicrobica.
- Studi di sieroprevalenza mostrano che il 10-15% delle persone che vivono in area endemica presentano anticorpi ac. Anti-Ehrlichia.
- Ricerca degli anticorpi mediante IFI (kit commerciale); titolo significativo IgG>1:64 e IgM>1:32. Per la preparazione di antigeni in IFI vengono correntemente utilizzati degli isolati umani.
- Ricerca degli anticorpi in ELISA, utilizzando antigeni purificati di *Anaplasma phagocytophilum* o antigeni ricombinanti.



# DIAGNOSI INDIRETTA 2° LIVELLO

## Western-Blot

- Test non in commercio.
- Gli antigeni immunodominanti sono quelli a 42-44 Kdal.

### **Criterio di positività:**

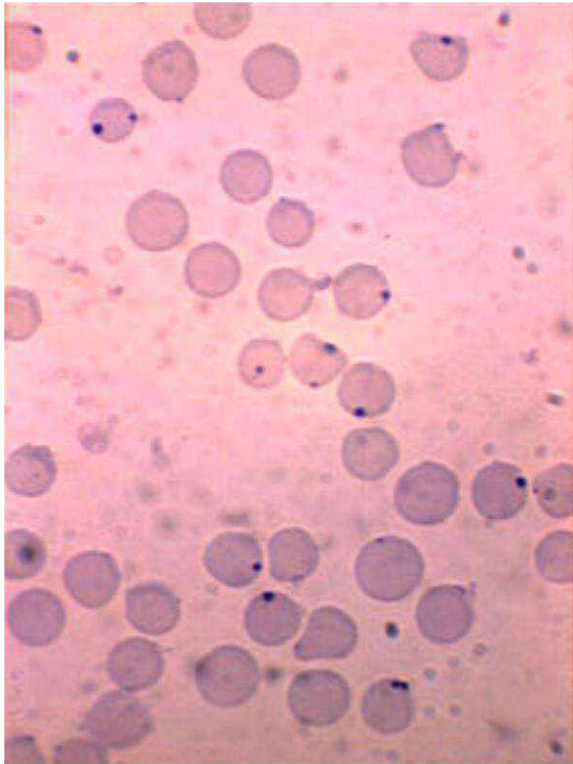
- Sintomi clinici + sieroconversione.

# DIAGNOSI DIRETTA 1° LIVELLO

È eseguibile solo in fase acuta.

**Striscio di sangue colorato con di Romanowsky o Giemsa** e si osserva al microscopio a 100x: nelle prime fasi il numero di leucociti infetto è basso ed in questi si osservano **inclusioni intragranulocitarie (morulae)**, che rappresentano microcolonie con centinaia o migliaia di *A. phagocytophylum* in un vacuolo. L'esame non è molto sensibile e le morula vengono ritrovate nel 60% dei casi infettati.

# DIAGNOSI DIRETTA 2° LIVELLO



- ➔ **PCR SU SANGUE INTERO.**
- ➔ **Electronic Health Record (EHR)-PCR** mirati al **gene rRNA 16S** di Anaplasmataceae.
- ➔ Le sequenze di solito usate sono per la **16S** rRNA, **gltA**, **groEL**, **epank1**, ed i geni che codificano l'antigene 44 kDal; essi sono presenti in copie multiple nel genoma.
- ➔ **ISOLAMENTO ANAPLASMA SU CELLULE HL-60.**
- ➔ È la linea cellulare di una leucemia promielocitica.
- ➔ L'infezione di HL-60 viene confermata ritrovando le caratteristiche inclusioni citoplasmatiche colorando con Wright.
- ➔ Usualmente le culture si positivizzano nella prima settimana di incubazione.
- ➔ È l'esame più sensibile per la diagnosi nella fase acuta, ed andrebbe effettuato prima dell'inizio della terapia.

# TERAPIA



- È meglio iniziare la terapia prima che i risultati di laboratorio confermino la diagnosi. Quando la terapia viene iniziata precocemente, i pazienti generalmente rispondono rapidamente e bene. **Doxiciclina** (100 mg 2 volte al giorno o 4 mg/kg/die in 2 dosi frazionate nei bambini) possono essere somministrate PO o EV.
- La terapia va protratta per almeno 10 gg.

# PROGNOSI

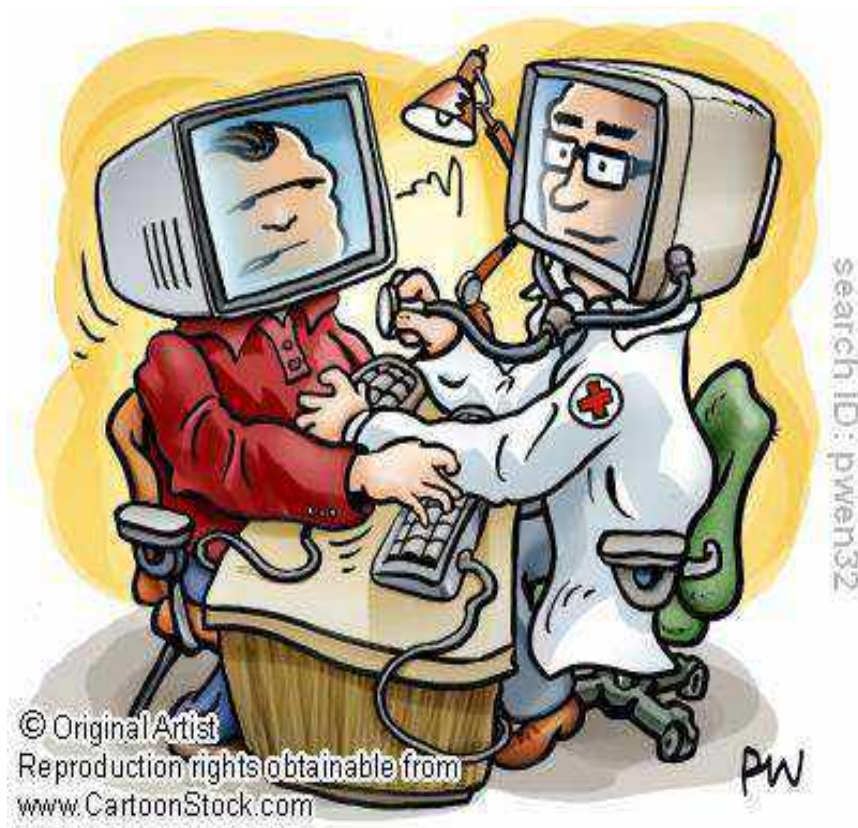
Con gli antibiotici, i pazienti generalmente migliorano entro 24-48 ore e guariscono rapidamente.

Possibili complicazioni sono:

- Danni renali;
- Danni ai polmoni;
- Altri danni d'organo;
- Convulsioni.



# DIAGNOSI



- Anche nel nostro territorio abbiamo potuto osservare diversi casi di Ehrlichiosi (*A. phagocytophylum*).
- Nei casi di Lyme con decorso atipico è utile preferire il trattamento con Doxyciclina, che è efficace in ambedue le infezioni.

## «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*» («CNM»)

- «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*» («CNM») è stato trovato per la prima volta in campioni di milza di ratti sull'isola di Mikura (Giappone), e nelle zecche.
- Non è stato ancora possibile coltivare questo batterio.
- «CNM» è stato identificato per la prima volta come agente patogeno umano nel 2010 –tramite PCR- dal sangue di un paziente svedese con leucemia linfatica cronica che ha sviluppato febbre prolungata, erisipela e complicanze tromboemboliche. Successivamente il paziente è migliorato dopo trattamento con Doxiciclina
- Il ritrovamento di «CNM» ha contribuito ad aumentare lo spettro delle malattie umane trasmesse dalle zecche dure in Europa

## «*CNM*»: MICROBIOLOGIA

- Al microscopio elettronico si è osservato a livello delle sinusoidi della milza di ratti infetti, che «*CNM*» sono piccoli Cocchi pleomorfi (0,5-1,5  $\mu\text{m}$ ), Gram negativi, (appartenenti alla classe  $\alpha$ -proteobacteria) che vivono in un ciclo interattivo tra roditori e zecche.
- «*CNM*» cresce in inclusioni legate alla membrana all'interno del citoplasma delle cellule endoteliali.
- In base alle sequenze di rRNA e groel 16S, l'analisi filogenetica ha rivelato un nuovo cluster nella famiglia delle anaplasmatacee.
- Oltre a «*CNM*» il genere «*Candidatus Neoehrlichia*» comprende almeno altri quattro appartenenti a questa famiglia

## «*Candidatus Neoehrlichia*»

- «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*»;
- «*Candidatus Neoehrlichia lotoris*», rilevato nei procioni del Nord America);
- «*Candidatus Neoehrlichia FU98*» trovato in volpi rosse, nei tassi e nella zecca *Ixodes rugicollis* dall'Europa;
- «*Candidatus Neoehrlichia australis*» e
- «*Candidatus Neoehrlichia arcane*», entrambi descritti nelle zecche *Ixodes holocyclus* dell'Australia.

Nessuno di questi, ad eccezione di «*CNM*», è stato coinvolto come agente patogeno umano.

# «CNM»: EPIDEMIOLOGIA

Il vettore principale di «CNM» è *Ixodes ricinus*.

- «CNM» è stato rilevato in Europa in altre zecche Ixodes:

- *Ixodes esagonus*,
- *Ixodes trianguliceps*,
- *Ixodes frontalis*,

raccolti su una varietà di vertebrati selvatici e domestici: roditori, cani, ricci, ovini, cinghiali, bovini, cervi rossi, uccelli.

- Studi sulla presenza di «CNM» in *I. ricinus* recuperati dopo morso di zecca nell'uomo sono stati segnalati da Germania, **Italia**, Romania e Paesi Bassi.
- In Norvegia, «CNM» è stato identificato in sette (10%) di 70 campioni di sangue da persone con morso di zecca recente con *Erythema migrans*.
- Soltanto uno di loro presentava una importante astenia.
- Sembra che la **Coinfezioni di *Borrelia burgdorferi* s.l. con «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*»** può raramente alterare il quadro clinico dei pazienti con malattia di Lyme, quando sono immunodepressi e/o portatori di una malattia ematologica.

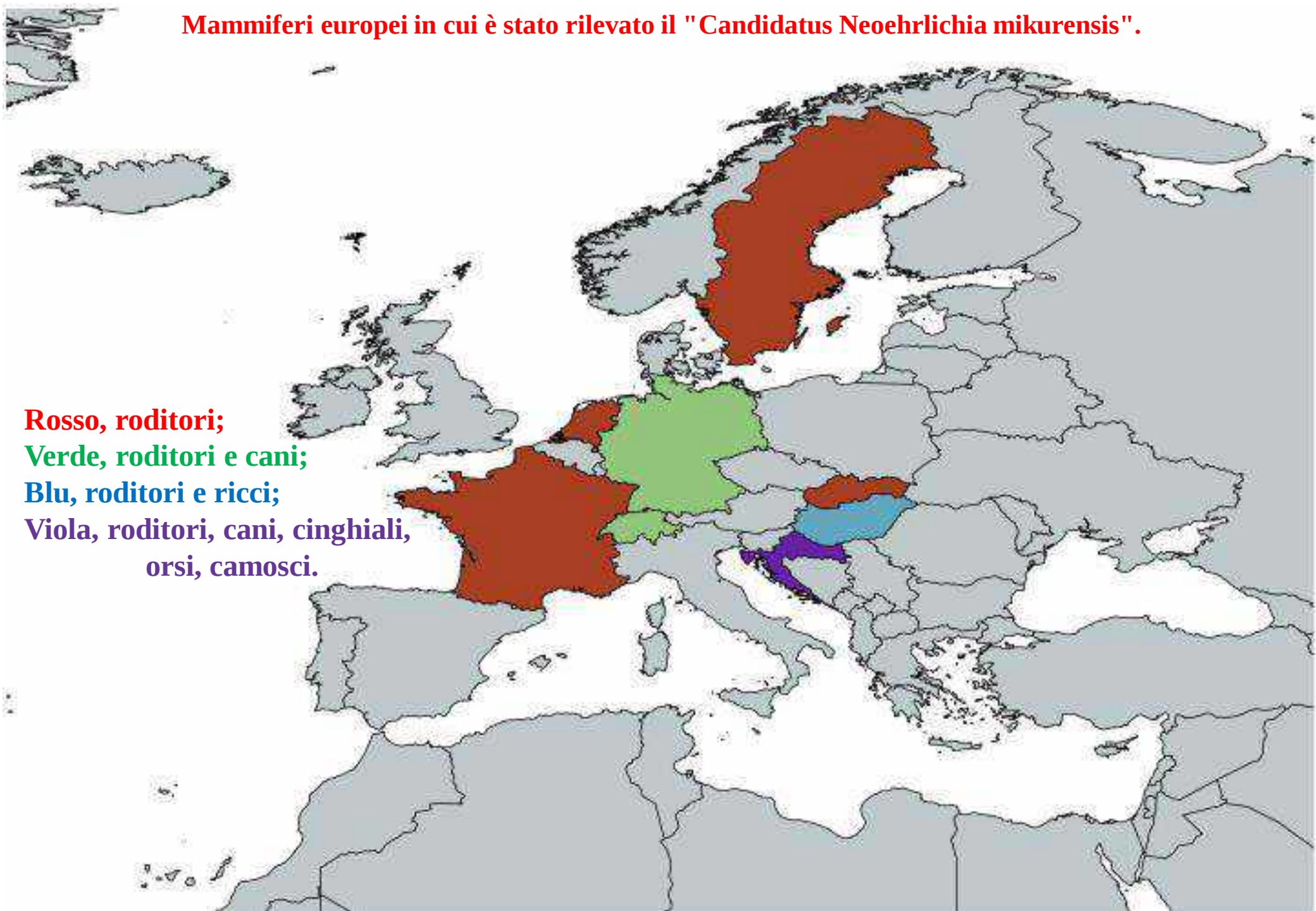
**Mammiferi europei in cui è stato rilevato il "Candidatus Neoehrlichia mikurensis".**

**Rosso, roditori;**

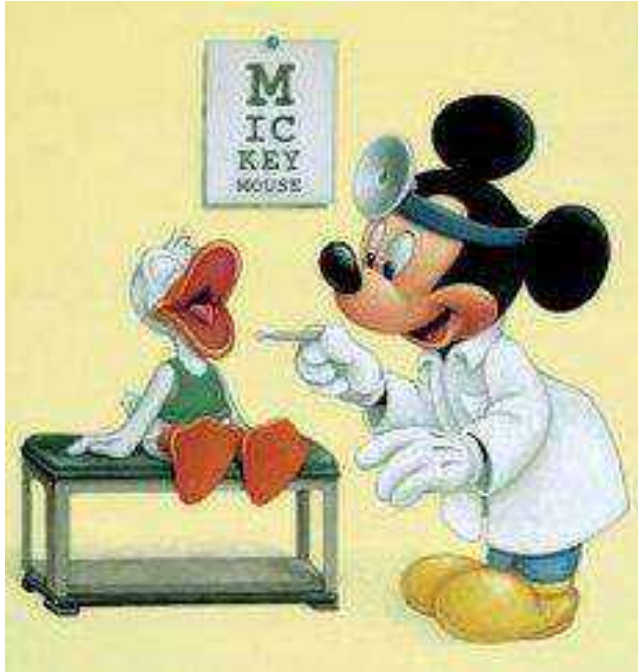
**Verde, roditori e cani;**

**Blu, roditori e ricci;**

**Viola, roditori, cani, cinghiali,  
orsi, camosci.**



# «CNM»: SINTOMI



Sono stati segnalati a tutto il 2017 ,18 casi da Paesi europei, più spesso in pazienti con condizioni immunocompromesse e/o associate a neoplasie ematologiche; in particolare:

- Tutti i pazienti avevano più di 54 anni (media, 64 anni).
- Il 72% erano uomini e il 28% erano donne.
- Condizioni di immunosoppressione erano presenti in 16 dei 18 pazienti;
- **La metà aveva una neoplasia ematologica;**
- **La metà dei pazienti era splenectomizzata;**
- **Il 78% (14/18) aveva ricevuto una terapia immunosoppressiva e 8/14 con Rituximab).**

# «CNM»: CLINICA

Nella Tabella si osservano le caratteristiche cliniche di 11 pazienti con infezione da «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*»

- **7 pazienti/11 avevano l'Erythema migrans;**
- 3 senza l'EM riferivano morso di zecca;
- 1 paziente aveva Ac anti-Borrelia burgdorferi;
- 1 apziente Ac anti-Anaplasma phagocytoèphilum
- Altri sintomi osservati:
- Cefalea
- Artralgia
- Mialgia
- Dolori alle gambe

| Country, no. infections/no. patients (prevalence) | Year    | Gender          | Age (years) | Medical condition (no. patients)                                          |
|---------------------------------------------------|---------|-----------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------|
| Poland, 5/316 (1.6%)                              | 2012    | 4 M, 1 F        | 44.1 (mean) | Asymptomatic, previously healthy (foresters with high risk of tick bites) |
| Norway, 7/70 (10%)                                | 2014–15 | 1.6F:1M (ratio) | 55 (mean)   | EM (7), fatigue (1)                                                       |
| Sweden, 2/102 (1.9%)                              | 2015    | F               | 68          | EM, tick bite, <i>Borrelia</i> -specific IgM and IgG antibodies           |
|                                                   |         | F               | 57          | EM, tick bite, <i>Anaplasma phagocytophilum</i> -specific IgG antibodies  |
| Netherlands, 7/626 (1.1%)                         | 2007–8  | F               | 63          | Tick bite, arthralgia                                                     |
|                                                   |         | M               | 79          | Tick bite                                                                 |
|                                                   |         | M               | 40          | EM                                                                        |
|                                                   |         | F               | 60          | EM                                                                        |
|                                                   |         | F               | 61          | EM, headache, myalgia, pain in limbs                                      |
|                                                   |         | M               | 48          | EM, tingling in limbs                                                     |
|                                                   |         | M               | 71          | Tick bite                                                                 |

## «CNM»: DIAGNOSI

- Attualmente non sono disponibili test sierologici specifici.
- Non sono segnalate reazioni crociate con altre anaplasmatacee, da poter utilizzare, sia pure in modo aspecifico
- Ad oggi, la *diagnosi di «CNM» si basa su Tecniche molecolari, in particolare sulla PCR e analisi sequenziale di rRNA 16S* (specifici pan-batterici, specifici per Anaplasmataceae e «CNM») e *geni groel*.
- Altre tecniche molecolari utilizzate sono l'analisi della sequenza multilocus e l'ibridazione con PCR-reverse line blot.
- Gli esami vengono effettuati su *prelievi di Sangue e/o di Midollo*.
- I casi segnalati sono progressivamente aumentati negli ultimi anni.

# «CNM»: TERAPIA

## Prima scelta:

- **Doxiciclina** 100 mg 2x/die per 21 giorni

## Seconda scelta:

- **Rifampicina** 300 mg 2x/die per 21 giorni

## Forme resistenti:

- **Rifampicina** 450 mg 2x/die associata a
- **+ Doxiciclina** 100 mg 2x/die per 21 giorni

Il tempo medio per la risoluzione dei sintomi era di 5 giorni.

In tutti i pazienti l'analisi PCR è risultata negativa dopo il trattamento.

# INFEZIONI TRASMESSE DA ZECCHIE *IXODES SPP*

- **VIRUS:** FLAVIVIRUS  
HANTAVIRUS
- **BATTERI:** BORRELIA  
RICKETTSIA SP  
ANAPLASMA  
BARTONELLA
- **PROTOZOI** BABESIA

# COINFEZIONI: BARTONELLA

- Bartonella sono **batteri intracellulari, gram-negativi** che possono indurre infezioni persistenti negli animali domestici e selvatici costituendone un serbatoio di Bartonella quale fonte di infezione umana.
- Diversi Bartonella spp. sono stati collegati a malattie umane emergenti e riemergenti
- La **Bartonellosi** è caratterizzata da una **prolungata batteriemia all'interno degli Eritrociti e/o delle Cellule endoteliali**, in diversa ospiti e reservoir.
- Questa capacità delle Bartonelle di risiedere e propagarsi negli eritrociti degli uomini (e degli animali), probabilmente forniscono ad esse un riparo, proteggendole dalle risposte immunitarie dell'ospite e dall'esposizione agli antibiotici.

# COINFEZIONI: BARTONELLA

- Bartonella spp. sono stati isolati da numerosi ospiti tra cui, gatti, cani, conigli, roditori, cavalli, bovini e altri animali selvatici: in particolare nei roditori (*Peromiscus leucopus* negli USA *Apodemus flavicollis* in Europa).
- La gravità delle manifestazioni cliniche è spesso correlata allo stato immunitario del paziente, sebbene altri fattori come la specie che infetta l'ospite, i fattori di virulenza e il carico batterico dovrebbero essere considerati come componenti nella gravità della malattia.
- Queste caratteristiche consentono **Bartonella spp. persistere nel sangue degli ospiti come infezione cronica e spiegare la gamma di manifestazioni cliniche.**

# COINFEZIONI: BARTONELLA

- La Bartonella può essere trasmessa non soltanto da vettori:
- *Ixodes sp*, sembra essere il principale tipo di zecca associato a questi batteri.
- La presenza di *Bartonella nelle zecche* è di circa il 15%.
- È stato documentato che Anticorpi anti-Bartonella possono essere rilevati nel 23,% dei forestali, nel 28% degli agricoltori.
- Il rischio di coinfezioni è direttamente correlato all'esposizione professionale e i più alti tassi d'infezione riguardavano *Bartonella sp* e *B. burgdorferi* sl.
- **Pazienti affetti da Malattia di Lyme**, il 15-33% era **sieropositivo a *Bartonella (Rochalimaea) henselae***.
- In alcuni pazienti con **Neuroborreliosi** è stata evidenziata la presenza di ***Borrelia burgdorferi* e di *Bartonella henselae***.

# INFEZIONI UMANE DA BARTONELLA

Le malattie causate da infezioni da Bartonella comprendono:

- **Malattia di Carrion,**
- **Malattia da graffio di gatto,**
- **Linfoadenopatia cronica,**
- **Febbre da trincea,**
- **Batteriemia cronica,**
- **Endocardite da coltura negativa,**
- **Angiomatosi bacillare,**
- **Peliosi (epatica) bacillare,**
- **Vasculite**
- **Uveite.**

**Table 1.** The known *Bartonella* species, their hosts, and their vectors. The table has been adapted from Breitschwerdt, 2017 <sup>5</sup>.

| Bartonella Species                       | Host (s)                     | Vector(s)                        |
|------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| <i>B. henselae</i>                       | Cat, human, dogs, horses     | Fleas, lice, ticks, spiders      |
| <i>B. quintana</i>                       | Humans, macaques, cats, dogs | Human body lice, fleas, bed bugs |
| <i>B. bacilliformis</i>                  | Humans                       | Sandflies, fleas                 |
| <i>B. koehlerae</i>                      | Cats, dogs, humans           | Fleas                            |
| <i>B. vinsonii</i> ssp. <i>berkhoffi</i> | Dogs, horses, foxes, humans  | Fleas, ticks                     |
| <i>B. bovis</i>                          | Cattle, cats, dogs, human    | Biting flies, ticks              |
| <i>B. clarridgeiae</i>                   | Cats, dogs                   | Fleas, ticks                     |
| <i>B. rattimassiliensis</i>              | Rats                         | Fleas                            |
| <i>B. tamiiae</i>                        | Rats, humans                 | Mites                            |
| <i>B. tribocorum</i>                     | Rats                         | Fleas                            |
| <i>B. rousetii</i>                       | Bats                         | Bat flies                        |
| <i>B. schoenbuchensis</i>                | Cattle                       | Biting flies, ticks              |
| <i>B. chomelii</i>                       | Cattle                       | Biting flies, ticks              |
| <i>B. doshiae</i>                        | Rats, humans                 | Fleas                            |
| <i>B. grahamii</i>                       | Mice, humans                 | Fleas                            |
| <i>B. birtlesii</i>                      | Mice                         | Fleas                            |
| <i>B. mayotimonensis</i>                 | Bats, humans                 | Bat flies, fleas, ticks          |
| <i>B. elizabethae</i>                    | Rats, humans, dogs           | Fleas                            |
| <i>B. washoensis</i>                     | Dogs, humans                 | Fleas, ticks                     |
| <i>B. rochalimae</i>                     | Dogs, humans                 | Fleas, ticks                     |
| <i>B. vinsonii</i> ssp. <i>arupensis</i> | Dogs, humans                 | Fleas, ticks                     |
| <i>B. melophagi</i>                      | Sheep, humans                | Sheep keds                       |
| <i>B. alsatica</i>                       | Rabbits, humans              | Fleas, ticks                     |

# COINFEZIONI: BARTONELLA

## Bartonelle che danno infezione nell'uomo

- *Bartonella henselae*
- *Bartonella quintana*
- *Bartonella bacilliformis*
- *Bartonella koehlerae*
- *Bartonella berkhoffii*
- *Bartonella bovis*
- *Bartonella tamiae*
- *Bartonella doshiae*
- *Bartonella grahamii*
- *Bartonella mayotimonensis*
- *Bartonella washoensis*
- *Bartonella vinsoni* spp. *arupensis*
- *Bartonella melophagi*
- *Bartonella alsatica*

La Bartonella può essere trasmessa da diverse specie di zecche:

**Bartonelle trasmesse dalla zecca *Ixodes* nell'uomo, quali coinfezione della Malattia di Lyme.**

- *Bartonella henselae*,
- *Bartonella clarridgeiae*,
- *Bartonella birtlesii*.

# BARTONELLA: CRESCITA BATTERICA

- La **CRESCITA BATTERICA** è la riproduzione asessuata, o divisione cellulare, di un batterio in due cellule, in un processo chiamato scissione binaria.
- Se non si verifica alcun evento mutazionale, i batteri figli sono geneticamente identici a quelli originali.
- Non tutti i Batteri originati dalla divisione sopravvivono; se il numero che sopravvive supera in media l'unità, la popolazione batterica subisce una crescita esponenziale.

Possiamo avere una:

## *Logarithmic phase*

È il periodo di crescita di una popolazione di un microrganismo in un mezzo di coltura durante il quale i numeri aumentano esponenzialmente ed è rappresentato da una parte della curva di crescita che è un segmento lineare se il logaritmo dei numeri è tracciato rispetto al tempo.

## *Stationary phase*

Deriva da una situazione in cui il tasso di crescita e il tasso di mortalità sono uguali. Il numero di nuove Bartonelle create è limitato e il tasso di crescita corrisponde al tasso di morte cellulare. Le mutazioni possono verificarsi durante la fase stazionaria. Il danno al DNA è responsabile di molte delle mutazioni che si verificano nei genomi di fase stazionaria, e può rendere conto di una modificazione di sensibilità agli antibiotici.

# BARTONELLA: CLINICA

La gravità dell'infezione da Bartonella è correlata allo stato immunitario del paziente.

Le manifestazioni cliniche possono variare da forme benigne e auto limitate a forme gravi e potenzialmente letali.

Condizioni cliniche associate a Bartonella spp. Includono:

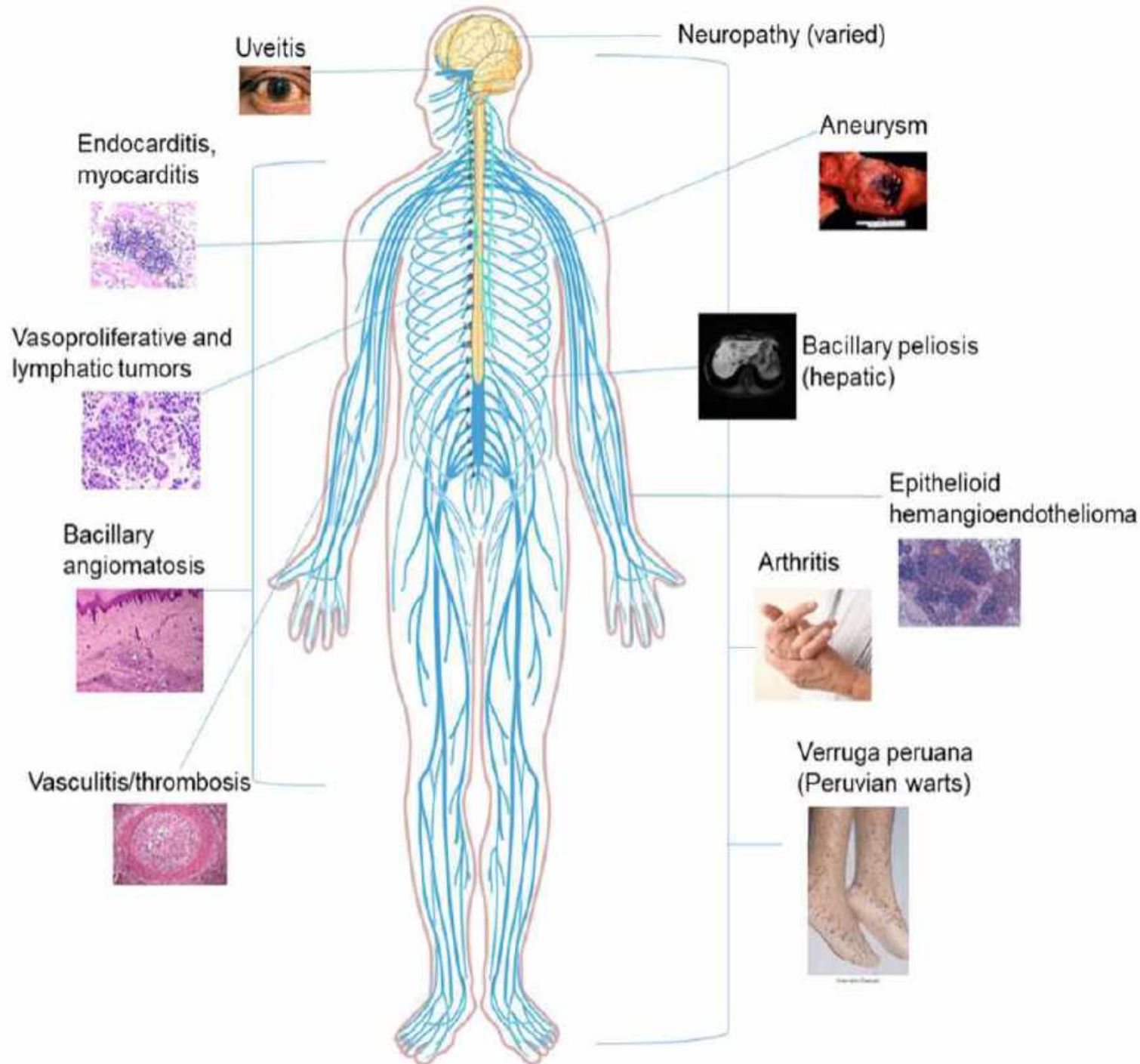
- **Linfoadenopatia consensuale,**
- **Febbre,**
- **Batteriemia e Colonizzazione nei tessuti** con:
  - *Endocardite;*
  - *Ascessualizzazioni sottocutanee;*
  - *Angiomatosi bacillare;*
  - *Vasculite;*
  - *Neuroretinite*
  - *Peliosi epatica.*

Senza trattamento, l'infezione da Bartonella può essere fatale.

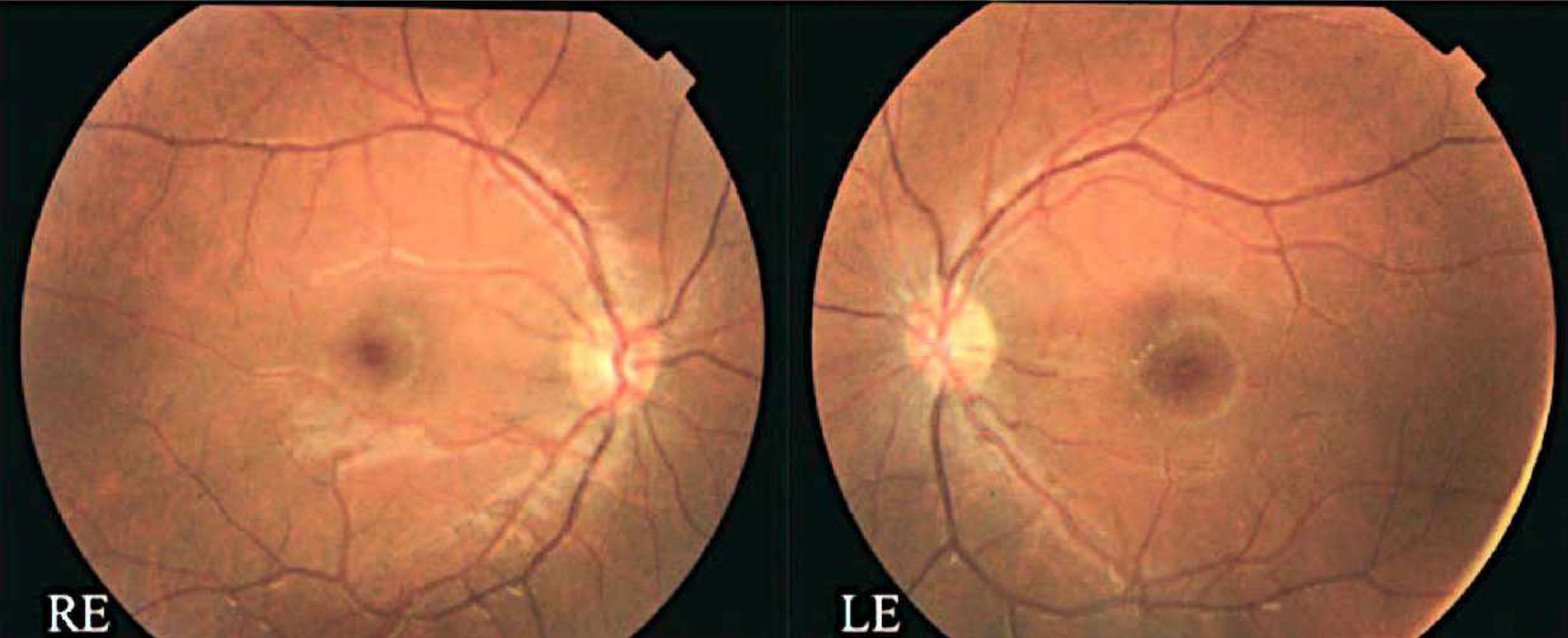
Il trattamento è efficace -analagolmente alla Borreliosi di Lyme- nelle forme recenti.

Nelle forme persistenti in «Fase stazionaria», il trattamento è più complesso.

# **MANIFESTAZIONI CLINICHE DELLA BARTONELLOSI NELL'UOMO**



# BARTONELLA: Neuroretinite



*Fotografie a colori del fondo alla terza settimana di trattamento. Fotografia del normale occhio destro (RE) per il confronto. Il gonfiore del disco ottico scomparve e la risoluzione del pattern maculare stellato viene osservata nell'occhio sinistro (LE).*

# BARTONELLA: TEST INDIRECTI

## Test di Immuno-Fluorescence Indiretta (IFA)

- Ranges positivi: IgM > 1:16, IgG > 1:64).
- Questo Test di immunofluorescenza (IFA) viene utilizzato per rilevare gli anticorpi anti *Bartonella henselae* nel siero umano.
- I titoli aumentano durante le prime due-quattro settimane di malattia e diminuiscono nei successivi sei-dodici mesi.
- Nei pazienti con titoli precedentemente alti, la presenza di un solo titolo di IgG inferiore a 128 può indicare un'infezione in fase di guarigione.
- Se l'IFA è negativo, ma i sintomi clinici sono presenti, viene suggerito il test di PCR.
- **Western Blot** Bartonella IgM e IgG rileva anticorpi IgM e IgG verso antigeni sierici di *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae* e *B. vinsonii* del paziente con sospetta infezione da Bartonella.



# BARTONELLA: TEST DIRETTI

**Test di Polymerase Chain Reaction (PCR) per *Bartonella henselae*** rileva il DNA specifico

di *B. henselae* nel sangue intero e/o nel liquido cerebro-spinale (CSF).

- L'analisi della sequenza dell'amplificazione PCR. Specie e ceppi di batteri sono stati definiti confrontando le somiglianze con altre sequenze depositate nel database GenBank.
- I primer e le sonde utilizzate per la selezione dei frammenti di DNA di *B. henselae* sono stati progettati partendo da piccole sequenze di RNA ribosomiale.
- L'analisi della sequenza dell'amplificazione PCR. Specie e ceppi di batteri sono stati definiti confrontando le somiglianze con altre sequenze depositate nel database GenBank

| Oligonucleotide | Type             | Sequence (5'-3')                            |
|-----------------|------------------|---------------------------------------------|
| BsppITS325s     | Sense primer     | CCTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCG              |
| BsppITS543as    | Antisense primer | AATTGGTGGGCCTGGGAGGACTTG                    |
| BsppITS1100as   | Antisense primer | GAACCGACGACCCCCTGCTTGCAAAGCA                |
| BsppITS438      | Taqman probe     | FAM-AGGTTTTTCC/ZEN/GGTTTATCCCGGAGGGC-IABkFQ |
| Bkoehl-1s       | Sense primer     | CTTCTAAAATATCGCTTCTIAAAAATTGGCATGC          |
| Bkoehl1125as    | Antisense primer | GCCTTTTTTGGTGACAAGCACTTTTCTTAAG             |

## Esame Culturale

- *Bartonella henselae* è stato coltivato in **Terreno di Schneider** integrato con siero bovino fetale al 10% (FBS).

# BARTONELLA: TERAPIA

Possiamo distinguere una:  
**Logarithmic Phase (Log Phase)**  
**Stationary Phase (Infezioni persistenti)**

## Logarithmic Phase

- La **Rifampicina**, è l'agente più efficace nell'inibire la crescita di *B. henselae* con la MIC più bassa;
- La Gentamicina, la streptomicina, l'azitromicina, le tetracicline, che sono clinicamente utilizzate per il trattamento delle infezioni da Bartonella, sono pure molto efficaci.
- La **Doxiciclina** e la **Claritromicina** sono gli antibiotici più frequentemente usati per il trattamento dell'infezione da Bartonella nell'uomo; sono efficaci nella fase iniziale, ma diventano poco attivi nelle forme persistenti.

# BARTONELLA: TERAPIA

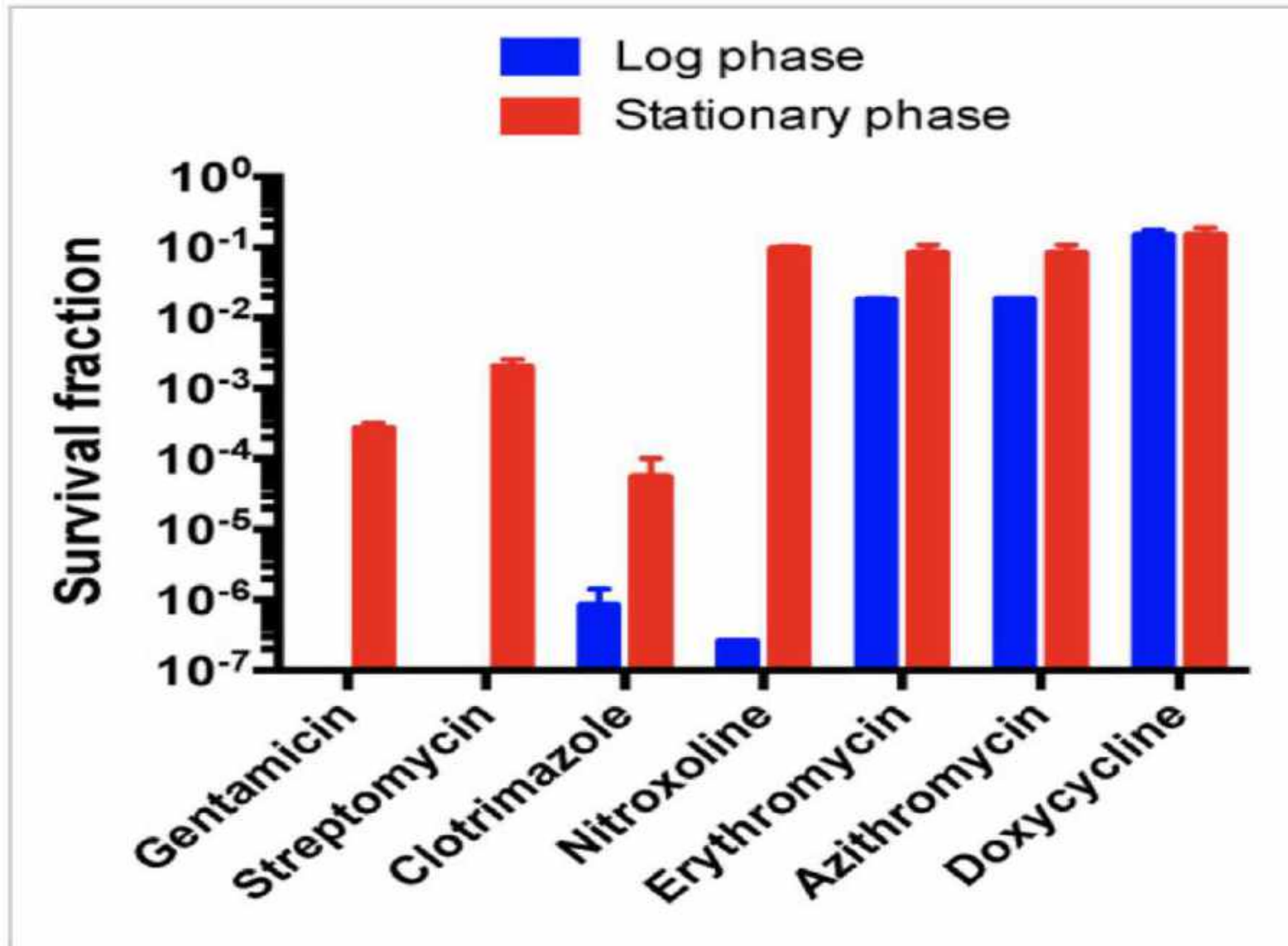
- **Stationary Phase (Infezioni persistenti)**

- Si può osservare sia per la *Bartonella henselae*, che per la *Borrelia burgdorferi* sl, utilizzando il saggio di vitalità SYBR Green / PI per gli screening farmacologici rapidi ad alto throughput per la stationary phase di *Borrelia burgdorferi* sl, che si è dimostrato un buon modello surrogato di batteri persistenti.
- Esistono discrepanze sull'efficacia degli antibiotici tra test in vitro basati su dati MIC e dati clinici in pazienti con infezioni da Bartonella. Questo può essere dovuto all'esistenza di aggregati batterici e di Biofilm, che sono stati trovati nelle colture in fase stazionaria.
- *Questo stesso concetto è applicabile anche alla Borreliosi di Lyme.*

## *Farmaci o combinazione di farmaci efficaci nella fase stazionaria*

- **Daptomicina** aveva un'eccellente attività contro la fase stazionaria B. henselae, sebbene avesse un MIC elevato (12,5-25 µg / mL) contro gli organismi in crescita. È interessante notare che la potente azione battericida della Daptomicina è stata osservata anche nel trattamento farmacologico della spirocheta *Borrelia burgdorferi* in studi precedenti. L'elevata attività della Daptomicina nei confronti sia di *Borrelia* che di *Bartonella* la indica come promettente candidato nel trattamento delle infezioni persistenti da *Borrelia* e da *Bartonella*, che clinicamente possono essere presenti come coinfezioni.
- **Pyriminium Pamoate** (PP), ma è poco assorbito e dà scarsa biodisponibilità.
- **Blù di Metilene** ha mostrato una grande attività contro *Bartonella henselae*. Ha una buona attività contro la fase stazionaria di *Borrelia burgdorferi*.

# BARTONELLA: TERAPIA



# BARTONELLA: TERAPIA

- La **Daptomicina** è un antibiotico ciclico lipopeptidico con un ampio spettro di attività contro i batteri Gram-positivi ed è stato usato per trattare infezioni gravi causate da ceppi resistenti agli antibiotici. Ha attività battericida calcio-dipendente creando pori sulle membrane cellulari batteriche, rilascio di potassio, morte cellulare. È noto che la Daptomicina non ha attività contro i batteri Gram-negativi a causa dei fosfolipidi meno anionici nella membrana citoplasmatica Gram-negativa rispetto ai batteri Gram-positivi.
- **Pyrrvinium Pamoate (PP)** è un colorante di cianina derivato dalla chinolina. È un farmaco antelmintico relativamente non tossico, approvato dalla FDA, venduto senza ricetta in paesi come la Svezia, la Norvegia e la Danimarca usati per trattare gli ossiuri negli esseri umani e negli animali. Il PP ha una buona attività contro la fase stazionaria *Bartonella henselae*. È sicuro assumerlo per os ma ha uno scarso assorbimento e si diffonde poco nel plasma e nelle urine a causa della scarsa biodisponibilità, e questa è una limitazione per l'impiego nell'uomo. Tentativi di modifica strutturale dovrebbero essere presi per migliorare la biodisponibilità del PP, che potrebbe renderlo un agente potenzialmente utile per il targeting delle infezioni da Bartonella a causa della sua elevata attività contro la forma in crescita e non in crescita dell'organismo.
- Il **Blù di Metilene** è un colorante e un farmaco, che è stato usato come agente antimalarico e ha ricevuto una rinnovata attenzione nella gestione di altre malattie, come le infezioni del tratto urinario (UTI) e la metaemoglobinemia; ha un effetto antimicotico attraverso il suo effetto sulla membrana, la quale è un bersaglio di farmaci contro le forme infettive persistenti.

# INFEZIONI TRASMESSE DA ZECCHIE *IXODES SPP*

- **VIRUS:**           **FLAVIVIRUS**  
                          **HANTAVIRUS**
- **BATTERI:**       **BORRELIA**  
                          **RICKETTSIA SP**  
                          **ANAPLASMA**  
                          **BARTONELLA**
- **PROTOZOI** **BABESIA**



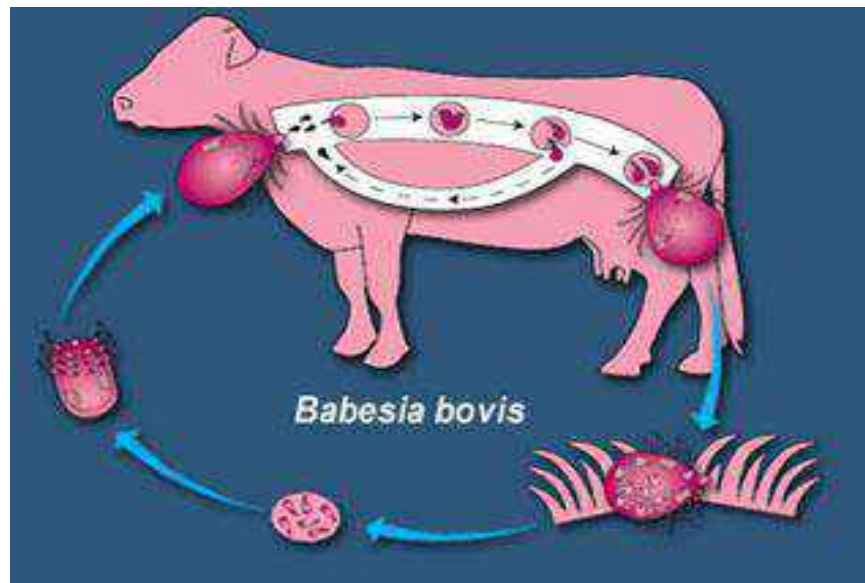
# BABESIOSI: CENNI STORICI

- Si ritiene che la babesiosi possa aver portato problemi agli esseri umani sin dalla preistoria attraverso l'infezione degli animali da allevamento.
- Il genere *Babesia* venne formalmente identificato nel 1888 ad opera di Victor Babes che stava studiando la causa della emoglobinuria febbrile nella mucca. Poco tempo dopo si scoprì che le zecche funzionavano da vettori per la trasmissione di *Babesia bigemina*.
- Altre modalità di trasmissione della babesiosi comprendono le **trasfusioni** sia di sangue intero che di emocomponenti (come eritrociti o piastrine), in cui pare che il parassita possa sopravvivere fino a tre settimane anche se congelato.



# BABESIOSI: IL PRIMO CASO

Il primo caso di babesiosi umana descritto risale al 1957 nella ex Jugoslavia. Si trattò d'un agricoltore splenectomizzato che venne a morte, a causa d'una insufficienza renale dopo un quadro clinico grave con presenza d'anemia, emoglobinuria e febbre, per un'infezione da *Babesia bovis*.<sup>[LSEP]</sup>



# BABESIOSI

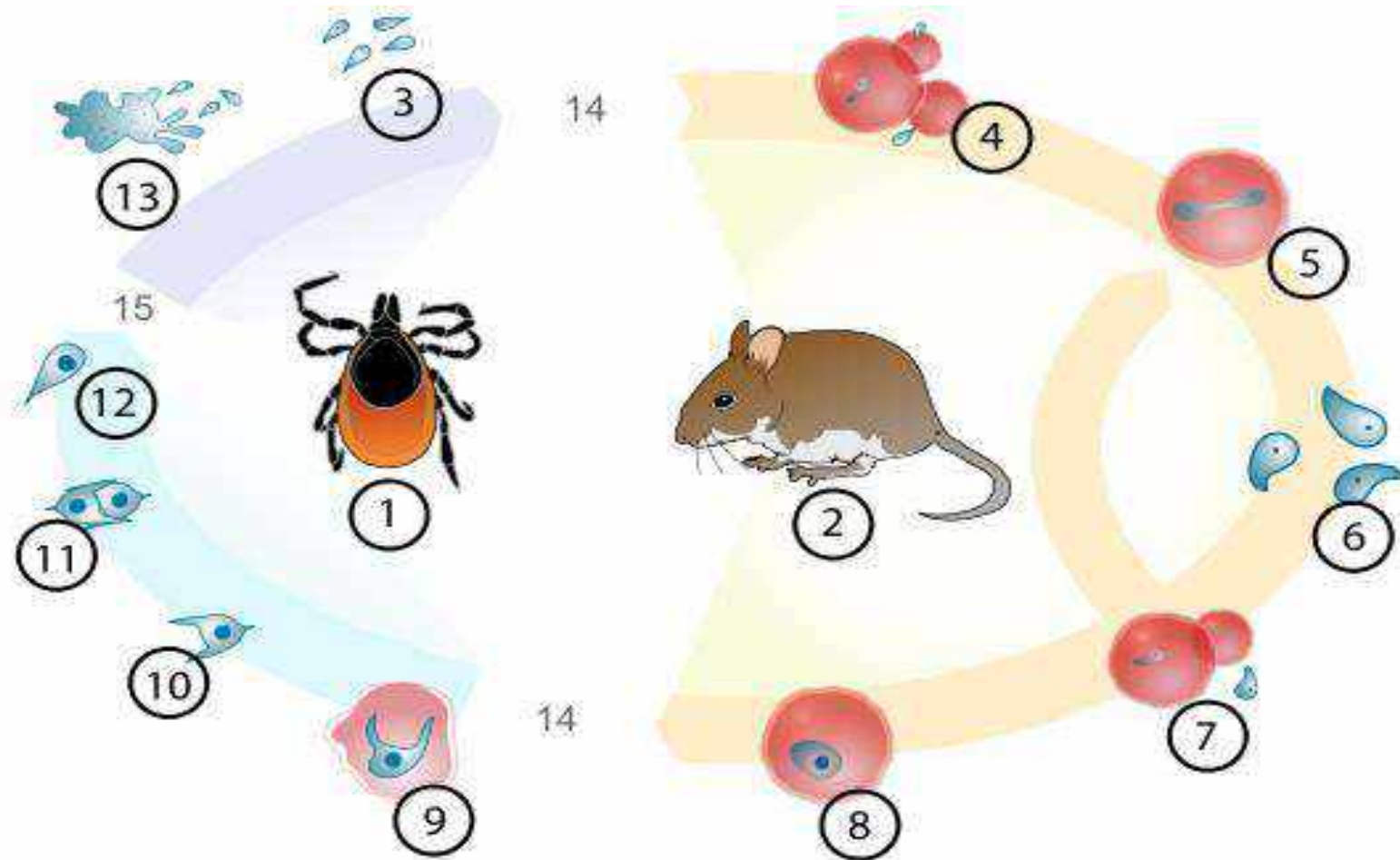
- Il genere *Babesia* appartiene al phylum degli **Apicomplexa**, che comprende altri patogeni di grande importanza per l'uomo e per gli animali (*Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Eimeria*, *Cryptosporidium*)
- Gli Apicomplexa (Sporozoa), dell'ordine dei Piroplasmida e sono comunemente indicati con il nome di spiroplasmi per la loro forma.
- Sono organismi eucariotici unicellulari (protozoi) ed hanno in comune il cosiddetto complesso apicale, un insieme di organelli e di strutture del citoscheletro che sono strettamente coinvolti nelle fasi di invasione delle cellule dell'ospite.



# BABESIOSI

- La babesiosi umana è una zoonosi trasmessa da un animale infetto per mezzo di una zecca del genere Ixodes che funge da vettore;
- Le zecche si infettano ingerendo i parassiti intraeritrocitari, ed è ampiamente diffusa nel mondo.
- Ne esistono numerose specie, circa un centinaio. L'uomo può essere infettato da *Babesia microti* (WA-1), da *Babesia divergens* (CA-1 ed MO-1) e da *B. venatorum* (EU1-3).
- Nella nostra Regione è stata identificata *Babesia divergens* e *Babesia venatorum* EU-2.
- Nel Centro a Trieste abbiamo osservato alcuni casi di Babesiasi, sempre associati a Borreliosi, che avevano avuto più ricoveri per sospetta Malaria.

# *Babesia spp*: il Ciclo Vitale



# EPIDEMIOLOGIA

- Il ciclo vitale coinvolge un vettore (zecche appartenenti al genere *Ixodes*) e un ospite vertebrato. L'uomo è un ospite occasionale e l'infezione è trasmessa dal morso di zecca, che è la modalità più rilevante, attraverso trasfusioni di sangue, mentre la Trasmissione congenita è molto rara ma possibile: 9 casi accertati in zone endemiche degli USA.



- In Europa sono stati descritti circa trenta casi causati, il più delle volte, da *Babesia divergens* (Altri casi sono stati attribuiti, o tramite un'indagine morfologica o per mezzo delle caratteristiche antigeniche, a *Babesia canis*, *Babesia microti* od ad altre specie non riconosciute con certezza.
- La mortalità, risulta essere abbastanza elevata, specie in soggetti immunocompromessi, anziani o sottoposti a splenectomia.

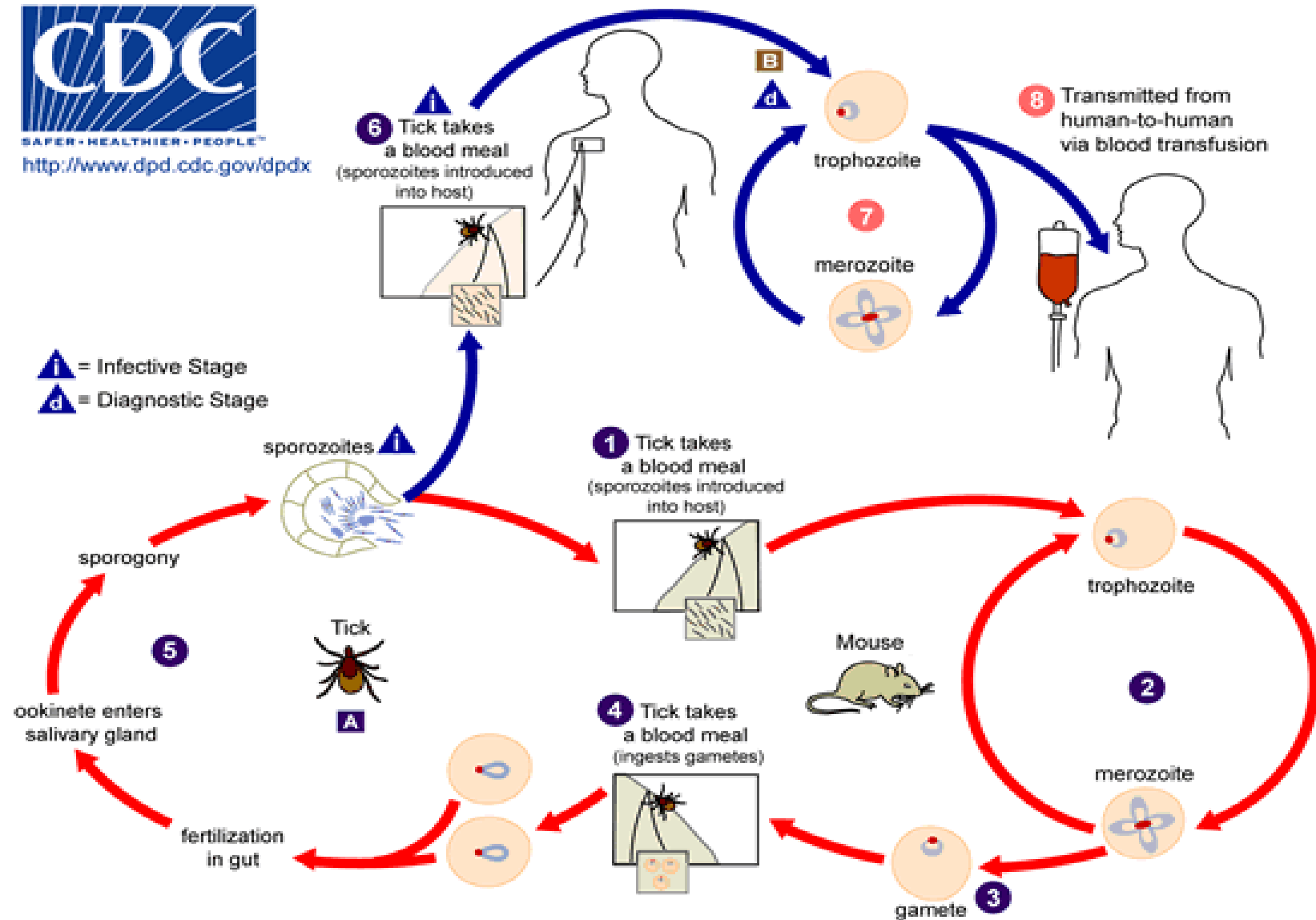
# RESERVOIRS: CERVI E RODITORI

- Molti dei casi si sono verificati in Francia o sulle isole della Gran Bretagna ma si ritiene che la distribuzione sia sottostimata.<sup>[1][2][3][4][5][6][7][8][9][10][11][12][13][14][15][16][17][18][19][20][21][22][23][24][25][26][27][28][29][30][31][32][33][34][35][36][37][38][39][40][41][42][43][44][45][46][47][48][49][50][51][52][53][54][55][56][57][58][59][60][61][62][63][64][65][66][67][68][69][70][71][72][73][74][75][76][77][78][79][80][81][82][83][84][85][86][87][88][89][90][91][92][93][94][95][96][97][98][99][100]</sup>Recentemente, per mezzo delle metodiche di biologia molecolare è stato caratterizzato un ceppo, denominato EU1 (da European union 1) responsabile di due casi, rispettivamente in Italia e Francia, la cui comparazione con altre sequenze ha indicato delle analogie con Babesia odocoilei che parassita i cervi.
- Negli Stati Uniti d'America la babesiosi umana è causata soprattutto, da ***Babesia microti***, che venne identificata in Peromyscus leucopus negli anni 1930. Solamente nel 1976, comunque, Peromyscus leucopus venne riconosciuto come reservoir.
- La Babesiosi era considerata negli Stati Uniti d'America fino agli anni 60, una patologia comune in molti animali senza diretto interesse per l'uomo, epoca in cui vennero riportati casi d'infestazione in persone dell'isola di Nantucket. **Da allora la Babesiosi umana, nelle aree del Nord-Est degli USA, sta diventando una patologia relativamente comune con centinaia di casi descritti.**



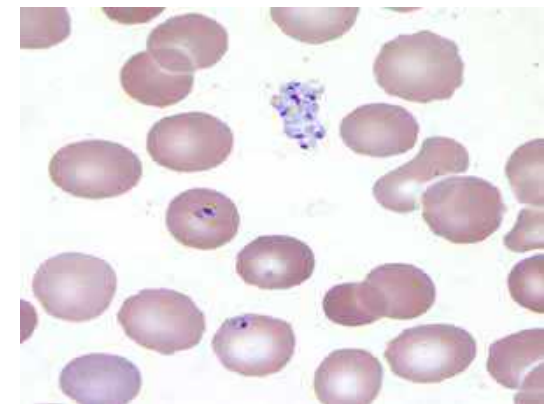


<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



# BABESIOSI & IMMUNOLOGIA

- La risposta umorale all'infezione da *Babesia*, rispetto a quella cellulare viene considerata di minore importanza.
- Un elemento di grande importanza nella difesa dalla *Babesiosi* è la milza, forse per la massiccia presenza di linfociti T e B, linfociti NK e macrofagi
- I *linfociti T* sembrano essere un elemento critico nella resistenza alla babesiosi.
- Il trasferimento di linfociti T da un soggetto immune è sufficiente per conferire uno stato di immunità contro *Babesia microti* ad un topo non immune.



# CLINICA

- La sintomatologia è causata dalla lisi dei globuli rossi a seguito della riproduzione asessuata con formazione dei **MEROZOITI** ed, in genere, inizia a svilupparsi a distanza di 1-6 settimane dal morso della zecca e può essere altamente variabile.
- Il decorso è simile alla malaria, con comparsa di episodi di febbre elevata ( $40^{\circ}$  C), della durata di un paio di giorni malessere, spossatezza ed anemia, mialgia.
- L'anemia emolitica può durare da qualche giorno ad alcuni mesi nei casi più gravi, che tendono a verificarsi più frequentemente negli anziani e negli splenectomizzati.
- L'infezione è clinicamente rilevante in pazienti immunocompromessi, splenectomizzati e quando coesiste un'infezione per *Borrelia*.<sup>[1][SEP]</sup>



# DIAGNOSI: TEST INDIRETTI



- Le metodiche sierologiche (per *Babesia microti*) si basano sul test di ricerca anticorpale tramite immunofluorescenza indiretta (IFI), per *Babesia microti*.
- La presenza di IgM è correlata con infezioni recenti, almeno per *B. microti*, mentre le IgG si rivelano sia in casi acuti che cronici. Nel caso di *B. divergens* / *B. venatorum* vi è cross-reazione antigenica.
- **Titoli di 1:128 o a diluizioni più elevate** hanno un elevato valore diagnostico, e rimangono positivi per un lungo periodo dopo la fase acuta.

# DIAGNOSI DIRETTA DI 1° LIVELLO

➡ Diagnosticare la babesiasi è difficile.

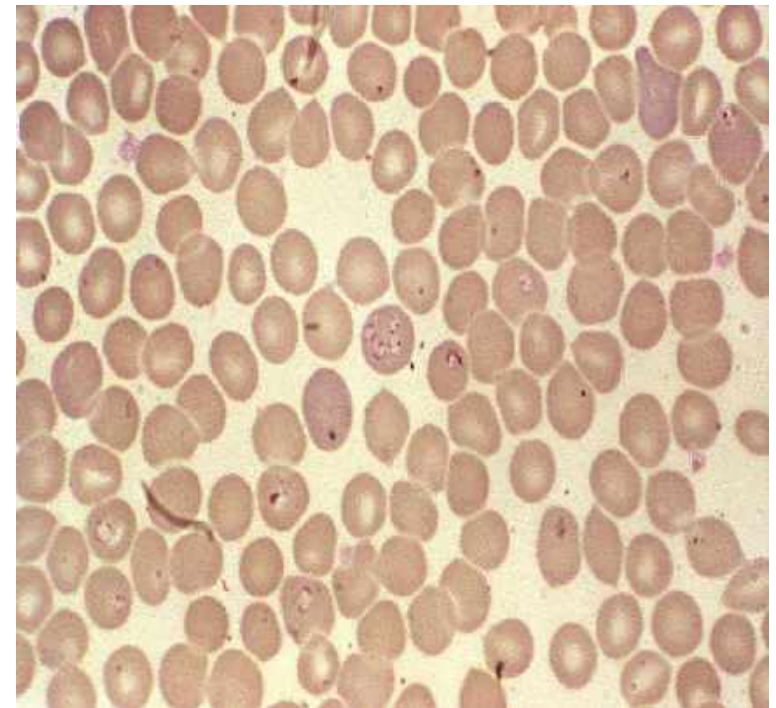
Positività al vetrino è il Gold standard)

➡ La diagnosi della malattia in questione viene effettuata tramite osservazione di sangue periferico al microscopio dopo colorazione con Giemsa.

➡ Si possono notare, in tal caso, delle forme vagamente ad anello (**Merozoiti**), simili a quelle del Plasmodium falciparum, con nuclei periferici ben colorati.

➡ Può essere confuso con la malaria!

➡ I parassiti risultano individuabili su sangue periferico per un tempo che va dalle 3 settimane alle 12.



## DIAGNOSI DIRETTA DI 2° LIVELLO

- PCR del gene per il 18S rDNA (DNA ribosomale)
- **PCR** su sangue con *Bab1*, *Bab2*, *Bab3*, *Bab4*.
- **Cultura**: Inoculazione di sangue del paziente in animali di laboratorio. Sangue in EDTA viene inoculato per via intraperitoneale nel Criceto: l'infezione viene quindi riconosciuta con uno striscio di sangue del criceto colorato con Wright.

# TERAPIA

- Il trattamento classico utilizza una combinazione di **Clindamicina** iv + **Chinino** per bocca per circa una settimana.
- Terapia di prima scelta è anche l'associazione **Azitromicina** + **Atovaquone**
- Sono efficaci l'**Azitromicina** + **Clorochina**, trattamento che copre anche l'infezione borreliotica per l'attività lisosomotropa della Clorochina (o OH-Clorochina), che potenzia l'efficacia dell'Azitromicina su Borrelia.
- L'infezione da **Babesia** può prefigurarsi come un'emergenza medica e

# BABESIOSI POSSIBILE EMERGENZA



- In Europa i dati sono ancora insufficienti, mentre negli Stati Uniti vi è una crescente importanza della malattia per la medicina trasfusionale.
- *Da considerare che i Parassiti possono persistere negli Eritrociti per mesi o per anni, anche in maniera clinicamente asintomatica, creando la possibilità di portatori sani, e costituendo un maggior rischio nelle donazioni di sangue.*
- Inoltre la babesiosi umana deve essere riconsiderata alla luce di un aumento del numero dei pazienti immunocompromessi. I sintomi clinici hanno un ampio range, dalle forme asintomatiche a quelle severe, fino a forme letali.

[Hildebrandt A](#)<sup>1</sup>, [Hunfeldt KP](#)<sup>2</sup>. [Human babesiosis - a rare but potentially dangerous zoonosis].  
[Dtsch Med Wochenschr.](#) 2014 May;139(18):957-62.

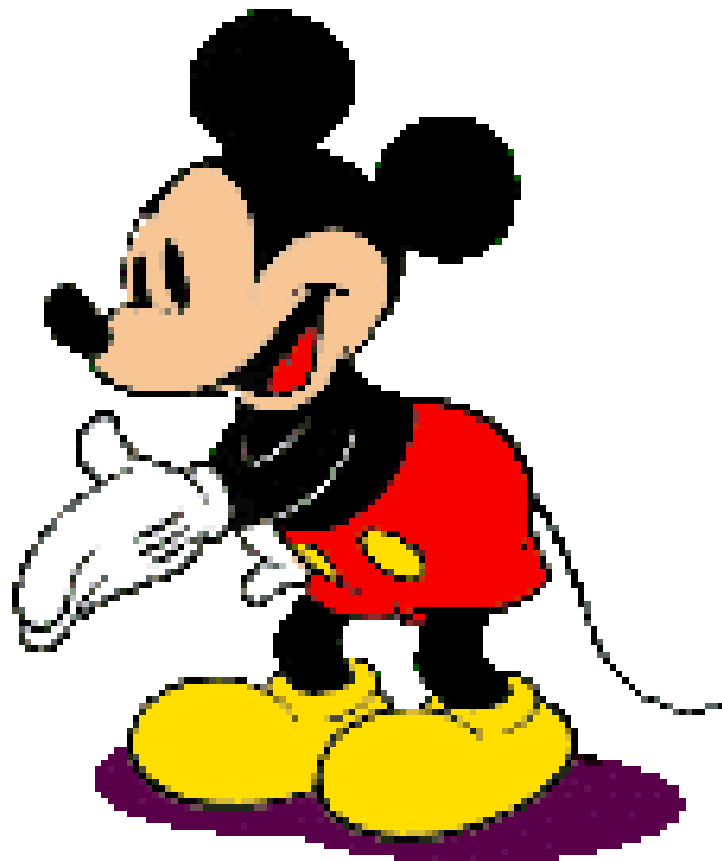
# BABESIOSI POSSIBILE EMERGENZA



- Non vi sono test di screening per la Babesiosi approvati per i donatori di sangue.
- In uno studio di *Leiby et al*, si sono valutati i marcatori e il corso dell'infezione da Babesia tra i donatori di sangue positivi all'infezione, per poter trovare un valido test di screening.
- Risultati: I donatori di sangue sieropositivi per Babesia possono avere bassi valori protratti di parassitemia, che sono riscontrati in modo variabile ed intermittente dalle metodiche parassitologiche e molecolari.
- Importante perciò che l'algoritmo di screening del donatore includa anche test sierologici e non solo molecolari o parassitologici.

[Leiby DA](#)<sup>1</sup>, [Johnson ST](#), [Won KY](#), [Nace EK](#), [Slemenda SB](#), [Pieniazek NJ](#), [Cable RG](#), [Herwaldt BL](#).  
longitudinal study of Babesia microti infection in seropositive blood donors. [Transfusion](#). 2014 Mar 28.

# GRAZIE PER



# L'ATTENZIONE





**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**

# RICKETTSIOSI

Le **Rickettsie** sono bacilli Gram negativi, lunghi 0.8-2  $\mu\text{m}$  e larghi 0.3-0.5  $\mu\text{m}$ . Crescono in associazione con le cellule eucaristiche, sono organismi intracellulari obbligati e richiedono la presenza di cellule dell'ospite per replicarsi. Distinguiamo tre sottogruppi:

- **Gruppo «Tifoide» (TG)**
- **Gruppo «Febbre bottonosa» «Spotted Fever Group» (SFG)**
- **Gruppo «Tick-Borne Lymphadenopathy» (TIBOLA)**  
(Monterde-Alvarez 2017) o **DEBONEL** (*Dermacentor*)
- **Gruppo del «Tifo delle Foreste» (STG),**  
causata da *Orientia* (ex *Rickettsia*) *tsutsugamushi*

# SPOTTED FEVER GROUP (SFG)

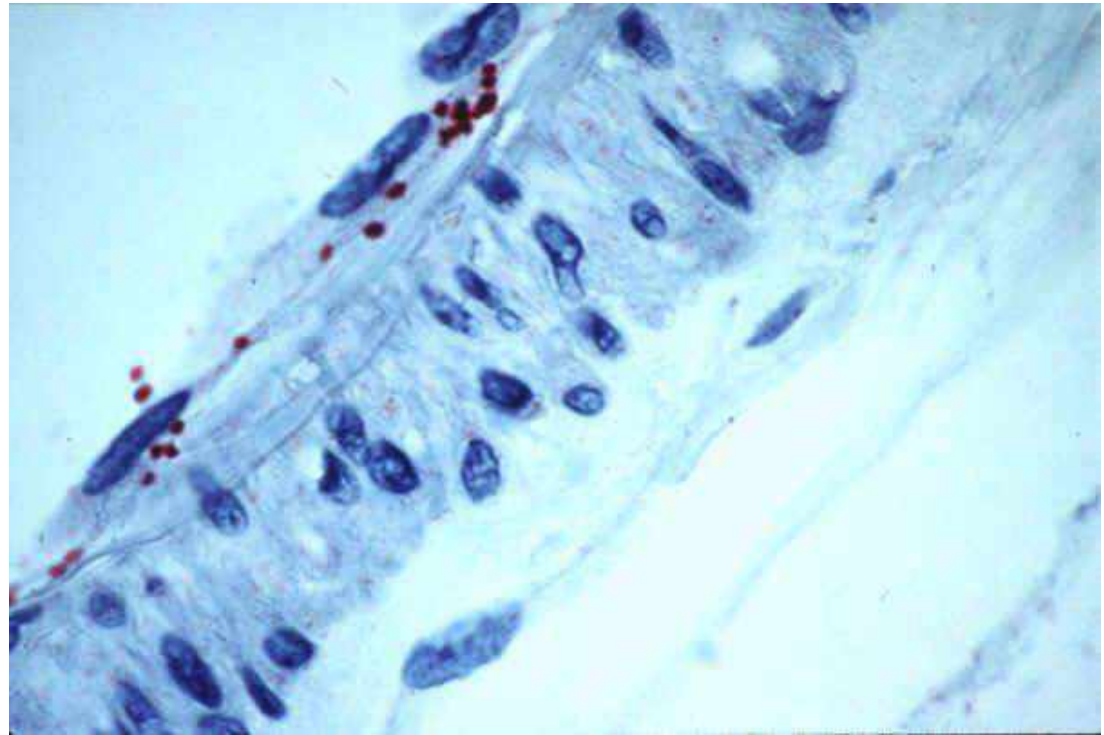


- Sono caratterizzate da una lesione in sede di morso di zecca, ad evoluzione necrotica (**Tâche noire**) seguita da sintomi generali, con febbre, dolori mialgici ed un'eruzione cutanea papulo petecchiale.

# RICKETTSIOSI nel Friuli-Venezia Giulia

Nella nostra regione è stata documentata la presenza di:

- *Rickettsia helvetica*  
(Basovizza, Borgo Grotta Gigante, Malchina)
- *Rickettsia monacensis*  
(Probabilmente non patogena per l'uomo. Basovizza, Padriciano)
- *Rickettsia limoniae*  
(Valbruna)



# *Rickettsia helvetica*

- L'infezione viene trasmessa dalla stessa zecca che trasmette la borreliosi di Lyme, *Ixodes ricinus*, zecca dalla quale è stata isolata la prima volta nel 1979, mentre nel 1999 sono stati segnalati in Svezia i due primi casi fatali, dovuti ad una perimicardite.
- Nel 2005 è stata documentata la presenza di questa *Rickettsia* nella nostra Regione (Marina Cinco).
- Nel 2009 Marinko Dobec et al. hanno identificato in Croazia la presenza di *Rickettsia helvetica* nella zecca *Dermacentor reticulatus*.

# *Rickettsia helvetica*

- L'epidemiologia e la distribuzione nell'uomo, di questa infezione è ancora poco nota.
- Appartiene alla «**Spotted Fever Group**»
- C'è la **Tâche noire**
- Si accompagna a **linfadenopatia consensuale** alla sede del morso della zecca infetta.
- Può associarsi alla Borreliosi di Lyme.



# *Rickettsia helvetica* in Italia

- ➡ Alcuni Casi sono stati individuati nel **bellunese**.
- ➡ È verosimile che anche nel F-VG si abbiano casi di infezione umana, causati da questa specie di *Rickettsia*, e che ne esistano anche delle forme lievi, che passano inosservate.
- ➡ La difficoltà nella conferma diagnostica è dovuta all'attuale mancanza dei relativi kit diagnostici, che non sono in commercio.

# *Rickettsia helvetica*: CLINICA

- Febbre
  - senza eruzione cutanea maculosa
- Cefalea
- Meningite sub-acuta (rara)
- Paralisi del Facciale
- Endocardite (rara)
- Mialgie



**DEBONEL GROUP**  
**NECROSI CENTRALE**  
**LINFOADENOPATIA CON LINFANGITE**  
*Rickettsia slovaca e R. raoultii*  
Trasmesse da *Dermacentor Marginatus*



# *Rickettsia helvetica*: Decorso Clinico

- La prognosi è di norma favorevole.
- Gli antibiotici di scelta sono le tetracicline, la doxiciclina o il cloramfenicolo, alle dosi impiegate per le altre rickettsiosi esantematiche.
- Sono attivi anche la ciprofloxacina e i macrolidi.
- La profilassi consiste nell'eliminazione dei topi e dei loro prassiti.



# *Rickettsia helvetica* & SARCOIDOSI

- *Rickettsia helvetica* potrebbe essere responsabile di alcuni casi di **Sarcoidosi**.
- Il granuloma sarcoidosico potrebbe avere il significato di una risposta immunologica verso questo batterio.

Nilsson K, Pahlson C, Lukinius A, Eriksson L, Nilsson L, Lindquist O.

**"Presence of *Rickettsia helvetica* in granulomatous tissue from patients with sarcoidosis".**

*J Infect Dis* 2002 Apr  
15;185(8):1128-38.

# *Rickettsia monacensis*

- ➡ L'epidemiologia e la distribuzione nell'uomo, di questa infezione è ancora poco nota.
- ➡ I primi casi sono stati segnalati in Spagna nel 2007
- ➡ Appartiene alla «**Spotted Fever Group**»
- ➡ C'è la **Tâche noire**
- ➡ Può associarsi alla Borreliosi di Lyme.

# *Rickettsia monacensis*

- ✦ Febbre fino a 40 °C
- ✦ Cefalea
- ✦ Astenia
- ✦ Artralgie
- ✦ Rash maculopapulare disseminato  
con Coinvolgimento palmo-plantare
- ✦ Piastrinopenia moderata

# TICK-BORNE LYMPHADENOPATHY

«Tick-Borne Lymphadenopathy»: Appartengono a questo gruppo:

- *Rickettsia slovaca*
- *Rickettsia raoultii*

Si distinguono due sottogruppi:

**TIBOLA** è il Gruppo (Monterde-Alvarez 2017) si osserva nella trasmissione da *Ixodes ricinus*. Clinicamente

- Si associa alla Borreliosi di Lyme
- *Linfoadenopatia consensuale*

**DEBONEL** si osserva nella trasmissione da *Dermacentor marginatus*. Clinicamente si ha

- Necrosi centrale nel punto del morso della zecca con escara (**Tâche noire**).
- *Linfoadenopatia consensuale*

# *Rickettsia* sp: DIAGNOSI INDIRETTA

- Viene prelevato un campione in fase acuta, il secondo in convalescenza.
- Ricerca anticorpi mediante **Micro-Immuno Fluorescenza (MIF)**, come indicato da Brouqui ed effettuato presso l'Unité des Rickettsies di Marsiglia. Antigeni non in commercio. Le reazioni sono spesso crociate con le altre Rickettsie SFG, e questo rende necessario ricorrere a reazioni supplementari di MIF e
- **Western Blot** per identificare la Rickettsia responsabile. Test effettuabile presso il Centro di Marsiglia.
- **Criterio di positività non ben definito.**

# *Rickettsia sp*: DIAGNOSI DIRETTA

- **Polymerase Chain Reaction (PCR)** su sangue intero (plasma). Lo screening viene effettuato con la porzione 341-bp della *gltA* e l'identificazione viene successivamente effettuata amplificando le porzioni 394-bp e 488-bp della 17Kdal e la *rOmpA*
- **Cultura cellulare** con temperatura ottimale a 32° C.

**Table 1.** Primers and conditions used for PCR and sequencing in this study

| Target genes | Primer       | Nucleotide sequences (5'- to -3') | Products size (bp) | PCR cond         |               |
|--------------|--------------|-----------------------------------|--------------------|------------------|---------------|
|              |              |                                   |                    | Denaturation(°C) | Annealing(°C) |
| <i>ompA</i>  | 190-70F      | ATGGCGAATATTTCTCCAAAA             | 645                | 94               | 50            |
|              | rOmpA642R    | ATTACCTATTGTTCGGTTAATGGCA         |                    | 30 s             | 30 s          |
|              | 190-3588F    | AACAGTGAATGTAGGAGCAG              | 1648               | 94               | 45            |
|              | 190-5238R    | ACTATTAAAGGCTAGGCTATT             |                    | 30 s             | 30 s          |
|              | rOmpARm4433R | GAATTTAAGGTTACTATACCTTC           |                    |                  |               |
|              | rOmpA1F      | GAATAACATTACAVGCGGAGGAAG          |                    |                  |               |
|              | 190-5044R    | AACTTGTAGCACCTGCCGT               |                    |                  |               |
|              | RhoA4336F    | AGTTCAAATGCAAATGACCGTA            |                    |                  |               |
| <i>gltA</i>  | RpCS.62p     | GCAAGTATCGGTGAGGATGTAN            |                    | 94               | 52            |
|              | RpCS.1258n   | ATTGCAAAAAGTACAGTGAACA            | 1197               | 30 s             | 30 s          |
|              | RpCS.877p    | GGGGACCTGCTCACGGCGG               |                    |                  |               |
|              | RpCS.746n    | GCTCATCCGGAGCTAACCCTN             |                    |                  |               |
| <i>ompB</i>  | RompBRm155F  | CGAGTTACCTTAGATTCTGT GTAA         |                    | 94               | 52            |
|              | RompBRm1766R | CTCCAATAGTACCGATACC               | 1846               | 30 s             | 30 s          |
|              | RompBRm845F  | GTTGGTACATTGGTACTACT              |                    |                  |               |
|              | RompBRm961R  | AAATTTGGTTTGTAATTGTA              |                    |                  |               |

**Rilevazione di geni  
16S rRNA,  
○ *gltA*  
○ *ompA*  
mediante  
amplificazione  
PCR di estratti di  
*Ixodes pacificus*  
nella Napa Valley,  
in California.**

