

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
Facoltà di Medicina Veterinaria
Dipartimento di Patologia animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria
SCUOLA DI DOTTORATO *in*
SANITA' E PRODUZIONI ANIMALI: SCIENZA, TECNOLOGIA E BIOTECNOLOGIE
Coord. Prof. Fulvio Gandolfi

BIOTECNOLOGIE APPLICATE ALLE SCIENZE VETERINARIE E ZOOTECNICHE
XXII CICLO
**“MALATTIE TRASMESSE DA ZECHE E RISCHIO PROFESSIONALE:
INDAGINE TRA LAVORATORI DEL COMPARTO AGRICOLO E
ZOOTECNICO”**

SETTORE DISCIPLINARE: VET05

Dott.ssa CHIARA SOMARUGA

Matricola R06941

Docente Guida: **PROF. LUIGI BONIZZI**

Anno Accademico 2009 - 2010

RIASSUNTO DELL'ATTIVITÀ SVOLTA	4
INTRODUZIONE	6
BORRELIA BURGDORFERI E MALATTIA DI LYME.....	9
L'AGENTE EZIOLOGICO	10
<i>Vettori.....</i>	<i>12</i>
<i>Ospiti vertebrati</i>	<i>13</i>
<i>Diffusione in Europa.....</i>	<i>15</i>
<i>Diffusione in Italia</i>	<i>17</i>
CENNI DI EPIDEMIOLOGIA	17
MALATTIA DI LYME E RISCHIO PROFESSIONALE	20
PATOGENESI E CLINICA DELLA MALATTIA DI LYME NELL'UOMO	21
<i>Immunità e autoimmunità</i>	<i>22</i>
<i>Diagnosi.....</i>	<i>25</i>
<i>Fenomeni di cross reattività e risultati falsi positivi</i>	<i>27</i>
SCOPO DEL LAVORO.....	28
MATERIALI E METODI	28
POPOLAZIONE ALLO STUDIO	28
RACCOLTA DEI DATI ANAMNESTICI.....	30
RACCOLTA DEI CAMPIONI	30
ANALISI DI LABORATORIO	30
ANALISI STATISTICA	33
RISULTATI	35
CARATTERISTICHE DEL CAMPIONE.....	35
PREGRESSO MORSO DI ZECCA (ULTIMI 5 ANNI)	37
SIEROPREVALENZA IGG ANTI BORRELIA BURGDORFERI	38
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	40
LIMITI DELLO STUDIO	41
BIBLIOGRAFIA.....	42
ALLEGATI	42
<i>ALLEGATO 1</i>	<i>55</i>
SCHEDA INFORMATIVA	55
CONSENSO ALLA PARTECIPAZIONE ALLO STUDIO	56

Riassunto dell'attività svolta

Il presente progetto di ricerca, iniziato nel Novembre 2006, si è posto come obiettivo la caratterizzazione del rischio biologico professionale conseguente all'esposizione a patogeni trasmessi da vettore per i lavoratori del comparto agricolo e zootecnico. Inizialmente, tale progetto era finalizzato alla valutazione del rischio unicamente per gli allevatori ovicaprini dediti a pascolo vagante.

Da Novembre 2006 a Luglio 2007 è stata condotta un'analisi della letteratura, focalizzata principalmente sulle tecniche diagnostiche e sull'epidemiologia della Borreliosi nell'uomo con particolare attenzione agli studi effettuati su alcune categorie di lavoratori. Nello stesso periodo si è provveduto a predisporre la modulistica necessaria alla raccolta delle informazioni (consenso informato e scheda anamnestica). Quindi sono stati stabiliti dei contatti con il servizio veterinario della ASL 14 del VCO, sede di Domodossola, per il reclutamento del campione dalle schede dell'anagrafe veterinaria della provincia del Verbano-Cusio Ossola. Da Novembre 2007 a Settembre 2008 sono stati svolti 13 sopralluoghi in allevamento in occasione delle campagne di vaccinazione e controllo effettuate dal servizio medico veterinario di Area A. In tali occasioni sono stati effettuati i prelievi venosi ai lavoratori ed è stata compilata la scheda anamnestica per la raccolta di informazioni principalmente relative a morsi di zecca, pregressa diagnosi di malattia da vettore. In tale occasione si sono anche raccolte informazioni necessarie per valutare la presenza di criteri di non ammissibilità allo studio, determinati in precedenza. Gli esami di laboratorio in questa prima fase sono stati effettuati presso il Laboratorio di Microbiologia del Dipartimento di Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano, sede di Lodi.

Dopo un'interruzione di un anno, l'attività è ripresa a Novembre 2009, con la parziale modifica dell'oggetto dello studio. Infatti, date le oggettive difficoltà incontrate nel reperimento dei campioni, si è deciso di ampliare la categoria di lavoratori indagati anche agli allevatori dediti ad allevamento intensivo in pianura, per i quali svolgo attività di Medico Competente nell'ambito di una convenzione tra Ospedale San Paolo e Confagricoltura. Si è deciso pertanto di estendere agli allevatori di pianura la determinazione sierologica degli anticorpi IgG verso *Borrelia* per valutare la presenza di un rischio professionale da *Borrelia*, anche alla luce delle contemporanee segnalazioni di casi di Malattia di Lyme nel Parco del Ticino.

I campioni in questa seconda fase sono stati analizzati presso il Laboratorio di sierologia dell'Ospedale San Paolo di Milano.

I risultati del presente studio, lungi dal provvedere una descrizione esaustiva del rischio malattie da vettore per gli allevatori, mettono tuttavia in luce alcuni risultati interessanti quali l'inaspettata mancanza di un rischio specifico per gli allevatori transumanti e la maggiore importanza di altri fattori quali le attività ricreative che possono costituire quindi una base per interventi di sensibilizzazione dei non addetti alla prevenzione di una patologia ancora presente e in grado di dare quadri clinici di varia gravità. Infine, si conferma la circolazione di *Borrelia burgdorferi* nelle province di Milano e Lodi, come attestato dalla positività di alcuni sieri alla ricerca di IgG.

Il privilegio di poter seguire questi lavoratori nell'ambito della sorveglianza sanitaria annuale, permette di implementare questo studio nel prossimo futuro in due modi:

1. Aumento delle dimensioni del campione
2. Incardinamento di uno studio prospettico di coorte per la valutazione della sierconversione.

Dal mese di ottobre 2010 è ricominciata la campagna di visite periodiche dei lavoratori e la raccolta dei campioni di siero.

Introduzione

Si stima che oltre il 60% di tutti gli agenti patogeni per l'uomo abbia serbatoi animali e che circa il 75% delle malattie nuove ed emergenti siano di origine animale [Taylor et al., 2001].

È chiaro quindi che, tra i fattori di rischio presenti negli allevamenti, una particolare rilevanza deve necessariamente essere attribuita agli agenti biologici causa di zoonosi, malattie infettive dell'animale trasmissibili all'uomo. Tra queste risultano interessanti le patologie trasmesse da vettore che, a causa delle interazioni tra ospiti - vettori - serbatoi - ambiente, rimangono endemiche in determinate aree geografiche e si sviluppano come patologie emergenti in zone in cui sono considerate sporadiche.

Le zecche sono state individuate come vettori di malattie batteriche per l'uomo dall'inizio del XX secolo (ad esempio come vettori della febbre Q, della tularemia, della febbre ricorrente da borreliosi e della febbre intermittente da ricchezie). Il loro impatto sulla salute pubblica in Europa e Stati Uniti è stato evidenziato e riconosciuto con l'emergenza e diffusione di *Borrelia burgdorferi* come agente eziologico della malattia di Lyme nel 1982 (Wormser, 2006).

Le zecche sono considerate seconde solo alle zanzare in quanto a vettori nella diffusione di malattie infettive nel mondo. Ogni specie di zecca si sviluppa in determinati ambiente e a determinate condizioni ambientali, il che ne determina la distribuzione geografica e, di conseguenza, le aree a rischio per determinate patologie da esse trasmesse. E questo si verifica in modo particolare quando le zecche fungono sia da vettore che da reservoir del patogeno.

Dall'identificazione di *Borrelia burgdorferi* come agente eziologico della malattia di Lyme nel 1982, sono stati identificati e descritti nel mondo 15 batteri patogeni veicolati da zecche del genere *Ixodes*, compreso 8 specie di ricchezie, 3 di anaplasma e 4 specie di borrelie (Parola et al., 2005).

Le malattie trasmesse da zecche sono geograficamente localizzate e si presentano solo in foci caratterizzati da ottimali condizioni di sviluppo per i vettori e le specie animali ospiti coinvolte nel ciclo di sviluppo del determinato patogeno. In quel determinato luogo i vettori e gli ospiti sono soggetti ad una pressione selettiva e alla conseguente coevoluzione. Ciò è dimostrato dalla distribuzione della maggior parte delle patologie

trasmesse da zecche nei continenti. Ad esempio le ricche zecche sono causate da *R. rickettsii* in America e da *R. conorii* dall'Europa meridionale all'Asia sud-occidentale, India e Africa; *R. africae* nell'Africa sub-sahariana; *Rickettsia sibirica* in Asia centro-settentrionale, in Cina, and Asia nord-orientale; *Rickettsia australis* in Australia (Raoult et al., 1997). Altrettanto si può sostenere per la malattia di Lyme, causata da *Ixodes ricinus* e *Ixodes scapularis*, rispettivamente in Europa e in America. Questa distribuzione comunque può essere condizionata e modificata da un certo numero di eventi, quali ad esempio i cambiamenti climatici, l'urbanizzazione e la deforestazione (Parola et al., 2001).

In Europa, le condizioni climatiche stagionali e la disponibilità di ospiti determinano e limitano altitudine e latitudine della distribuzione geografica delle zecche. (Daniel, 1993; Lindgren et al., 2000; Daniel et al., 2003, 2004; Süss et al., 2008). Negli ultimi anni si è assistito ad un cambiamento sia per quanto riguarda l'altitudine sia la latitudine di tale distribuzione sul territorio Europeo, nonché nella densità delle popolazioni di zecche. È stato ipotizzato che il riscaldamento globale abbia indotto un'espansione verso nord di diverse specie di zecche, incluso *I. ricinus* e *I. scapularis*, vettori della malattia di Lyme rispettivamente in Europa e in America (Greer, 2008; Estrada-Peña A, 2007).

Recentemente sono state trovate consistenti popolazioni di zecche al di sopra dei 1100 metri sopra il livello del mare nella Repubblica Ceca (Daniel et al., 2003), e sopra i 1300 m nell'arco alpino (Rizzoli et al., 2002). Inoltre sono state descritte lungo le coste del Mar Baltico in Svezia ad una latitudine superiore ai 65°Nord (Jaenson et al., 1994; Tälleklint & Jaenson, 1998). A latitudini superiori, dove il clima è generalmente troppo rigido per permettere la sopravvivenza delle zecche, piccole comunità di zecche sono state trovate laddove le caratteristiche ambientali del territorio aiuta a modificare le condizioni climatiche. Ad esempio nelle vicinanze di grossi bacini idrici, come ad esempio nelle vallate dei fiumi, attorno ai laghi e lungo le coste. (Lindgren et al., 2000). In Italia si è verificato recentemente un caso di anaplasmosi bovina, sostenuta da *Anaplasma marginale*, in un allevamento lombardo di bovine da latte. Questa malattia è normalmente endemica in Italia meridionale e insulare e, prima di questa segnalazione, non erano quasi mai stati riportati casi in Lombardia [Belloli et al., 2002].

I patogeni veicolati non sono di per sé sensibili ai cambiamenti climatici, ad eccezione di insolite alte temperature, ma l'esposizione dell'uomo attraverso il morso delle zecche,

può essere influenzata dalle condizioni climatiche. L'incidenza della malattie di Lyme e di altre patologie veicolate da zecche è cresciuta nello stesso periodo di tempo. Gli studi condotti in aree endemiche per tali malattie mostrano un aumento dell'incidenza di tali patologie, in relazione agli stessi fattori climatici collegati con l'aumento di densità delle zecche (Lindgren, 1998; Lindgren & Gustafson, 2001; Daniel et al., 2004).

Le malattie trasmesse da zecche sono considerate emergenti soprattutto in Europa, dove le zecche più diffuse sono quelle del genere *Ixodes ricinus* (Telford et al., 1997; Sambri et al., 2004; Casimiro et al., 2006). *Ixodes ricinus* è stata rilevata in quasi tutte le regioni italiane, soprattutto nei boschi termo-mesofili e negli habitat cespugliosi dove l'umidità relativa rende possibile il completamento del ciclo di sviluppo della zecca (Rizzoli et al., 2004). Queste zecche sono responsabili della trasmissione di numerosi microrganismi patogeni sia per l'uomo che per gli animali, quali *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*, *Babesia* spp. e numerosi virus tra i quali quello della TBE (Tick-borne encephalitis).

Nelle zone temperate dell'emisfero Nord, la patologia trasmessa da vettore più diffusa è la malattia di Lyme, o Borreliosi di Lyme. I casi stimati annualmente in Europa, derivati dai dati nazionali disponibili, sono circa 85000. Questo dato tuttavia è ampiamente sottostimato, poiché molte borreliosi di Lyme non vengono diagnosticate (Steere, 2001).

I dati scientifici riferiti al territorio nazionale mostrano che la Borreliosi di Lyme (BL), causata da *Borrelia burgdorferi* sensu lato, rappresenta la malattia più frequente, essendo endemica in alcune aree del Nord Italia e sporadica in altre regioni. Friuli-Venezia Giulia, Veneto and Trentino-Alto Adige sono le regioni maggiormente coinvolte, mentre sono pochi i casi descritti in centro-sud Italia. Sono stati condotti diversi studi nelle popolazioni a rischio (soprattutto forestali), nelle quali sono state osservate elevate prevalenze anticorpali (fino al 27.2% nei forestali). Non ci sono indicazioni circa la circolazione di malattia di Lyme negli animali domestici anche se sono state riscontrate delle positività sierologiche negli animali domestici e selvatici [Ciceroni L, Ciarrocchi S., 1998; Stefancikova et al., 2002; Travnicek et al., 2002].

Borrelia burgdorferi e Malattia di Lyme

Nel 1883 Buchwald descriveva un caso di “atrofia cutanea idiopatica diffusa” in un paziente morso da una zecca e successivamente, nel 1909, Afzelius identificò il nesso causale tra il morso della zecca e l'eritema cronico migrante (ECM). Negli anni '70 Steere e ai suoi collaboratori (1977) conducendo un'indagine retrospettiva tra giovani abitanti della contea di Lyme (Connecticut, USA) definirono un quadro sintomatologico più completo, associando a focolai di artrite reumatoide (definita “artrite di Lyme”) ad agenti eziologici trasmessi da zecche. Nel 1992 Burgdorfer e i suoi collaboratori isolano una spirocheta dall'apparato digerente delle zecche e dimostrano la presenza di anticorpi specifici in pazienti affetti da artrite di Lyme e nel 1984 Johnson e collaboratori 22 classificano sulla base di caratteristiche genetiche e metaboliche la spirocheta precedentemente isolata nel genere *Borrelia* proponendo una nuova specie: *Borrelia burgdorferi*. La borreliosi di Lyme (LB) è la patologia più comune trasmessa da *Ixodes ricinus* in Europa e da *Ixodes scapularis* nel Nord America. Annualmente vengono riportati da 14 a 140 casi ogni 100,000 abitanti (Avdikova et al., 2005). L'ultimo report del WHO (*World Health Organization*) registra la più alta incidenza nei paesi dell'Europa orientale e centrale, in particolare in Slovenia ed in Austria con 120 e 130 casi ogni 100.000 abitanti rispettivamente. Tuttavia, l'incidenza della LB è probabilmente sottostimata in molti paesi europei, poiché non tutti hanno istituito un sistema di notificazione efficiente.

In Italia è una malattia a denuncia obbligatoria dal 1990 ed è stata classificata dal Ministero della salute come patologia rara (meno di 5 casi ogni 10.000 abitanti). Il primo caso è stato segnalato in Liguria nel 1983 e fino al 1996 sono stati osservati 1324 casi; la maggior parte delle segnalazioni provengono dal Friuli-Venezia Giulia, Veneto e Trentino Alto Adige (Ciceroni e Ciarrocchi, 1998).

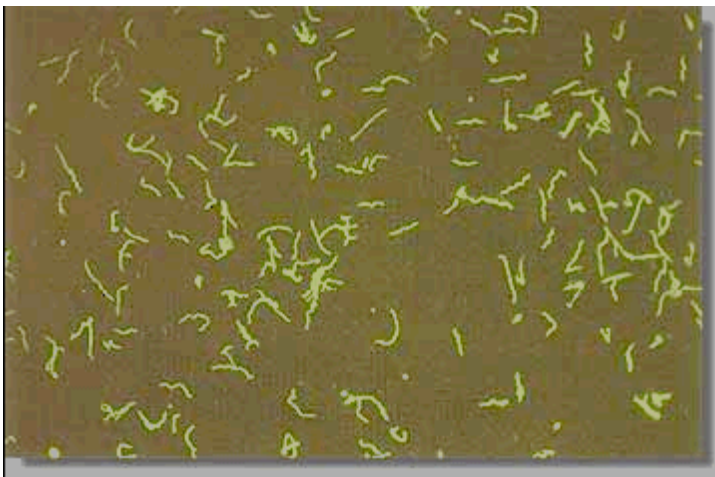
Dal 1999 al 2004 il sito del Ministero della Salute riporta 1091 casi di LB con elevate differenze regionali (255 casi segnalati in Lombardia e solo 4 casi in Abruzzo e Sardegna).

Dalle diverse indagini sierologiche su popolazioni ritenute a rischio (cacciatori, forestali, taglialegna) effettuate in Friuli-Venezia Giulia, Veneto, Trentino Alto Adige, Abruzzo e Toscana si osservano prevalenze dal 3% al 27.7% (Ciceroni e Ciarrocchi, 1998), range

probabilmente dovute alla metodica sierologica utilizzata (ELISA od Immunofluorescenza Indiretta) e alla numerosità campionaria. Indagini sierologiche su individui considerati non esposti mostrano prevalenze più basse (Ciceroni e Ciarrocchi, 1998).

L'agente eziologico

Borrelia burgdorferi sensu lato è una spirocheta facente parte del genere *Borrelia*, della famiglia delle Spirochaetaceae e dell'ordine Spirochaetales (Johnson et al., 1984). E' un batterio Gram-, mobile, con una lunghezza compresa tra 10 e 30 µm e una larghezza tra 0.2 e 0.3 µm



La sua crescita è difficoltosa e piuttosto lenta (tempo medio di divisione cellulare di 8-12 ore), richiede l'utilizzo di terreni specifici (Barbour Stonner Kelly II medium), un ambiente microaerofilo ed una temperatura compresa tra 30°C e i 34°C (Barbour, 1984; Barbour e Hayes, 1986). *Borrelia* non è in grado di produrre autonomamente aminoacidi, lipidi e non contiene enzimi in grado di produrre lipopolisaccaridi, per cui si ritiene che queste sostanze provengano dalle molecole degli ospiti e dei vettori. La membrana cellulare è circondata da 7 fino a 11 flagelli, la cui componente principale è la flagellina. La superficie esterna di membrana contiene un numero abbondante di proteine esterne di membrana (OspA-F) (Norris et al., 1992; Sadziene et al., 1993; Lam et al., 1994). Il genoma è formato da un cromosoma lineare e da 21 plasmidi, che costituiscono il 40% del DNA totale. Ha un unico gene che codifica per il 16 S rRNA e due coppie per il 23 S rRNA e il 5S rRNA.

I geni che codificano per rRNA e per la flagellina si localizzano nel cromosoma, mentre i circa 150 geni che codificano per la sintesi delle proteine esterne di membrana (Osp) sono quasi tutte localizzate nei plasmidi. Il ruolo delle proteine esterne di membrana sembrerebbe quello di facilitare la sopravvivenza della spirocheta in diversi tessuti ospiti, variando l'espressione dei geni codificanti per esse. Infatti, nell'intestino delle zecche le spirochete sintetizzano abbondantemente OspA, mentre all'inizio del loro pasto di sangue risulta accelerata la produzione di OspC e ridotta la produzione di OspA.



Il genoma è stato completamente sequenziato (Fraser et al., 1997) e diverse sequenze genomiche, cromosomiali e plasmidiche specifiche per le varie genospecie di *Borrelia* sono state utilizzate ai fini diagnostici e di ricerca: per il gene OspA, per il gene *fla*, per i geni della proteina 16S e 23 S e per il gene della proteina p66.

L'analisi filogenetica ha potuto identificare 12 genospecie: *B. burgdorferi sensu stricto* (s.s.), presente in USA ed in Europa, rara in Russia e non segnalata in Asia, *Borrelia garinii* (Baranton et al., 1992) diffusa in Eurasia, *Borrelia afzelii* (Canica et al., 1993), *Borrelia valaisiana* (Wang et al. 1997), *Borrelia lusitaniae* presenti sempre in Eurasia (Le Fleche et al., 1997), *Borrelia japonica*, (Marconi et al., 1995), *Borrelia tanukii*, *Borrelia turdae* (Fukunaga et al. 1996) diffuse solo in Giappone, *Borrelia andersonii* (Marconi et al., 1995) identificata solo negli USA, *Borrelia sinica* (Masuzawa et al., 2001) isolata in Cina, *Borrelia bissetti* (Postic et al., 1998) localizzata principalmente in USA e *Borrelia spielmani* (Richter et al., 2004) isolata in Europa centrale ed in Francia.

Tra queste, sono considerate sicuramente patogene *B.burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, mentre la patogenicità di *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia valaisiana*, *Borrelia bissetti* e *B. spielmanii* non è del tutto chiara. Il DNA di *Borrelia lusitaniae*, di *Borrelia valaisiana* e *Borrelia spielmanii* è stato isolato da biopsie di soggetti con eritema cronico migrante e acrodermatite cronica atrofizzante (Rijpkema et al., 1997; Robertson et al., 1999; Wang et al., 1999; Collares-Pereira et al., 2004; Foldvari et al., 2005; Maraspin et al., 2006).

Vettori

In Europa il vettore e reservoir del patogeno è *Ixodes ricinus*. Nell'America settentrionale lo stesso ruolo è svolto da *Ixodes scapularis*, mentre in Asia ed in Russia da *Ixodes persulcatus*. La trasmissione delle spirochete è transtadiale, mentre la trasmissione transovarica non è comune (inferiore al 5%) (Matuschka et al 1992). Infatti, solo nell'1% delle femmine infette l'infezione sistemica raggiunge le ovaie (Leuba-Garcia et al., 1994). Larve, ninfe ed adulti si infettano durante il pasto di sangue da ospiti reservoir, che mantengono una spirochetemia per lunghi periodi. Tuttavia la trasmissione può avvenire anche qualora zecche non infette si cibino vicino o poco dopo zecche infette (co-feeding) in ospiti che non presentano spirochetemia (considerati non reservoir). Infatti, le borrelie rimangono nella pelle, in qualche caso fino a 4 settimane, prima di diffondersi nei tessuti (Gern e Rais, 1996; Randolph et al., 1996).

Nelle zecche a digiuno, le borrelie si localizzano nell'intestino medio dove viene espressa la proteina esterna di superficie di membrana A (OspA), che possiede un recettore per il plasminogeno dell'organismo ospite. Quando le zecche iniziano il pasto di sangue, il plasminogeno si trasforma in plasmina, facilitando la migrazione delle borrelie dall'intestino medio all'emocele, viene aumentata la sintesi di OspC e diminuita quella di OspA (Coleman et al., 1997). Solo le spirochete con OspC e senza OspA entrano nelle ghiandole salivari, anche se Ohnishi et al (2001), dimostrano che l'80% delle borrelie che si localizzano nelle ghiandole salivari non esprimono nessuna delle due proteine.

Una volta che le zecche si attaccano all'ospite e iniziano il pasto di sangue, le borrelie iniziano a migrare nell'ospite dopo circa due-tre giorni dall'adesione della zecca (Kahl et al., 1998). Tuttavia le zecche con infezione sistemica possono trasmettere le spirochete subito dopo l'adesione (Leuba- Garcia et al., 1998).

Resta ancora da accertare il ruolo delle zanzare, tafani e mosche della famiglia degli *Stomoxyidae* (Magnarelli e Anderson, 1988), pulci, pidocchi e acari (Pet'ko et al., 1998) risultati infetti. Sebbene non esistano studi sperimentali o di campo che dimostrino la capacità di agire come vettori, si possono considerare comunque carriers del patogeno. Possono quindi trasmettere la borrelia per via transtadiale ma non sono in grado di trasmetterla all'ospite (Kahl et al., 2002).

Ospiti vertebrati

Ixodes ricinus presenta una bassissima specificità parassitaria nutrendosi su più di 237 specie (Gern, 1994). Le larve e le ninfe si nutrono principalmente su micromammiferi roditori ed insettivori, come topi selvatici, arvicole, ghiri, ratti, toporagni, ricci e talpe, oltre che su uccelli terricoli e lucertole. Le ninfe e le femmine adulte (i maschi non si nutrono) si nutrono su ungulati domestici, selvatici e lagomorfi. L'uomo è un ospite accidentale.

Nonostante l'elevato spettro d'ospiti di *Ixodes ricinus*, solo alcuni vertebrati sono reservoir per la spirocheta, presentando una borreliemia di lunga durata e rappresentando così una sorgente di infezione per la zecca.

Finora, tra le specie reservoir sono inclusi roditori come il topo selvatico (*Apodemus sylvaticus*), il topo dal collo giallo (*Apodemus flavicollis*), il topo selvatico dal dorso striato (*Apodemus agrarius*), l'arvicola rossastra (*Clethrionomys glareolus*), l'arvicola agreste (*Microtus agrestis*) (Kurtenbach et al., 1998; Talleklint e Jaenson, 1994), il ghio (*Glis glis*), (Matuschka et al., 1999) il ratto delle chiaviche (*Rattus norvegicus*) ed il ratto nero (*Rattus rattus*) (Matuschka et al., 1996), lo scoiattolo rosso (*Sciurus vulgaris*) e grigio (*Sciurus carolinensis*) (Craine et al., 1997; Humair et al., 1998).

Tra gli insettivori sono considerati reservoir il toporagno acquaiolo (*Neomys fodiens*), il toporagno nano (*Sorex minutus*), il toporagno comune (*Sorex araneus*) (Talleklint e Jaenson, 1994) e il riccio (*Erinaceus europaeus*) (Gern et al., 1997). Anche la lepre comune (*Lepus europaeus*) e la lepre variabile (*Lepus timidus*) avrebbero un ruolo come reservoir (Talleklint e Jaenson, 1994).

Ungulati selvatici come il capriolo (*Capreolus capreolus*), il cervo (*Cervus elaphus*), il sika (*Cervus nipon yesoensis*), l'alce (*Alces alces*), il daino (*Dama dama*) e domestici come il bovino (*Bos taurus*) e la pecora (*Ovis ovis*) non sono ritenuti reservoir (Talleklint e Jaenson, 1994) anche se possono partecipare alla mantenimento dell'agente sia

mantenendo la popolazione di zecche sia trasmettendo l'infezione ad esse tramite il co-feeding.

Il ritrovamento di diverse specie di borrelie nelle zecche (*Ixodes ricinus* e *Ixodes uriae*), in campioni di sangue e in biopsie cutanee provenienti da uccelli, in particolare da quelli terricoli (Olsen et al., 1995; Craine et al., 1997; Hanincova et al., 2003a; Kurtenbach et al., 1998) dimostra un possibile ruolo nel mantenimento del patogeno. In particolari gli uccelli migratori potrebbero favorirne la diffusione entro lunghe distanze (Olsen et al., 1995).

Cani (Hovius et al., 1998) gatti (Magnarelli et al., 1990) cavalli (Magnarelli et al., 2000) sono suscettibili all'infezione ma non rappresentano dei reservoir perché non sono in grado di trasmettere l'infezione alle zecche.

La sopravvivenza delle borrelie nei tessuti e nel sangue e quindi la capacità di un ospite di fungere da reservoir per la spirocheta dipende dall'azione borrelcida del complemento nei confronti delle diverse genospecie. *B. afzelii*, *B. garinii* (NT29 ribotipo, OspA tipo 4), *B. japonica* e *B. bissetii* sono resistenti al complemento dei roditori mentre *B. valaisiana* e *B. garinii* sono resistenti al complemento degli uccelli, *B. burgdorferi* s.s. ha una resistenza intermedia al complemento degli uccelli e dei roditori e spesso sembra infettante per entrambi (Kurtenbach et al., 2002a).

Il complemento dei cervidi ha un'attività borrelcida contro tutte le genospecie (Kurtenbach et al. 2002a).

L'azione borrelcida del complemento nelle diverse specie ospiti nei confronti delle varie genospecie induce una elevata variabilità nell'infettività per gli ospiti vertebrati e ne determina la capacità o meno di fungere da reservoir. *B. afzelii* è spesso osservata nei roditori del genere *Apodemus* e *Clethrionomys* (Wang et al., 1999; Hanincova et al., 2003b) e *B. burgdorferi* s.s. nel topo dalle zampe bianche (*Peromyscus leucopus*), nello scoiattolo striato nordamericano (*Tamias striatus*), nello scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*), nell'arvicola della prateria (*Microtus pennsylvanicus*), nel procione (*Procyon lotor*), nella moffetta striata (*Mephitis mephitis*) e nel merlo americano (*Turdus migratorius*) (Derdacova et al., 2004), tutte specie presenti nel Nord-America dove questa genospecie è maggiormente diffusa rispetto all'Europa. *B. garinii* e *B. valaisiana* sono più frequentemente isolate, spesso in

associazione, negli uccelli (Kurtenbach et al., 1998; Hanincova et al., 2003a; Kurtenbach et al., 2002b;). In particolare *B.*

garinii, sierotipo OspA 4 sembra essersi maggiormente adattato ai roditori più che agli uccelli (Hanincova et al., 2003b) ed è stato anche isolato in alcuni topi del genere *Apodemus* in Svizzera (Huegli et al., 2002). *B. valaisiana*, invece, riconosce come unici reservoir diverse specie di uccelli: marini, canori, migratori e fagiani (Kurtenbach et al., 1998; Hanincova et al., 2003a; Poupon et al. 2006).

B. spielmanii è associata al quercino (*Elyomis quercinus*) e al moscardino (*Muscardinus avellanarius*), dimostrando una elevata specie-specificità. Per *B. lusitaniae*, isolata sporadicamente solo da vettori (*Ixodes ricinus* e *Hyalomma marginatum*) in alcuni Paesi Europei (Portogallo, Francia, Italia, Cecoslovacchia, Polonia, Svizzera, Moldavia, Ucraina, Polonia, Bielorussia) (De Michelis et al., 2000; Bertolotti et al., 2006) non è stato ancora riconosciuto l'ospite reservoir, anche se si ipotizza che le comuni lucertole muraiole (*Podarcis muralis*) (Bertolotti et al., 2006; Richter e Matuschka, 2006), le lucertole degli arbusti (*Lacerta agilis*) (Richter e Matuschka, 2006) e alcuni uccelli migratori come il pettirosso (*Erithacus rubecula*) e il tordo (*Turdus philomenos*) possano fungere da reservoir (Poupon et al., 2006).

Altre genospecie, non segnalate in Europa, presentando un ristrettissimo spettro d'ospiti vertebrati e quindi sono diffuse solo in alcune aree geografiche.

B. andersonii è diffusa solo nel Nord America e riconosce come serbatoio il coniglio e come vettore *Ixodes dentatus* (Postic et al., 1998). *B. sibirica*, presente in Cina ed in Nepal ha come reservoir un roditore (*Niniventer confucianus*) e come vettore *Ixodes ovatus* (Masuzawa et al., 2001), mentre *B. japonica*, isolata in Giappone, riconosce come serbatoio il toporagno dalla coda lunga (*Sorex unguiculatus*) (Kawabata et al. 1993). Per altre genospecie (*B. tanukii*, *B. turdi*) sempre isolate in Giappone ed in ristrette aree geografiche, il serbatoio è tuttora sconosciuto.

Diffusione in Europa

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 sono state descritte 6 genospecie: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi s.s.*, *B. lusitaniae*, *B. valaisiana*, *B. bissetii* e *B. spielmanii* (Baranton et al., 1992; Hubalek e Halouzka, 1997; Gern et al., 1999; Wang et al., 1999; De Michelis et al. 2000; Kurtenbach et al., 2001; Foldvari et al., 2005; Maraspin et al., 2006).

Da una recente meta-analisi (Rauter e Hartung, 2004), la prevalenza media nelle zecche è risultata pari al 13% (15.516 positivi su 113.685 zecche). Negli adulti è stata osservata una prevalenza significativamente superiore (18.5%; 7974 positivi su 43.126) rispetto alle ninfe (10.1%; 6435 su 63894) mentre non è stata descritta alcuna differenza tra maschi e femmine (16.3% e 18.2% rispettivamente).

Correlando la latitudine e longitudine dei lavori presi in considerazione da Rauter e Hartung (2004) si mette in luce un aumento della prevalenza negli adulti progredendo da ovest ad est, mentre non si osserva nessun trend nelle ninfe. La latitudine non sembra avere alcun effetto né sulla prevalenza delle ninfe né su quella degli adulti. Tuttavia, la prevalenza varia significativamente nei vari Paesi europei. In Gran Bretagna, Irlanda, Italia, Francia, Germania del Nord e Polonia, si osserva una prevalenza inferiore al 11% delle ninfe e al 20% negli adulti. In altri Paesi (Svezia, Olanda, Belgio, Cecoslovacchia, ex Germania dell'Est, Repubblica Ceca, Slovenia, Ucraina, Moldavia, Svizzera, Ungheria) si riscontra una prevalenza superiore. Vengono riportati degli "hot spot" con prevalenze superiori al 30% in Portogallo e Bulgaria. Per quanto riguarda la diffusione delle genospecie, la più frequentemente osservata è *B. afzelii* (37%), seguita da *B. garinii* (34%) e da *B. valaisiana* (20%), da *B. burgdorferi s.s.* (17%) e infine da *B. lusitaniae* (7%). Non sono state riscontrate differenze né tra prevalenze delle diverse genospecie né tra il numero di infezioni miste tra ninfe e adulti. Nel 13% delle zecche campionate si osservano generalmente infezioni multiple. La coinfezione può essere dovuta sia ad una molteplice infezione trasmessa per via trans-ovarica, sia ad una trasmissione tramite un pasto di sangue in un ospite coinfecto, sia alla trasmissione da una zecca coinfecta ad una non infetta tramite il co-feeding e infine a più infezioni acquisite da più ospiti infetti. Tuttavia, la prevalenza di infezioni miste negli adulti non risulta superiore a quella delle ninfe. Kurtenbach e collaboratori (2001) spiegano il fenomeno con la possibilità che anche nella zecca il complemento, ingerito dall'ospite durante il pasto di sangue, possa avere un'azione borrelcida nei confronti delle genospecie.

La diffusione delle genospecie varia tra Paesi Europei: in Cecoslovacchia, Sud della Germania, Repubblica Ceca, Norvegia, Finlandia, Estonia prevalgono *B. afzelii* e *B. garinii*, mentre in Gran Bretagna, Irlanda e nel centro-sud della Germania prevale *B. garinii*. In Francia, Belgio, Olanda, Austria e Svizzera non si registrano differenze significative tra le due genospecie (Rauter e Hartung 2004).

Infine, Rauter e Hantung (2004), dividendo in due periodi (dal 1983 al 1993 e dal 1994 al 2001) i lavori scientifici analizzati, non ritengono che si assista ad alcun trend nel corso degli anni. Nonostante che dal 1994 la maggior parte delle indagini utilizzino la PCR, ritenuta più sensibile della semina su coltura e dell'immunofluorescenza diretta, la prevalenza non sembra aumentare né nelle ninfe né negli adulti. Tuttavia, dal 1997 al 2001 si osserva un'alta prevalenza sia nelle ninfe (superiore al 25%) sia negli adulti (superiore al 30%) ma non è possibile stabilire se l'aumento sia dovuto ad una reale maggior diffusione dell'infezione o ad un aumento della sensibilità nelle metodiche applicate.

Diffusione in Italia

Gli isolamenti di ceppi di *Borrelia burgdorferi* sia dal vettore *I. ricinus*, che da ospiti riserva che dai pazienti (Cinco 1988, 1989, 1993, 1994, Burioni 1988, Cacciapuoti 1995, Stefanelli 1994, 1995, Genchi 1994, Gaddoni 1996) hanno permesso di appurare che tutte e tre le principali specie *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, e *B. afzelii* sono presenti in Italia come riportato nella Figura 22; c'è anche il riscontro indiretto della presenza della specie VS 116 (*B. valaisiana*): sequenze specifiche per questa *Borrelia* reperite a livello dell'interspazio genico compreso tra le sequenze codificanti per i geni *rrf* e *rml*, sono state trovate in *I. ricinus*, accanto alle specie di *B.b.* tradizionali (Cinco, 1997).

Cenni di epidemiologia

Il sistema di sorveglianza per la borreliosi di Lyme è eterogeneo in Europa, e questo non permette un confronto diretto dei diversi paesi. In certe regioni la popolazione generale non è al corrente del rischio e, poiché i sintomi della borreliosi di Lyme sono spesso non riconosciuti, specialmente se il rash cutaneo caratteristico (erythema migrans) non è inizialmente presente, spesso la patologia non viene diagnosticata. Inoltre, i dati ottenuti dai diversi laboratori europei, spesso non sono comparabili a causa dei differenti test sierologici utilizzati per l'indagine anticorpale (Santino et al., 2002). In più, anche se la

patologia viene diagnosticata, si assiste spesso ad una mancata comunicazione agli organi ufficiali, poiché pochi stati dell'Unione hanno indicato l'obbligo di segnalazione per questa malattia. Comunque, analizzando i dati ufficiali e quelli riportati in letteratura, si nota che sia l'incidenza della malattia sia la prevalenza di anticorpi sono più alte nelle regioni centro-orientali dell'Europa (tabella 1). E' stata inoltre notata una diminuzione dell'incidenza da nord sud verso nord in territorio scandinavo, e da nord verso sud in Italia, Grecia e Spagna (e.g. Epiorth, 2003; EUCALB). L'incidenza più alta di borreliosi di Lyme in Europa si trova nelle regioni baltiche e nel nord della Svezia, in Austria, Repubblica Ceca, Germania, Slovenia e regioni centrali.

Nella tabella riportata di seguito, sono indicati i tassi di incidenza di Malattia di Lyme nei diversi paesi della Regione Europea dell'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Tabella 1 Incidenza dei casi annual di borreliosi di Lyme e sieroprevalenza degli anticorpi in diversi paesi europei (WHO_EU 2006)

Stato	Incidenza per 100 000 abitanti (media annuale)	Numero annuo di casi (media)	Prevalenza anticorpale (sangue umano) ^a	Fonte
Austria	300	14–24 000	1997: General pop 7.7%	Santino et al., 1997
Belgio	No data	500	No data	
Bulgaria	55	3500	No data	
Croazia		>200 (LB absent in southern parts)		Mulic et al., 2000
Repubblica ceca	27–35	3500	No data	
Danimarca	0.8	<50	No data	
Estonia	30–40	<500	1997: Risk pop. 2.7%	Santino et al., 1997
Finlandia	12.7	<700	1995: Risk pop. 16.9% 1998: High risk area 19.7%	Oksi & Viljanen, 1995; Carlsson et al., 1998;
Francia	16.5 40 (Berry-Sud)	7–10 000	1997: Risk pop. 15.2%	Zhioua et al., 1997
Germania	25 111 (Wurzburg)	15–20 000	1997: General 5.6%	Santino et al., 1997 Huppertz et al., 1999
Grecia	No data	No data	1997: General 1–3% 2000: Young males 3.3%	Santino et al., 1997 Stamouli et al., 2000
Irlanda	0.6	<50	1998: General 3.4%	Robertson et al., 1998
Italia	~17 (Liguria)	<20 (Central Italy)	1997: General: 1.5–10%	Santino et al., 1997
Latvia	15.6	<400	No data	
Lituania	25–35	<1300	1994: General 4–32%	Montiejunas et al., 1994
Olanda	43	6500	1993: Risk pop 28%; nonrisk pop 5% 1997: General 9% 2001: Risk pop. 15%	Kuiper et al., 1993; De Mik et al., 1997; Goossens et al., 2001
Norvegia	2.8	124	No data	
Polonia	32.2 (Podlasie Province)	No data	1995: Risk area 49.7% ¹ 1999: General 33%; Risk pop. 48% Podlasie Province: Risk pop. 1995: 39%; 2000: 4%	Pancewicz et al., 2001
Romania	No data	No data	1999: General 4–8%; Risk pop 9.3–31.7%	Hristea et al., 2001
Slovacchia	No data	1000	2001: General 5.4%; Risk pop. 16.8% ²⁰	Štefanciková et al., 2001
Slovenia	155	>2000	Children 12.6%	Cizman et al., 2000;
Spagna	9.8 (La Rioja)	26 (La Rioja)	No data	José A. Oteo, 2003, personal communication;
Svezia	80 (South)	10 000 (South)	General 7%	Gustafson et al., 1993;

	1992:		1995: General 34% (south)	Berglund et al., 1995
Svizzera	30.4	2000	No data	
Gran Bretagna	pre 1992: 0.06 post 1996: 0.3 ²⁵	>2000	1998: Risk pop. 0.2% 2000: Risk area.5-17%	Smith et al., 2000; Thomas et al., 1998; Robertson et al., 2000

^a General = general population; Risk pop. = risk population, such as hunters; Risk areas = people living in high risk areas, such as forests, etc.

In gran parte dell'Europa, il numero di casi di malattia di Lyme riportati è aumentato dai primi anni 90, e si è allargata la distribuzione geografica. Ciò è dovuto in parte all'aumentata consapevolezza della popolazione generale e maggior preparazione degli operatori sanitari, e in parte al miglioramento dei sistemi di notifica (Lindgren e Jaenson, 2006). Tuttavia, l'aumento dell'incidenza della malattia e la sua espansione geografica, sono confermati dagli studi ambientali sulla densità e sulla distribuzione dei vettori nello stesso arco temporale (Tälleklint & Jaenson 1998; Daniel et al., 2003).

Malattia di Lyme e Rischio professionale

Le popolazioni che vivono e/o lavorano in zone in cui la borreliosi di Lyme è endemica sono considerati gruppi ad alto rischio (Smith et al., 1991; WHO, 1995; Santino et al., 1997; Carlsson et al., 1998; Robertson et al., 2000). Categorie particolarmente a rischio di contrarre la borreliosi risultano inoltre i lavoratori forestali, guardaparco, cacciatori e agricoltori, che nelle loro attività sono a lungo a contatto con l'habitat dei vettori. Tale rischio è stato dimostrato in diversi studi di prevalenza anticorpale e di incidenza di casi di malattia (Cristofolini et al., 1993; Kuiper et al., 1993; Nuti et al., 1993; Oksi & Viljanen, 1995; Santino et al., 1997; Zhioua et al., 1997; Ciceroni & Ciarrocchi, 1998; Stamouli et al., 2000; Goossens et al., 2001; Pancewicz et al., 2001; Štefančíková et al., 2001).

Il D.Lgs 81/08, relativamente alla tutela dei lavoratori esposti a rischio da agenti biologici, ribadisce l'importanza della vaccinazione quale misura preventiva per i soggetti suscettibili. Due circolari del Ministero della Salute normano le misure di prevenzione nei confronti di malattie trasmesse da zecche. In particolare nella Circolare 13 luglio 2000, n.10, le misure di profilassi vengono suddivise in:

- profilassi comportamentale: basata sulla informazione e sulla educazione sanitaria della popolazione generale e delle categorie professionali potenzialmente più esposte al rischio di punture da zecche;

- profilassi ambientale: basata sul controllo del numero delle zecche nelle aree residenziali (rimozione di foglie secche, sterpaglie e cataste di legna intorno alle case, potatura di alberi e siepi, pulizia di prati e sentieri) e disinfestazioni su larga scala (non sempre fattibili per ragioni pratiche e per il possibile impatto ambientale negativo);
- profilassi specifica: vaccinazione.

In Italia le patologie infettive trasmesse da zecca che presentano rilevanza epidemiologica includono la malattia di Lyme, la febbre bottonosa del Mediterraneo, la febbre ricorrente da zecche, la tularemia e la meningoencefalite da zecche (TBE).

Patogenesi e clinica della Malattia di Lyme nell'uomo

La trasmissione avviene tramite il morso di una zecca infetta. Altre forme di trasmissione (per via verticale o tramite trasfusione, altri vettori) non sono state tuttora documentate.

Dalla sede del morso, le borrelie si diffondono attraverso il sangue o la linfa a tutti i tessuti, con particolare tropismo per il tessuto cutaneo, il sistema nervoso e le articolazioni. Il tempo di incubazione varia da 4 giorni a 4 settimane e il 20% delle infezioni decorre in forma asintomatica (Branz, 2000). Si possono distinguere 3 stadi di patologia. Il primo (infezione localizzata) compare dopo 3 giorni-4 settimane dal morso ed è caratterizzato da una lesione cutanea tipica, l'Eritema Cronico migrante (ECM), accompagnato da tumefazione dei linfonodi regionali e malessere generale. Il secondo stadio si manifesta dopo alcune settimane fino a qualche mese dal morso e spesso non è preceduto da ECM. In questo stadio l'infezione è generalizzata provocando meningite asettica, poliradicoloneurite, paralisi del nervo facciale (paralisi di Bell), lesioni cardiache e blocco della conduzione atrio-ventricolare, congiuntiviti, epatiti, artriti croniche intermittenti e lesioni cutanee. Il terzo stadio (infezione cronica) si può manifestare anche dopo anni dal morso della zecca. In questo stadio può comparire l'acrodermatite cronica atrofizzante (ACA), ma generalmente prevalgono manifestazioni a carico delle articolazioni (artrite reumatoide) e del sistema nervoso (atassia, paresi spastica, disordini mentali da encefalomielite cronica progressiva) (Branz, 2000).

La sintomatologia è correlata alle diverse genospecie patogene per l'uomo. *B.afzelii* si associa generalmente a lesioni cutanee, *B.burgodferi* s.s. a lesioni articolari mentre *B.garinii* alla neuroborreliosi (Balmelli e Piffaretti, 1995; Van Dam et al. 1993).

Riguardo il periodo dell'anno, la malattia segue un andamento stagionale e con un picco che si estende dalla primavera inoltrata ad agosto. Nelle regioni ad alta endemicità le punture delle zecche, e di conseguenza i casi, si susseguono, anche se con minore frequenza, nel periodo invernale. L'analisi delle manifestazioni cliniche, eseguita su un campione di circa 727 casi, ha indicato che l'interessamento cutaneo era prevalente rispetto alle altre manifestazioni, interessando il 57,6% dei pazienti, articolare del 28,6% e neurologico del 23,2%. L'ECM era presente nel 52,9% dei pazienti e rappresentava l'89% delle manifestazioni cutanee osservate. Il preponderante interessamento cutaneo della BL, rispetto alle sintomatologie nervose ed artritiche, riflette l'aspetto geografico latitudinale della malattia: secondo osservazioni emesse dall'OMS (WHO Meeting, Praga, 1990) la prevalenza di determinate manifestazioni cliniche della BL rispetto ad altre, sarebbe correlata, in Europa, con la latitudine, per cui nel Nord Europa prevarrebbero le forme neurologiche della malattia, nel Sud Europa invece, (Paesi dell'area Mediterranea), sarebbero prevalenti le forme dermatologiche. (Cinco, caleidoscopio)

Immunità e autoimmunità

La capacità della *B. burgdorferi* di evitare la clearance da parte del sistema immunitario può essere attribuita in parte ad una inadeguata risposta immunitaria innata al momento dell'infezione. Tuttavia, cellule facenti parte della risposta immunitaria innata come monociti, macrofagi e cellule dendritiche attuano una vigorosa risposta immunitaria nei confronti di infezioni da borrelia e svolgono un importante ruolo nella attivazione della risposta immunitaria contro la spirochete. Nonostante la suddetta risposta immunitaria, l'artrite si sviluppa ancora in un numero significativo di pazienti infetti da *B. burgdorferi*. Sembra che la risposta immunitaria suscitata dai monociti, dai macrofagi e dalle cellule dendritiche contro la spirocheta possa essere considerata insufficiente in caso di infezione precoce ed eccessiva invece nelle fasi successive dell'infezione. A differenza dei neutrofili, grandi popolazioni di monociti, di macrofagi attivati e di cellule dendritiche si trovano nelle lesioni eritema migrans, i siti iniziali di infezione da *B. burgdorferi*. La presenza di TLR2 che lega le lipoproteine della borrelia su questi tipi di cellule, può indurre l'espressione delle citochine infiammatorie, delle chemochine e dei mediatori nel tentativo di sradicare le spirochete presenti a livello della lesione. Inoltre, l'interazione tra

gli antigeni della *Borrelia* e i macrofagi induce la produzione di mediatori proinfiammatori, come l'ossido nitrico, IL-1, TNF- α , IL-6 e IL-12, così come di mediatori di distruzione tissutale, come la matrice metalloproteinasi 9 (MMP-9) (Nardelli *et al.*, 2008).

Inoltre, la diffusione di *B. burgdorferi* è ostacolata dalla capacità dei macrofagi e delle cellule dendritiche di legare prontamente e fagocitare la *B. burgdorferi*. È dimostrato che la presenza di *B. burgdorferi* nella pelle al momento iniziale dell'infezione, scaturisce una risposta innata rapida e robusta rappresentata dai monociti, dai macrofagi e dalle cellule dendritiche, nel tentativo di arginare la diffusione della spirocheta. Tuttavia, questa forte risposta iniziale, non è sufficiente a prevenire malattie croniche in tutti i casi di pazienti infetti.

Un'indagine ha dimostrato che, dopo stimolazione con gli antigeni di *Borrelia*, cellule del liquido sinoviale di pazienti affetti da artrite di Lyme cronica producono IL-2, TNF- α e IFN- γ , ma non IL-3, IL-4, o IL-5. Questo reperto porta a dedurre che IFN- γ sia dunque un modulatore chiave nello sviluppo di artriti. Come risultato, l'infiammazione che caratterizza l'artrite di Lyme è stata classificata come una risposta Th1-mediata. Inoltre, per supportare tale ipotesi è stato dimostrato che la somministrazione di anticorpi anti-IFN- γ a topi infettati da *Borrelia* riduce il grado di gonfiore dell'arto infiammato e riduce il carico di spirochete nelle articolazioni, mentre la somministrazione di anticorpi anti-IL-4 negli stessi soggetti aumenta sia il gonfiore dell'arto che il numero di spirochete reperibili nelle articolazioni (Matyniak & Reiner, 1995).

Bisogna però ricordare che alcune scoperte hanno messo in dubbio il ruolo dell'IFN- γ nello sviluppo di artrite di Lyme (Glickstein *et al.*, 2001). Ad esempio, Brown e Reiner (Brown & Reiner, 1998); (Brown & Reiner, 1999) hanno dimostrato che la deplezione di IFN- γ che producono le cellule NK in topi C3H suscettibili all'artrite, non ha influenzato lo sviluppo di artrite in tali soggetti. È stato inoltre dimostrato che i topi IFN- γ -deficienti e infetti da *Borrelia*, sviluppano artrite allo stesso grado di topi selvatici (Brown & Reiner, 1999). Inoltre, topi vaccinati e IFN- γ -deficienti sviluppano una grave, osteoartropatia distruttiva cronica, caratterizzata da distruzione della cartilagine e da erosione ossea. Questi risultati suggeriscono che l'artrite di Lyme è indotta da citochine diverse da IFN- γ (Christopherson *et al.*, 2003).

I risultati che attestano come l'artrite si possa sviluppare in assenza di IFN- γ indicano che l'attuale modello che presenta l'artrite di Lyme come risposta infiammatoria Th1 guidata dalle citochine, è incompleto.

Una scoperta piuttosto recente ha dimostrato che esistono dei sottoinsiemi di cellule T helper che svolgono un ruolo importante nello sviluppo di artriti (Hirota et al., 2007) e nell'erosione ossea (Sato K et al., 2006). Tali sottogruppi sono rappresentati dalle cellule Th17 che sono cellule distinte da Th1 e Th2 (al Park et al., 2005) e si caratterizzano per la produzione di citochine infiammatorie IL-17. Inoltre, si ricorda che i livelli elevati di IL-17 sono presenti nel liquido sinoviale di pazienti con artrite reumatoide. IL-17 induce la produzione di citochine proinfiammatorie dalle cellule stromali, dai sinoviociti, dai condrociti, e dai macrofagi e presenta sinergia con altre citochine responsabili dell'induzione del riassorbimento osseo e della stimolazione della differenziazione degli osteoclasti (Kotake et al., 1999). La neutralizzazione di IL-17 provoca una sostanziale riduzione dell'attività delle collagenasi, della formazione di osteoclasti, e della produzione di citochine proinfiammatorie (Chabaud et al., 2000). Inoltre, *B. burgdorferi* e le sue lipoproteine hanno mostrato la capacità di indurre la produzione di IL-17. Queste caratteristiche fanno sì che le cellule Th17 possano essere un candidato per un ulteriore percorso mediante il quale possa essere indotta l'artrite di Lyme.

Ci sono evidenze che la somministrazione di anticorpi anti-IL-17 o per il recettore di IL-17 a topi infettati da *Borrelia* carenti di IFN- γ prevenga lo sviluppo di artrite distruttiva osservata invece in topi non trattati. Questi risultati suggeriscono che IL-17, e presumibilmente il sottogruppo di cellule T attivate che lo producono, svolgano un ruolo predominante nello sviluppo della artrite *Borrelia*-indotta, anche in presenza di una intatta risposta da parte delle citochine Th1 (Burchill et al., 2003). Questi e altri risultati suggeriscono che l'IL-17 responsabile per lo sviluppo di artrite indotta da *Borrelia* possa derivare da un sottogruppo di cellule T helper distinto dalle cellule Th1, il che implica la necessità di modificare l'attuale convinzione che l'artrite di Lyme sia solo una risposta immunitaria Th1- mediata.

L'infezione da *Borrelia burgdorferi* può scatenare delle reazioni autoimmuni a livello articolare dovute ad attivazione della risposta linfocitaria T dovuta a un fenomeno di mimicria molecolare tra una proteina dell'ospite e una della spirocheta o ad un'attivazione di una risposta a cellule T nei confronti di epitopi self, non correlati al

patogeno. Questo può condurre ad una risposta infiammatoria cronica a livello sinoviale. A causa della grande variabilità fenotipica nella popolazione di alleli MHC, solo alcune molecole MHC si legano ad un particolare autoantigene, accounting for the HLA associations with most autoimmune diseases.

La prima indicazione che le artriti di Lyme antibiotico resistenti, potrebbero avere una patogenesi autoimmune è stata tratta da uno studio di alleli HLA tra pazienti con artrite di Lyme (Steere et al., 1990). Rispetto a pazienti con artrite di Lyme di breve o moderata durata, quelli con artrite di durata prolungata avevano una maggiore frequenza di HLA-DR4, dimostrata grazie a metodi di tipizzazione sierologica.

Inoltre, questa specificità HLA-DR è stata associata ad una mancata risposta alla terapia antibiotica. Inoltre, la maggior parte dei pazienti che presentavano artriti resistenti al trattamento, hanno mostrato di possedere alleli HLA-DRB1 * 0401 o HLA-DRB1 * 0.101 o in misura minore, l'allele l'HLA-DRB1 * 0.404. Di grande interesse, risulta che questi tre alleli, che hanno una sequenza simile nella terza regione ipervariabile della catena HLA-DRB1, sono associati alla gravità delle reumatoidi negli adulti (Steere *et al.*, 2003).

Diagnosi

La diagnosi si basa generalmente sul quadro anamnestico e clinico del paziente. La diagnosi di ECM dove la Borreliosi di Lyme è endemica è puramente clinica poiché in tali circostanze i test di laboratorio non sono né necessari né raccomandati.

Qualora il quadro clinico e anamnestico non sia chiaro, si utilizzano sia metodi sierologici sia metodiche di isolamento e/o di biologia molecolare.

La diagnosi sierologica utilizza un primo test di screening che è un ELISA (*Enzyme linked Immunosorbent Assay*) o IFI (*indirect immunofluorescent assay*), seguito dall'Western blot, test più specifico utilizzato per confermare un'eventuale positività al test di screening.

Se l'Western blot risulta negativo, è probabile che il risultato della positività all'ELISA o all'IFI sia dovuto alla cross reattività con altri antigeni batterici oppure ad una



policlonale attivazione delle cellule B nel corso di un infezione da virus erpetico (specialmente nella Epstein- Barr).

Anticorpi di classe IgM sono principalmente dosabili nel primo stadio della malattia, anche se è necessario sottolineare che in alcuni pazienti la ricerca di IgM rimane negativa. Nelle malattie di lunga durata e negli stadi tardivi della clinica, quasi tutti gli anticorpi rilevabili sono di classe IgG. Inoltre, in caso di reinfezioni, si può osservare un incremento del titolo anticorpale IgG. L'isolamento in coltura è generalmente poco raccomandata: è poco sensibile, richiede lunghi periodi di incubazione ed è difficile da standardizzare.

Infine, l'elevata variabilità nella sensibilità tra differenti campioni clinici (biopsie cutanee, liquido sinoviale, sangue, siero, plasma, urine, liquido cefalo rachidiano), la scarsa sensibilità nelle forme croniche, l'incapacità di distinguere organismi vitali dai non vitali e la possibilità di cross contaminazioni tra campioni rende l'identificazione del DNA del batterio (tramite amplificazione di geni target plasmidici o cromosomiali) una metodica tuttora non molto utilizzata.

La diagnosi di laboratorio di *Borrelia Burgodferi* è una sfida alquanto complessa. La scarsità di organismi nei campioni clinici di pazienti con manifestazioni extracutanee di Borreliosi, fanno sì che specifici metodi diagnostici come la PCR o la coltura, risultino poco efficaci nell'individuare l'agente eziologico. A questo stadio della patologia, metodi indiretti come la sierologia offrono una resa maggiore. La complessa composizione antigenica di *B. Burgodferi* sommata alla differente espressione in differenti condizioni del ciclo di infezione, rendono ancora più difficile l'identificazione e l'uso dell'antigene più corretto nei test sierologici. Le linee guida raccomandano attualmente un approccio sierologico a due livelli: un test ELISA seguito da un IgM e IgG immunoblot (Augero-Rosenfeld M.E., 2008). Se l'immunoblot risultasse negativo il test ELISA probabilmente era un falso-positivo (Nadelman & Wormser, 1998).

Sia l'accuratezza che la riproducibilità degli attuali test sierologici disponibili è scarsa. L'uso di kit diagnostici commerciali per la malattia di Lyme porta spesso, a diagnosi errate.

Fenomeni di cross reattività e risultati falsi positivi

Risultati falsi positivi alla diagnosi sierologica di infezione da *Borrelia burgdorferi* sono stati riportati in caso di presenza di anticorpi verso diverse specie di *Treponema*, soprattutto in caso di sifilide e, in alcuni casi, anche in caso di febbre delle Montagne Rocciose, meningite da echovirus, infezione da virus di Epstein-Barr e Varicella ed anche in caso di malattie autoimmuni. In rari casi, titoli anticorpali compatibili con infezione da *Borrelia burgdorferi* sono stati rilevati in bambini affetti da artrite reumatoide giovanile non residenti in aree endemiche per *Borrelia*. Inoltre, si stima che percentuali variabili dal 5 al 10% di pazienti negli Stati Uniti e in alcune regione europee endemiche, abbiano forme asintomatiche di infezioni da *Borrelia burgdorferi*.

Nonostante il test ELISA sia attualmente considerato complessivamente specifico, alcuni studi hanno dimostrato risultati falsi positivi nel 2,4% dei casi testati in un campione di circa 900 soggetti.

In conclusione, la diagnosi di Malattia di Lyme è più probabile in caso di alti titoli di IgM in presenza di sospetto clinico.

Scopo del lavoro

Scopo del presente progetto di ricerca è la caratterizzazione del rischio da malattie trasmesse da zecca per gli allevatori del comparto agricolo e zootecnico.

Di seguito vengono presentati gli obiettivi specifici perseguiti a tale scopo:

1. valutazione del rischio di contatto con *Ixodes ricinus* nel corso dell'attività lavorativa in diversi gruppi di lavoratori del comparto agricolo e zootecnico;
2. stima della probabilità di infezione da parte di *Borrelia burgdorferi*, agente eziologico della malattia di Lyme, attraverso indagine sierologica condotta nello stesso campione di soggetti;
3. stima della prevalenza di anticorpi IgG verso *Coxiella burnetii*, agente eziologico della febbre Q nello stesso campione di soggetti;
4. Confronto dei risultati ottenuti con i dati rilevati in un campione di controllo costituito da soggetti residenti nella stessa area geografica ma non esposti al contatto con animali in occasione di lavoro.

Materiali e Metodi

Popolazione allo studio

Addetti al comparto ovicaprino

Il primo gruppo oggetto di studio è rappresentato da 27 lavoratori del comparto ovicaprino dediti ad allevamento di tipo estensivo o semi estensivo (con pascolo o transumanza).

L'area geografica considerata è rappresentata dalla provincia del Verbano-Cusio-Ossola.

Il campione è selezionato in modo casuale dall'elenco dell'anagrafe veterinaria, fornito dal Dipartimento di Prevenzione Veterinaria della ASL 14, sede Domodossola. I lavoratori sono stati contattati personalmente nel corso di sopralluoghi effettuati in occasione delle campagne di vaccinazione e monitoraggio di malattie infettive effettuate dai Veterinari di Area A della suddetta ASL. La raccolta dei 30 campioni di siero ha richiesto l'effettuazione di 10 uscite sul campo nel corso delle quali si è provveduto ad

illustrare lo scopo dello studio ai singoli lavoratori cui si è quindi chiesto di firmare il consenso informato (Allegato 1).

Parallelamente si sono raccolti campioni biologici di uno stesso numero di soggetti in età lavorativa non esposti per motivi professionali a morso di zecca ma residenti nella stessa area geografica (Valli dell'Ossola e Valgrande).

Il reclutamento di questi 2 gruppi (esposti-non esposti) è stato effettuato nei mesi Ottobre 2007 – Agosto 2008.

Addetti ad allevamento intensivo di pianura

Sono stati inoltre reclutati 65 addetti ad attività di allevamento estensivo di pianura. I lavoratori sono stati contattati nel corso della routinaria attività di sorveglianza sanitaria condotta presso le sedi di Confagricoltura delle province di Milano e Lodi (sedi di Abbiategrasso e Lodi). Per questi soggetti è già previsto il prelievo venoso dal programma di sorveglianza sanitaria, pertanto non è stato necessario richiedere un consenso informato per attività invasiva.

Sono stati tuttavia informati della generica possibilità di utilizzo dei loro sieri conservati per attività di ricerca.

Il reclutamento di questo gruppo è stato effettuato nei mesi Ottobre 2009 – Maggio 2010.

Addetti ad attività puramente agricole

Infine, sempre nel corso delle attività di sorveglianza sanitaria condotte dall'UO di Medicina del Lavoro dell'Ospedale San Paolo, sono stati reclutati 35 soggetti addetti esclusivamente ad attività agricole che non prevedono il contatto con animali. Anche per questi soggetti è già previsto il prelievo venoso dal programma di sorveglianza sanitaria, pertanto non è stato necessario richiedere un consenso informato per attività invasiva. Sono stati tuttavia anch'essi informati della generica possibilità di utilizzo dei loro sieri conservati per attività di ricerca.

Il reclutamento di questo gruppo è stato effettuato nei mesi Ottobre 2009 – Maggio 2010.

Sono stati considerati criteri di non ammissibilità allo studio condizioni di immunodepressione congenita o acquisita:

- nefropatie cronica

- diabete mellito
- epatopatie croniche
- terapie cortisoniche per via sistemica
- terapia immunosoppressiva
- gravidanza

Raccolta dei dati anamnestici

Per ciascun soggetto partecipante allo studio, sono state raccolte delle informazioni a livello anamnestico rilevanti per il rischio zoonosico, segnatamente per le malattie trasmesse da vettore.

Per gli allevatori del comparto ovicaprino reclutati in Ossola e Valgrande – e per il gruppo di non esposti reclutati nella stessa zona – sono state predisposte due scheda di veloce compilazione (Allegato 2 e 3).

Per la raccolta delle informazioni relative agli allevatori di pianura si è utilizzata la cartella sanitaria e di rischio predisposta per le attività di sorveglianza sanitaria (Allegato 4).

Raccolta dei campioni

Per ciascun soggetto che abbia accettato di partecipare allo studio è stata raccolta 1 provetta di sangue addizionata con gel separatore. Le provette sono state conservate in borsa termica fino all'arrivo al laboratorio dell'ospedale, quindi vengono sottoposte a centrifugazione e separazione del siero che quindi viene congelato a -20°C .

A ciascun partecipante allo studio è stato assegnato un numero identificativo che viene applicato sulle provette e sulla scheda raccolta dati (questionario o cartella sanitaria e di rischio).

Analisi di laboratorio

La diagnosi si basa generalmente sul quadro anamnestico e clinico del paziente. La diagnosi di ECM dove la Borreliosi di Lyme è endemica è puramente clinica poiché in tali circostanze i test di laboratorio non sono né necessari né raccomandati. Qualora il quadro clinico e anamnestico non sia chiaro, si utilizzano sia metodi sierologici sia metodiche di isolamento e/o di biologia molecolare. La diagnosi sierologica utilizza un primo test di screening che è un ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay) o IFI

(indirect immunofluorescent assay), seguito dall'Western blot, test più specifico utilizzato per confermare un'eventuale positività al test di screening.

Nel nostro studio, i campioni prelevati dai pazienti sono stati analizzati dal laboratorio di sierologia dell'azienda Ospedaliera San Paolo di Milano utilizzando il test LIASION® Borrelia Burgodferi IgG e IgM.

Questo test impiega la tecnologia della chemiluminescenza (CLIA) in un saggio immunologico per la determinazione qualitativa di anticorpi specifici di classe o IgM o quantitativa di anticorpi di classe IgG contro Borrelia Burgodferi in sensu lato in campioni di siero o plasma umano.

Il test impiega antigeni ricombinanti specifici ottenuti in E.coli per aumentarne l'accuratezza della diagnosi. Il test LIASION® IgM II utilizza una fase solida rivestita con la proteina superficiale esterna OspC, immunodominante per la risposta di tipo IGM durante la fase precoce dell'infezione, così come l'antigene batterico VISe (variable major protein-like sequence, expressed, sequenza variabile maggiore di tipo proteico espressa) una proteina di recente identificazione. Il test LIASION® Borrelia Burgodferi IgG utilizza solo l'antigene VISe. Questo antigene è una lipoproteina della superficie esterna che gioca un ruolo probabilmente importante nella risposta immunitaria della malattia di Lyme.

Bisogna notare che durante l'infezione le regioni variabili subiscono continue variazioni nella sequenza per ricombinazione. Tali variazioni antigeniche delle proteine esposte sulla superficie cellulare, risultano essere un meccanismo importante che permette di sfuggire al riconoscimento immunologico. All'interno della regione variabile sono disseminate sei regioni invariabili (IR 1-6), conservate nei diversi ceppi e specie della Borrelia Burgodferi sensu lato. Nei Batteri Borrelia vivi le regioni invariabili sono mascherate dalle regioni variabili e pertanto sono protette dall'attacco diretto del sistema immunitario dell'ospite. Il microrganismo della Borrelia sono trasformati da cellule che presentano l'antigene sulla superficie e lo espongono all'attacco del sistema immunitario. Risulta interessante notare che le regioni invariabili sono quelle immunodominanti nella Borreliosi di Lyme. I pazienti affetti da tale malattia presentano sempre una risposta immunitaria vigorosa contro la proteina VISe in tutti gli stadi della malattia compresi in quelli precoci. Questa reattività, rivelata dai test Western Blot che impiegano la proteina ricombinante VISe, è assente o diminuisce di intensità quando si usa come antigene di

lisato di cellule intere provenienti da colture in vitro di *Borrelia burgdorferi* propagate con basso numero di passaggi. La proteina ricombinante VIsE è caratterizzata da elevata specificità e sensibilità e per tanto risulta essere l'indicatore più adatto per la diagnosi di laboratorio della risposta immunitaria di tipo IgG alla Borreliosi, sia precoce sia tardiva.

PRINCIPI di FUNZIONAMENTO DEL TEST

Come detto in precedenza, il metodo per la determinazione qualitativa per le IgM e quantitativa per le IgG specifiche anti-*Borrelia burgdorferi* è un test indiretto basato sul principio della chemiluminescenza. Antigeni ricombinanti specifici per la *Borrelia burgdorferi* sono infatti usati per rivestire le particelle magnetiche (fase solida) e un anticorpo monoclonale è legato ad un derivato dell'isoluminolo (coniugato anticorpo-isoluminolo). Durante la prima incubazione, gli anticorpi anti- *Borrelia burgdorferi* presenti nei calibratori, nei campioni o nei controlli, legano la fase solida. Durante la seconda incubazione invece, l'anticorpo coniugato reagisce con le IgM e IgG anti-*Borrelia burgdorferi* già legati alla fase solida. Dopo ciascuna incubazione, il materiale non legato viene rimosso mediante un ciclo di lavaggio.

In seguito, vengono aggiunti i reagenti starter che inducono una reazione di CLIA. Il segnale luminoso, e quindi la quantità di coniugato anticorpo-isoluminolo, è misurato da un fotomoltiplicatore in unità relative di luce (RLU, relative light units) ed indica la concentrazione di IgM e IgG anti- *Borrelia burgdorferi* presente appunto nei campioni, nei calibratori o nei controlli.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Test *Borrelia* IgG (siero o plasma)

Anche per le IgG lo strumento calcola automaticamente le concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* espresse in unità arbitrarie (AU/mL) e ne classifica i risultati.

Intervallo di misura : e 240 ml di IgG anti- *Borrelia burgdorferi*0.

Eventualmente i campioni contenenti concentrazioni di anticorpo maggiori dell'intervallo di misura possono essere prediluiti e ridosati.

In seguito, i risultati dei campioni devo essere interpretati come segue:

- campioni con concentrazioni di IgG anti- *Borrelia burgdorferi* al di sotto 10 AU/ml sono da classificare negativi

- campioni tra 10 e 15 AU/mL sono dubbi. I valori dubbi dovrebbero essere ritestati. Se un campione è positivo al secondo test deve essere considerato positivo e lo stesso qualora risultasse negativo
- campioni con risultati uguali o al di sotto di 15 AU/ml sono positivi.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Un risultato negativo per entrambi gli anticorpi (IgM e IgG) anti-Borrelia Burgordferi indica generalmente che l'infezione non è avvenuta. Tuttavia non esclude che vi sia in atto una Borreliosi acuta poiché la malattia potrebbe essere in uno stadio precoce e il paziente può quindi non aver ancora sintetizzato gli anticorpi specifici, oppure perché i livelli degli anticorpi possono non essere ancora rilevabili. Gli anticorpi specifici di classe IgM sono certamente di più facile rilevazione negli stadi precoci dell' infezione mentre declinano negli stadi più avanzati. Occorre quindi ricordare in questo caso che i livelli di anticorpi risultano negativi nelle prime settimane che seguono l'eventuale infezione. Qualora si sospettasse che vi sia stata un'esposizione a Borrelia Burgordferi, anche con dosaggio degli anticorpi negativo o dubbio, si devono comunque dosare le IgM e IgG durante il corso dell'eventuale infezione.

Un risultato positivo per anticorpi IgM o IgG indica di solito che il soggetto è stato esposto alla Borrelia Burgordferi e l'infezione può essere acuta o pregressa. Un unico campione, tuttavia, può solo aiutare la valutazione dello stato sierologico del soggetto in esame. In conclusione bisogna dire che requentemente si può osservare un risultato positivo isolato per IgM, soprattutto durante gli stadi precoci, ma raramente durante gli stadi avanzati della malattia; mentre un risultato positivo isolato per IgG può indicare sia una malattia di Lyme acuta, sia un'infezione pregressa con persistenza di anticorpi.

Analisi statistica

Le sieroprevalenze rilevate nelle diverse categorie di esposizione sono state valutate con analisi di regressione logistica, quindi sono stati calcolati gli odds ratios, aggiustati per le seguenti variabili: sesso, età, paese d'origine, anzianità lavorativa, attività ricreative all'aria aperta, contatto con animali domestici, frequentazione habitat degli animali selvatici (caccia, lavoro forestale, cura del bosco), numero di morsi di zecca registrati negli ultimi 5 anni. Le correlazioni tra variabili dipendenti espressione di potenziali

fattori di rischio (per esempio morsi di zecche) e paese d'origine sono state effettuate tramite test di mann whitney.

Risultati

Caratteristiche del campione

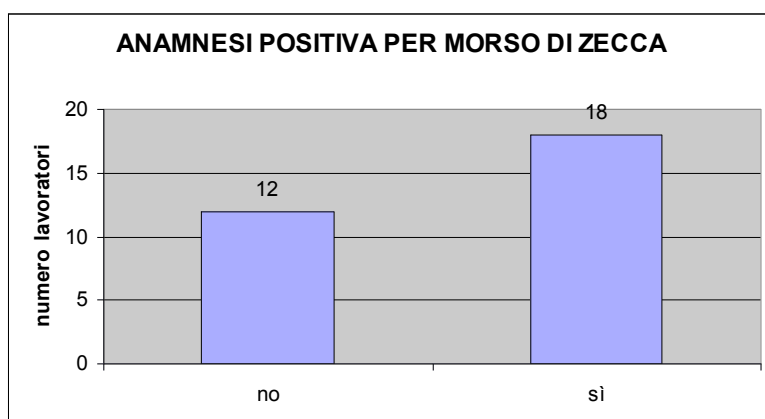
Addetti allevamento ovicaprino di montagna

Un totale di 50 soggetti (28 pastori e 22 controlli) ha accettato di partecipare allo studio. I due gruppi sono risultati omogenei per età (esposti: 40 ± 8 aa; controlli 42 ± 9 aa), altitudine del luogo di residenza (esposti: 558 ± 241 m slm; controlli 529 ± 196 m slm), attività agroforestali extralavorative (esposti: 20/28, 71%; controlli 16/22, 72%), pregressa diagnosi di malattia trasmessa da vettori (0/0).

Significativamente differenti sono risultati il possesso di animali domestici (esposti: 28/28, 100%; controlli: 14/22, 63%), il numero di morsi di zecca riportati negli ultimi 5 anni (esposti: media 3.1 ± 4.8 ; controlli, media 1.2 ± 2.1) e la distribuzione per sesso che potrebbe avere un ruolo confondente nella interpretazione dei risultati (minore propensione ad attività che comportano il contatto con i selvatici quali caccia, trekking e cura del bosco).

In un solo caso è stato registrato a livello anamnestico un segno ascrivibile a sospetta pregressa malattia da vettore (linfadenopatia laterocervicale e febbre) in seguito a morso di zecca e trattata con antibioticoteraia.

Grafico XX: Soggetti con almeno un morso di zecca negli ultimi 5 anni in anamnesi



Per il gruppo di allevatori ovi-caprini, il numero di morsi di zecca negli ultimi 5 anni mostra una lieve ma significativa correlazione con il numero di capi allevati ($r=0,21$; $p< 0,05$) e l'età ($r=0,14$; $p< 0,05$); al contrario, non è stata rilevata correlazione né con l'altitudine dell'alpeggio, né con quella del luogo di abitazione. Per il gruppo di controllo,

invece, una maggiore correlazione ($r = 0,30$; $p < 0,05$) è stata rilevata con l'altitudine del luogo di abitazione, insieme ad una più debole correlazione con l'età ($r=0.16$; $p < 0,05$).

Addetti allevamento intensivo di pianura

In totale sono stati reclutati 100 soggetti addetti al settore agricolo e zootecnico nelle province di Milano e Lodi. Di seguito sono riportate le caratteristiche del gruppo per età.

TabellaX: distribuzione per età

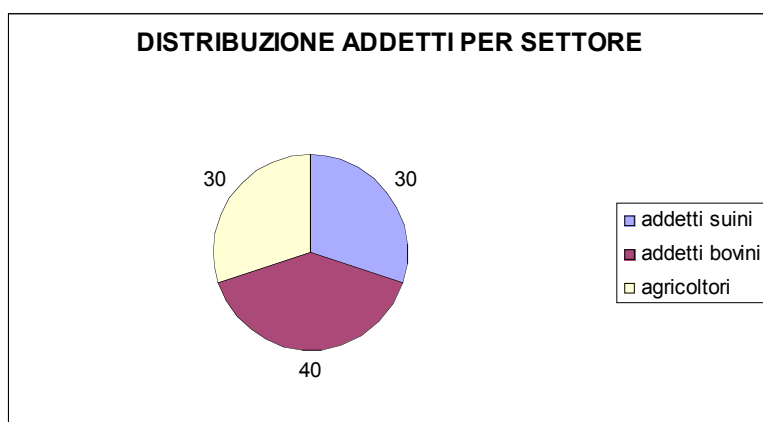
Età	n°	%	Valid %	Cum %
21-29	16	14.8	16.7	16.7
30-39	26	24.1	27.1	43.8
40-49	28	25.9	29.2	72.9
50	26	24.1	27.1	100.0
Totale	96	88.9	100.0	

TabellaX: distribuzione per sesso

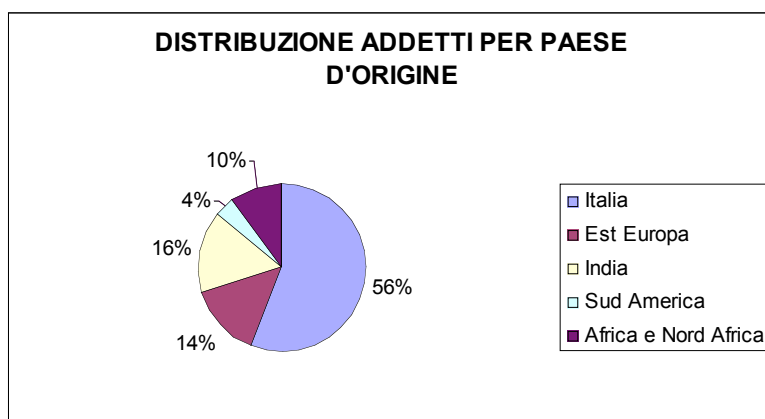
SESSO	n°	%	Valid %	Cum %
Valid m	94	94	94	94
f	6	6	6	100.0
Totale	96	100.0	100.0	

Di seguito viene rappresentata la composizione del gruppo in termini di mansione e settore lavorativo.

GraficoX: distribuzione per settore lavorativo



GraficoX: distribuzione per paese d'origine

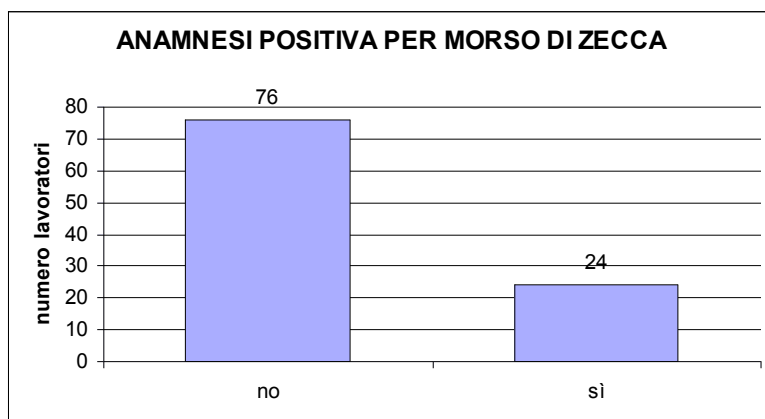


Dall'analisi delle schede anamnestiche, in nessun caso si è potuto rilevare una pregressa diagnosi di malattia trasmessa da zecche. Inoltre, in nessun caso si sono rilevate condizioni che determinassero la non ammissibilità allo studio. Come unica sospetta zoonosi si è rilevata – sempre a livello anamnestico - una endocardite da *Streptococcus viridans* in un allevatore di suini.

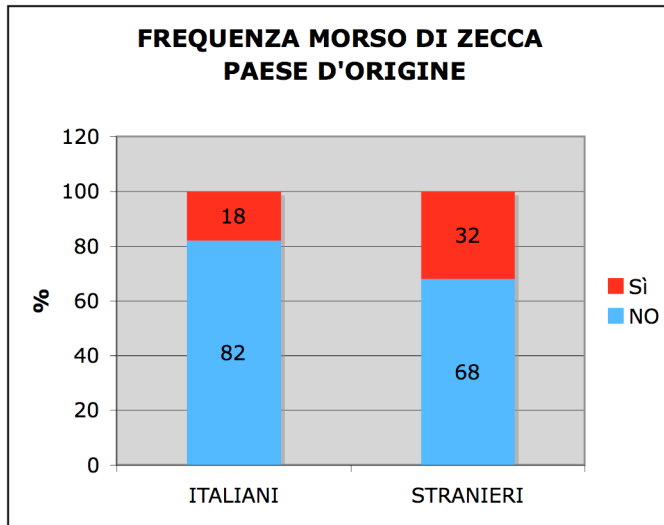
Pregresso morso di zecca (ultimi 5 anni)

Di seguito viene riportata la frequenza di anamnesi positiva per morso di zecca rilevata nel gruppo di lavoratori addetti ad allevamento intensivo di pianura.

Grafico XX: Soggetti con almeno un morso di zecca negli ultimi 5 anni in anamnesi



Paragonati ai pastori dediti ad alpicoltura, i lavoratori agricoli di pianura sono risultati meno frequentemente interessati da morso di zecca. Tra i 24 lavoratori che hanno riferito almeno un pregresso morso di zecca, è interessante notare la maggior frequenza di soggetti stranieri, come indicato di seguito.



La frequenza rilevata a livello anamnestico per morso di zecca è significativamente più alta nei lavoratori stranieri rispetto ($p=0,001$) a quanto rilevato in quelli italiani.

Sieroprevalenza IgG anti *Borrelia burgdorferi*

Addetti allevamento ovicaprino di montagna

Anticorpi IgG verso *Borrelia burgdorferi* sensu lato sono stati rilevati in un soggetto del gruppo di controllo ed in un allevatore. Per entrambi si è reso noto test di conferma in Western Blotting, come indicato in letteratura (Cinco 1996, Guillame 2002, Marangoni 2005). Il test in WB ha confermato come positivo solo il caso rilevato in un soggetto non esposto a rischio professionale.

Iniziali	sesso	età	esposto	ELISA IgG	WB IgG	sintomi	Morso di zecca
GB C	M	48	No	39,0	+	No	Si
M Q	m	44	sì	17,0	-	no	sì

Data la presenza di un unico caso positivo (pari ad una prevalenza del 3%), non è stato possibile procedere ad una valutazione della correlazione tra risultato sierologico come variabile dipendente e altre variabili indipendenti potenzialmente in grado di modificare il rischio quali numero di morsi di zecca, paese di provenienza, anzianità lavorativa, età, sesso.

Addetti allevamento intensivo di pianura

Nell'intera casistica si sono rilevati 9 casi positivi alla ricerca di IgG verso *Borrelia burgdorferi* s.l.

Tabella XX: casi positivi inviati alla ricerca di IgG - ELISA

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	IgG neg	91	91	91	91
	IgG pos	9	9	9	100.0
	Total	96	100.0	100.0	

Di questi, 3 sono risultati essere falsi positivi, mentre 6 sono stati confermati al Western Blotting come mostrato nella tabella seguente.

Tabella XX: quadro sinottico casi positivi inviati per conferma WB

Code	origine	sexo	Età	esposto	ELISA IgG (UI/ml)	WB IgG	sintomi	Morso di zecca
B13	Ucraina	M	40	S	15.6	+	no	Sì
B17	Italia	M	45	S	24.4	+	No	sì
B190	Romania	M	33	N (g)	47.1	+	No	Sì
B54	Italia	M	70	S	26.6	+	no	Sì (recall)
B171	Sri lanka	M	51	B	14.1	+	No	Sì
B114	Romania	M	42	S	10.9	-	No	Sì
B169	Burkina Faso	M	43	N (g)	13.6	-	No	Sì
B128	India	M	39	C	10.6	-	No	No
B55	India	M	55	s	13.4	+	no	no

Consensualmente all'andamento della frequenza di morso di zecca si muove la probabilità di avere sierologia positiva per IgG verso *Borrelia*: il 9 % degli stranieri rispetto al 3,5% degli italiani.

Non è stato possibile rilevare una correlazione tra la probabilità di risultare positivo all'indagine sierologica per *borrelia* ed età, né con l'anzianità lavorativa nel settore. In particolare,

Discussione e conclusioni

Addetti al comparto ovicaprino

Per quanto concerne il rischio, per l' allevatore ovicaprino addetto a pascolo vagante, di contrarre infezione da *Borrelia burgdorferi* s.l. non è possibile trarre conclusioni in merito alla presenza di un rischio professionale, data l'esiguità dei dati. Questo studio pilota, cioè, non è in grado di confermare l'ipotesi iniziale secondo cui i lavoratori del comparto ovicaprino transumante sarebbero dovuti risultare a maggior rischio di malattie trasmesse da vettore per via della frequentazione degli habitat dei più frequenti reservoirs di *Ixodes ricinus* e *Ixodes scapularis*, quale ad esempio *Capreolus capreolus*. Tuttavia, un'attenta analisi dell'unico caso positivo, rilevato peraltro in un soggetto non esposto, facente parte cioè del gruppo di controllo costituito da residenti nella stessa area geografica, permette di avanzare alcune ulteriori ipotesi. Il caso in oggetto è rappresentato da un uomo di 48 anni impiegato in una fabbrica di lavorazione del rame posta in bassa Valle Ossola e che risiede dalla nascita in un piccolo paese della Valle Anzasca, ad una altitudine di 730 metri s.l.m. Come molti altri abitanti della zona, al di fuori dell'orario di lavoro si dedica ad attività boschive quali il taglio della legna e la cura del bosco e dei sentieri, la caccia nelle stagioni stabilite e pratica trekking in montagna. A livello anamnestico ha riferito di aver avuto molte volte in passato esperienza di morso di zecca, principalmente a livello degli arti inferiori, ma di non aver mai avuto sintomi compatibili con patologia trasmessa da vettore, in particolare eritema migrante o artralgie, per cui il medico di base abbia ritenuto necessario procedere ad ulteriori accertamenti. E' molto probabile pertanto che il contatto con *Borrelia burgdorferi* suggerito dall'esito degli esami sierologici sia avvenuto in una delle occasioni sopra descritte e che l'infezione abbia avuto un decorso asintomatico o aspecifico, possibilità peraltro ben documentata in letteratura (Cetin e coll, 2006; Kaia e coll, 2008, Steer e coll, 2003). Infine, queste considerazioni vanno inserite in un contesto, quello dell'Italia nord-occidentale, che i dati fin qui prodotti e pubblicati in letteratura non hanno mai indicato come particolarmente interessato dalla diffusione delle zecche nell'ambiente e nei selvatici (Mannelli e coll, 2003; Pugliese e coll, 2007).

Addetti ad allevamento intensivo di pianura

I risultati ottenuti dal campione di allevatori impiegati in Aziende agricole delle province di lodi e milano depongono per la presenza di un rischio Borreliosi anche in pianura. Nel nostro campione, la prevalenza di anticorpi di classe IgG verso *Borrelia burgdorferi* si

attesta al 6 %, percentuale nettamente inferiore rispetto a quelle rilevate in altre aree geografiche ad alta endemia. Storicamente, le zone dell'arco alpino nord orientale – ed in particolare il triveneto – mostrano alti livelli di diffusione del patogeno parallelamente ad sieroprevalenze in categorie di esposti che vanno dal 10% segnalato in allevatori e cacciatori al 19% rilevato in lavoratori forestali (Nuti e coll, 1993). Altri indagini condotte nella zona confermano un significativo rischio di malattia di Lyme per le guardie forestali con sieroprevalenze dell'ordine del 23% (Cinco M e coll, 2004). La non esistenza di una correlazione tra età ed anzianità lavorativa da un lato e sieroprevalenza dall'altro – probabilmente dovuta alle ridotte dimensioni del campione – non ci permette di identificare un pattern di aumento del rischio consensuale al numero di anni di esposizione. Esiste una correlazione significativa con il paese di provenienza: l'essere italiano sembra “proteggere” dal rischio Borrelia. A spiegazione di questa osservazione, si possono addurre diversi fattori, primo fra tutti il fatto di essere venuto in contatto con Borrelia nel paese di provenienza. Avendo fatto infatti ricercato anticorpi di classe IgG non siamo in grado di distinguere – tra le esposizioni passate - quelle più o meno recenti. Considerando che la maggior parte degli stranieri impiegati nelle nostre Aziende agricole viene da un passato lavorativo differente, la relazione causale con l'attività lavorativa non può essere data per scontata. Tuttavia, andando ad analizzare l'anamnesi lavorativa dei soggetti risultati positivi al test di conferma è necessario sottolineare che dei 6 casi positivi rilevati nel nostro campione, solamente 2 due vengono da una storia di lavoro agrozootecnico nel paese d'origine. Un'altra osservazione va fatta riguardo alla presenza di possibili ambiti di contatto diversi da quello lavorativo. La probabilità, tuttavia, che il contatto con Borrelia burgdorferi sia avvenuto in altro contesto è ridotta data la totale assenza di abitudine a dedicarsi ad attività, quali la caccia, che li pongano a maggior rischio di malattie trasmesse da zecca. Tuttavia, la tipica commistione tra ambiente di vita e di lavoro che si verifica nel comparto agricolo (la totalità dei casi rilevati abita e lavora in cascina) rende ancor più difficile l'identificazione di fattori di rischio squisitamente professionali.

Limiti dello studio

Il primo grande limite di questo studio va ricercato nella dimensione del campione. E' necessario però sottolineare la difficoltà incontrata nel reclutamento degli allevatori

ovicapriini dediti al pascolo vagante. L'impossibilità di chiamarli a raccolta in un unico punto prelievi e la conseguente necessità di raggiungerli sul luogo di lavoro, ha richiesto molte ore di lavoro trascorse in spostamento. A seconda della stagione, i soggetti sono stati raggiunti in pianura, nei luoghi di sosta della transumanza, o addirittura in alpeggio. Ancora, il campione è stato formato tenendo conto di numerosi criteri di selezione, data la bassa specificità della diagnosi sierologica di Malattia di Lyme in assenza di una sintomatologia clinica. Tuttavia, non si è stabilito un criterio legato all'"anzianità migratoria" - ovvero il numero di anni in cui lavoratore straniero risiede in Italia - che può quindi costituire un fattore di confondimento rispetto al luogo in cui è avvenuto il contatto con il patogeno.

Bibliografia

1. Avdikova M, Kontrosova S, Kostanova Z (2005) Occurrence of natural foci zoonoses and selected epidemiological characteristics of tick-borne encephalitis and lyme borreliosis during 1997-2004. Abstracts of Zoonoses, their causative agents and vectors conference, 4-6 April 2005, Smolenice, Cecoslovacchia.
2. Baranton G, Postic D, Saint Girons I, Boerlin P, Piffaretti JC, Assous M., Grimont PA (1992) Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu strictu*, *Borrelia garinii* sp.nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int J Syst Bacteriol*, 42, 378-383.
3. Barbour AG (1984). Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale J Biol Med*. 57, 521-5
4. Barbour AG, Hayes SF (1986). Biology of *Borrelia* species. *Microbiol Rev*. 50, 381-400
5. Belloli A., Pravettoni D., Luini M., Grieco V., Bolera C., Granata A., Carelli G., Ceci L. (2002). Anaplasmosi bovina. *Obiettivi e Documenti Veterinari*; 1:11-13.

6. Berglund J et al. (1995). An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *New England Journal of Medicine*, 333(20):1319–1327.
7. Brown, C. R. & S. L. Reiner, (1999) Experimental lyme arthritis in the absence of interleukin-4 or gamma interferon. *Infect Immun* 67: 3329-3333.
8. Burchill, M. A., D. T. Nardelli, D. M. England, D. J. DeCoster, J. A. Christopherson, S. M. Callister & R. F. Schell, (2003) Inhibition of interleukin-17 prevents the development of arthritis in vaccinated mice challenged with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 71: 3437-3442.
9. Canica MM, Nato F, du Merle L, Mazie JC, Baranton G., Postic D. (1993) Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afelii* sp.nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. *Scan J Infect Dis* 25, 441-448.
10. Carlsson SA et al. (1998). IgG seroprevalence of Lyme borreliosis in the population of the Åland Islands in Finland. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 30(5):501–503.
11. Casimiro E, Calheiros J, Santos FD, Kovats S. (2006). National assessment of human health effects of climate change in Portugal: approach and key findings. *Environ Health Perspect.*;114(12):1950-6.
12. Cetin E, Sotoudeh M, Auer H, Stanek G. Paradigm Burgenland: risk of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection indicated by variable seroprevalence rates in hunters. *Wien Klin Wochenschr.* 2006 Nov;118(21-22):677-81.
13. Chabaud, M., P. Garnero, J. M. Dayer, P. A. Guerne, F. Fossiez & P. Miossec, (2000) Contribution of interleukin 17 to synovium matrix destruction in rheumatoid arthritis. *Cytokine* 12: 1092-1099.
14. Ciceroni L, Bartoloni A, Leoncini F, Ciarrocchi S, Pinto A, Favia G, Bartalesi F, Scagnoli L, Iori A. (2003). Risk of tick-borne bacterial diseases in humans in the Florence area, Tuscany. *Ann N. Y. Acad. Sci.*; 990:346-9.

15. Ciceroni L, Ciarrocchi S (1998). Lyme disease in Italy, 1993-1996. *The New Microbiologica*, 21(4):407–418.
16. 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*, 14, 511-517.
17. Cizman M et al. (2000). Seroprevalence of erlichiosis, Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis infections in children and young adults in Slovenia. *Wiener klinische Wochenschrift*, 112(19):842–845.
18. Coleman JL, Gebbia JA, Piesman J, Degen JL, Bugge TH, Benach JL (1997) Plasminogen is required for efficient dissemination of *B. burgdorferi* in ticks and for enhancement of spirochetemia in mice. *Cell* 27, 1111-9.
19. Craine NG, Nuttall PA, Marriott AC, Randolph SE (1997) Role of grey squirrels and pheasants in the transmission of *Borrelia burgdorferi sensu lato*, the Lyme disease spirochaete, in the U.K. *Folia Parasitol (Praha)*, 44, 155-160.
20. Cristofolini A, Bassetti D, Schallenberg G (1993). Zoonoses transmitted by ticks in forest workers (tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis): preliminary results. *La Medicina del Lavoro*, 84:394–402.
21. Daniel M (1993). Influence of the microclimate on the vertical distribution of the tick *Ixodes ricinus* (L.) in central Europe. *Acarologica*, XXXIV(2):105–113.
22. Daniel M et al. (2003). Shift of the tick *Ixodes ricinus* and tick-borne encephalitis to higher altitudes in central Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease*, 22(5):327–328.
23. Daniel M et al. (2004). An attempt to elucidate the increased incidence of tick-borne encephalitis and its spread to higher altitudes in the Czech Republic. *International Journal of Medical Microbiology*, 293(37):55–62.

24. De Mik EL et al. (1997). The geographical distribution of tick bites and erythema migrans in general practice in The Netherlands. *International Journal of Epidemiology*, 26(2):451–457.
25. EpiNorth (2003) [web site]. A co-operation project for communicable disease control in Northern Europe. Epidata on Lyme borreliosis (<http://www.epinorth.org>, accessed 13 December 2003).
26. Estrada-Peña A, Venzal JM. Climate niches of tick species in the Mediterranean region: modeling of occurrence data, distributional constraints, and impact of climate change. *J Med Entomol*. 2007 Nov;44(6):1130-8.
27. EUCALB, European Union concerted action on Lyme borreliosis [web site]. (<http://www.dis.strath.ac.uk/vie/LymeEU/>, accessed 13 December, 2003).
28. Fraser CM, Casjens S, Huang WM, Sutton GG, Clayton R, Lathigra R, White O, Ketchum KA, Dodson R, Hickey E K, Gwinn M, Dougherty B, Tomb JF, Fleischmann RD, Richardson D, Peterson J, Kerlavage A R, Quackenbush J, Salzberg S, Hanson M, van Vugt R, Palmer N, Adams M D, Gocayne J, Weidman J, Utterback T, Wathley L, McDonald L, Artiach P, Bowman C, Garland S, Fujii C, Cotton M D, Horst K, Roberts K, Hatch B, Smith H O, J. Craig Venter (1997) Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature* 390, 580-586.
29. Goossens HA, van der Bogaard AE, Nohlmans MK (2001). Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(3):844–848.
30. Greer Ng, Fisman D. Climate change and infectious diseases in North America: the road ahead. *VACMAJ*, 2008 Mar 11;178(6):715-22.
31. Gustafson R et al. (1993). Clinical manifestations and antibody prevalence of Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in Sweden: a study in five endemic areas close to Stockholm. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 25(5):595–603.

32. Hanincova K, Schafer SM, Etti S, Sewell HS, Taragelova V, Ziak D, Labuda M, Kurtenbach K (2003b) Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. *Parasitology*, 126, 11-20.
33. Hanincova K, Taragelova V, Koci J, Schafer SM, Hails R, Ullmann AJ, Piesman J, Labuda M, Kurtenbach K (2003a). Association of *Borrelia garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. *Appl Environ Microbiol* 69, 2825-30.
34. Hirota, K., M. Hashimoto, H. Yoshitomi, S. Tanaka, T. Nomura, T. Yamaguchi, Y. Iwakura, N. Sakaguchi & S. Sakaguchi, (2007) T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17+ Th cells that cause autoimmune arthritis. *J Exp Med* 204: 41-47.
35. Hristea A et al. (2001). Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in Romania. *European Journal of Epidemiology*, 17(9):891–896.
36. Humair PF, Gern L (1998). Relationship between *Borrelia burgdorferi* sensu lato species, red squirrels (*Sciurus vulgaris*) and *Ixodes ricinus* in enzootic areas in Switzerland. *Acta Trop* 69, 213- 227.
37. Huppertz HI et al. (1999). Incidence of Lyme borreliosis in the Wurzburg region of Germany. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(10):697–703.
38. Jaenson TGT et al. (1994). Geographical distribution, host associations, and vector roles of ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) in Sweden. *Journal of Medical Entomology*, 31(2):240–256.
39. Johnson RC, Schmid GP, Hyde FH, Steigerwald AG, Berenner DJ (1984) *Borrelia burgdorferi* sp.nov:etiologic agent of Lyme disease. *Int J Syst Bacteriol* 34, 496-497.
40. Kahl O, Gern L., Eisen L, Lane R.S (2002). Ecological research on *Borrelia burgdorferi* sensu lato: terminology and some methodological pitfalls. In: Gray JS, Lane RS, Stanek G (Eds). Lyme borreliosis: *Biology, Epidemiology and Control*, 29-46

41. Kaya AD, Parlak AH, Ozturk CE, Behcet M. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* infection among forestry workers and farmers in Duzce, north-western Turkey. *New Microbiol.* 2008 Apr;31(2):203-9.
42. Kotake, S., N. Udagawa, N. Takahashi, K. Matsuzaki, K. Itoh, S. Ishiyama, S. Saito, K. Inoue, N. Kamatani, M. T. Gillespie, T. J. Martin & T. Suda, (1999) IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 103: 1345-1352.
43. Kuiper H et al. (1993). One year follow-up study to assess the prevalence and incidence of Lyme borreliosis among Dutch forestry workers. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12(6):413–418.
44. Lindgren E (1998). Climate and tick-borne encephalitis. *Conservation Ecology*, 2(1):5:1–14. (<http://www.consecol.org/Journal/vol2/iss1/art5/>, accessed 13 December, 2003).
45. Lindgren E, Gustafson R (2001). Tick-borne encephalitis in Sweden and climate change. *Lancet*, 358:16–18.
46. Lindgren E, Jaenson T. (2006). Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. WHO Regional Office for Europe; document EUR/04/5046250; World Health Organization.
47. Lindgren E, Tälleklint L, Polfeldt T (2000). Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick, *Ixodes ricinus*. *Environmental Health Perspectives*, 108(2):119–123.
48. Mannelli A, Boggiatto G, Grego E, Cinco M, Murgia R, Stefanelli S, De Meneghi D, Rosati S Acarological risk of exposure to agents of tick-born zoonoses in the first recognized Italian focus of Lyme Borreliosis *Epidemiol. Infect.* (2003), 131, 1139 - 1147

49. Marconi RT, Liveris D, Schwartz I (1995) Identification of novel insertion elements, restriction fragments length polymorphism patterns and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: phylogenetic analyses of rRNA and their intergenic spacers in *Borrelia japonica* sp.nov. and genomic group 21038 (*Borrelia andersonii* sp.nov) isolates. *J Clin Microbiol* 30, 2427-2434
50. Matuschka FR, Allgöwer R, Spielman A, Richter D (1999) Characteristics of garden dormice that contribute to their capacity as reservoirs for lyme disease spirochetes. *Appl Environ Microbiol.* 65, 707-711.
51. Matuschka FR, Endepols S, Richter D, Ohlenbusch A, Eiffert H, Spielman A (1996) Risk of urban Lyme disease enhanced by the presence of rats. *J Infect Dis* 174, 1108-1111.
52. Matuschka FR, Fischer P, Heiler M, Blümcke S, Spielman A (1992) Stage-associated risk of transmission of the Lyme disease spirochete by European Ixodes ticks. *Parasitol Res* 78, 695-8.
53. Matyniak, J. E. & S. L. Reiner, (1995) T helper phenotype and genetic susceptibility in experimental Lyme disease. *J Exp Med* 181: 1251-1254.
54. Montiejunas L et al. (1994). Lyme borreliosis in Lithuania. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 26(2):149–155.
55. Mulic R et al. (2000). Lajmska borelioza u Hrvatskoj od 1987. do 1998 - epidemioloski aspekt. Lyme borreliosis in Croatia from 1987 to 1998 – epidemiological aspects. *Lijecnicki Vjesnik*, 122(9–10):214–217.
56. Norris SJ, Carter CJ, Howell JK, Barbour AG (1992). Low-passage-associated proteins of *Borrelia burgdorferi* B31: characterization and molecular cloning of OspD, a surface-exposed, plasmidencoded lipoprotein. *Infect Immun* 60, 4662-4672.
57. Nuti M et al. (1993). Infection in an Alpine environment: antibodies to hantaviruses, leptospira, rickettsiae and *Borrelia burgdorferi* in defined Italian

- populations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 48(1):20–25.
58. Oksi J, Viljanen MK (1995). Tick bites, clinical symptoms of Lyme borreliosis, and borrelia antibody responses in Finnish army recruits training in an endemic region during summer. *Military Medicine*, 160(9):453–456.
59. Olsen B, Duffy DC, Jaenson TG, Gylfe A, Bonnedahl J, Bergstrom S (1995). Transhemispheric exchange of Lyme disease spirochetes by seabirds. *J Clin Microbiol* 33, 3270-4.
60. Pancewicz SA et al. (2001). Wybrane aspekty epidemiologiczne boreliozy z Lyme wśród mieszkańców województwa podlaskiego. [Epidemiologic aspect of Lyme borreliosis among the inhabitants of Podlasie Province]. *Przegląd epidemiologiczny*, 55(3):187–194.
61. Park, H., Z. Li, X. O. Yang, S. H. Chang, R. Nurieva, Y. H. Wang, Y. Wang, L. Hood, Z. Zhu, Q. Tian & C. Dong, (2005) A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 6: 1133-1141.
62. Parola P, Paddock CD, Raoult D. (2005) Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin Microbiol Rev* Oct;18(4):719-56.
63. Parola P, Raoult D. (2001) Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*. Mar 15;32(6):897-928.
64. Pet'ko B, Tresova G, Stefancikova A, Peterkova J, Prokopcakova H, Cislakova L, Stanko M, Fricova J, Skardova I, Sesztakova E, Nadzamova D (1998). Epidemiology of Lyme borreliosis in Slovakia. *Wiad Parazytol*, 44, 391.
65. Postic D, Ras NM, Lane RS, Hendson M, Baranton G (1998). Expanded diversity among Californian borrelia isolates and description of *Borrelia bissettii* sp.nov (formerly *Borrelia* group DN127). *J Clin Microbiol* 36, 3497-3504.

66. Pugliese A, Beltramo T, Torre D. (2007) Seroprevalence study of Tick-borne encephalitis, *Borrelia burgdorferi*, Dengue and Toscana virus in Turin Province. *Cell Biochem Funct.* Mar-Apr;25(2):185-8.
67. Pugliese, Nardelli, D. T., S. M. Callister & R. F. Schell, (2008) Lyme arthritis: current concepts and a change in paradigm. *Clin Vaccine Immunol* 15: 21-34.
68. Randolph SE (2008). Dynamics of tick –borne disease systems:minor role of recent climate change. *Rev sci tech Off int Epiz*, 27, 367-381
69. Randolph SE. (2004) Evidence that climate change has caused 'emergence' of tick-borne diseases in Europe? *Int J Med Microbiol.* Apr;293 Suppl 37:5-15.
70. Raoult D, Roux V. (1997) Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*; 10:694–719.
71. Rauter C, Hartung T (2004) Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe- a Metaanalyses. In: Detection of *Borrelia* infection in ticks and humans. Dissertation, Università di Constanza, 29-47.
72. Richter D, Schlee DB, Allgower R, Matuschka FR (2004). Relationship of a novel Lyme disease spirochete, *Borrelia spielmanii* sp. nov. with its hosts in central Europe. *Appl Environ Microbiol* 70, 6414-6419.
73. Rizzoli A et al. (2002). Geographical information systems and bootstrap aggregation (bagging) of tree-based classifiers for Lyme disease risk prediction in Trentino, Italian Alps. *Journal of Medical Entomology*, 39(3):485–492.
74. Rizzoli A, Rosa R, Mantelli B, Pecchioli E, Hauffe H, Tagliapietra V, Beninati T, Neteler M, Genchi C. (2004). *Ixodes ricinus*, transmitted diseases and reservoirs. *Parassitologia*;46(1-2):119-22.
75. Robertson J, Murdoch S, Foster L, Green S (1999) Isolation and species typing of Lyme borreliosis spirochaetes from UK patients with erythema migrans. *Eur J Epidemiol* 15, 499-500.

76. Robertson JN et al. (1998). Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in blood donors and park rangers in relation to local habitat. *Zentralblatt für Bakteriologie: International Journal of Medical Microbiology*, 288(2):293–301.
77. Robertson JN, Gray JS, Stewart P (2000). Tick bite and Lyme borreliosis risk at a recreational site in England. *European Journal of Epidemiology*, 16(7):647–652.
78. Sadziene A, Wilske B, Ferdows MS, Barbour AG (1993) The cryptic ospC gene of *Borrelia burgdorferi* B31 is located on a circular plasmid. *Infect Immun* 61, 2192-2195.
79. Sambri V, Marangoni A, Storni E, Cavrini F, Moroni A, Sparacino M, Cevenini R. (2004). Tick borne zoonosis: selected clinical and diagnostic aspects. *Parassitologia*;46(1-2):109-13.
80. Santino I et al. (1997). [Geographical incidence of infection with *Borrelia burgdorferi* in Europe.] *Panminerva Medica*, 39(3):208–214
81. Santino I et al. (2002). Detection of four *Borrelia burgdorferi* genospecies and first report of human granulocytic ehrlichiosis agent in *Ixodes ricinus* ticks collected in central Italy. *Epidemiology and Infection*, 129(1):93–97.
82. Satin, B., G. Del Giudice, V. Della Bianca, S. Dusi, C. Laudanna, F. Tonello, D. Kelleher, R. Rappuoli, C. Montecucco & F. Rossi, (2000) The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor. *J Exp Med* 191: 1467-1476.
83. Smith HV, Gray JS, Mckenzie G (1991). A Lyme borreliosis human serosurvey of asymptomatic adults in Ireland. *Zentralblatt für Bakteriologie: International Journal of Medical Microbiology*, 275(3):382–389.
84. Smith R, O'Connell S, Palmer S (2000). Lyme disease surveillance in England and Wales, 1986–1998. *Emerging Infectious Diseases*, 6(4):404–407.

85. Stamouli M et al. (2000). Very low seroprevalence in young Greek males. *European Journal of Epidemiology*, 16(5):495–496.
86. Steere AC (2001). Lyme disease. *The New England Journal of Medicine*, 345:115–125.
87. Steere AC, Sikand VK, Schoen RT, Nowakowski J. (2003) Asymptomatic infection with *Borrelia burgdorferi*. *Clin Infect Dis*. Aug 15;37(4):528-32. Epub 2003 Jul 30.
88. Steere, A. C., B. Falk, E. E. Drouin, L. A. Baxter-Lowe, J. Hammer & G. T. Nepom, (2003) Binding of outer surface protein A and human lymphocyte function-associated antigen 1 peptides to HLA-DR molecules associated with antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. *Arthritis Rheum* 48: 534-540.
89. Štefančíková A et al. (2001). Epidemiological survey of human borreliosis diagnosed in Eastern Slovakia. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 8:171–175.
90. Stefancikova A, Stepanova G, Derdakova M, Pet'ko B, Kysel'ova J, Ciganek J, Strojny L, Cislakova L, Travnicek M. (2002). Serological evidence for *Borrelia burgdorferi* infection associated with clinical signs in dairy cattle in Slovakia. *Vet Res Commun.*; 26(8):601-11.
91. Süß J, Klaus C, Gerstengarbe FW, Werner PC. What makes ticks tick? Climate change, ticks, and tick-borne diseases. *J Travel Med*. 2008 Jan-Feb;15(1):39-45.
92. Tälleklint L, Jaenson TGT (1998). Increasing geographical distribution and density of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in central and northern Sweden. *Journal of Medical Entomology*, 35(4):521–526.
93. Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*;356(1411):983-9.
94. Telford SR III, Dawson JE, Halupka KC. Emergence of tickborne diseases. *Science and Medicine* 1997;4:24–33.

95. Thomas DR et al. (1998). Low rates of ehrlichiosis and Lyme borreliosis in English farm workers. *Epidemiology and Infection*, 121(3):609–614.
96. Travnicek M, Stefancikova A, Nadzamova D, Stanko M, Cislakova L, Pet'ko B, Mardzinova S, Bhide MR. (2002). Seroprevalence of anti-Borrelia burgdorferi antibodies in sheep and goats from mountainous areas of Slovakia. *Ann Agric Environ Med.*;9(2):153-5.
97. Wang G, VanDam AP, Le Fleche A, Postic O, Peter O, Baranton G , de Boer R, Spanjaard L, Dankert J (1997) Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp.nov. *Int J Syst Bacteriol*, 47, 926-932
98. WHO (1995). WHO Workshop on Lyme Borreliosis Diagnosis and Surveillance, Warsaw, Poland, 20-22 June 1995. Geneva, World Health Organization (document WHO/CDS/VPH/95.141).
99. Wormser GP. Clinical practice. Early Lyme disease. *N Engl J Med*. 2006 Jun 29;354(26):2794-801.
100. Zhioua E et al. (1997). Prevalence of antibodies to Borrelia burgdorferi in forestry workers of Ile de France, France. *European Journal of Epidemiology*, 13(8):959–962.

Allegati

SCHEDA INFORMATIVA

Presso il Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Milano è in corso un progetto di ricerca in stretta collaborazione con il Dipartimento di Medicina del Lavoro che ha lo scopo di studiare le **malattie trasmesse da zecche** nei lavoratori del **comparto agricolo forestale**.

Questa ricerca coinvolge diversi allevamenti estensivi, ovi-caprini e bovini, del Piemonte e della Lombardia.

Per svolgere la ricerca è necessaria la collaborazione di lavoratori disponibili a sottoporsi a:

1. intervista sullo stato di salute e sul lavoro svolto dalla fine delle scuole;
2. visita medica generale
3. prelievo di sangue venoso per la ricerca di anticorpi verso alcune malattie trasmesse da zecche

Tutto sarà effettuato da un Medico Specialista in medicina del Lavoro e richiederà circa un'ora di tempo.

Prima di accettare potrà consultarsi con i suoi familiari o con il suo medico di base, se lo ritiene necessario.

La informiamo che i suoi dati personali, ai sensi del D.L. n°196/2003, verranno raccolti ed archiviati in modo adeguato e saranno usati esclusivamente allo scopo della ricerca in forma anonima.

Per qualunque informazione potrà contattare la Dott.ssa Chiara Somaruga (340/2229017).

Firma del Medico Ricercatore
Dott.ssa Chiara Somaruga

Firma del Responsabile del Progetto
Prof. Luigi Bonizzi

CONSENSO ALLA PARTECIPAZIONE ALLO STUDIO

NOME E COGNOME	
INSEDIAMENTO PRODUTTIVO	
INDIRIZZO	
NUMERO DI TELEFONO	

1. Confermo di aver capito le informazioni e di avere avuto l'opportunità di fare domande.
2. Capisco che la mia partecipazione è volontaria e che sono libero/a di ritirarmi in qualsiasi momento, senza dare alcuna spiegazione, senza che la mia assistenza medica e senza che i miei diritti legali vengano interessati.
3. Capisco che la mia cartella clinica possa essere letta dai ricercatori responsabili dello studio *“Tecniche biotecnologiche applicate allo studio diagnostico ed epidemiologico delle malattie di carattere zoonosico trasmesse da zecche”*.
4. Do l'autorizzazione perché questi ricercatori (Prof. Luigi Bonizzi, Dott.ssa Chiara Somaruga) abbiano accesso alla mia cartella clinica.
5. Accetto di partecipare al suddetto studio.

Cognome/Nome Lavoratore Data Firma

Cognome/Nome Medico Data Firma

Allegato 2

SCHEDA PER LA RILEVAZIONE DEI DATI ANAMNESTICI (A)

IDENTIFICATIVO AZIENDA	
IDENTIFICATIVO LAVORATORE	

NOME	NASCITA	SESSO
TITOLARE (sì/no)	ANZIANITA' LAVORATIVA (mesi)	
LAVORO PRINCIPALE/ALTRO LAVORO		
FUMO	ALCOOL	
ABITAZIONE		
CONSUMO DI LATTE/FORMAGGIO CRUDO		

EVENTI PATOLOGICI DI RILIEVO	
Interventi chirurgici	
Ricoveri	
Malattie infettive	
Infortuni	
Terapie in atto	

Zecche negli ultimi 3 mesi	
Zecche negli ultimi 6 mesi	
Zecche negli ultimi 12 mesi	
Zecche negli ultimi 5 anni	
Febbre negli ultimi 3 mesi	
Febbre negli ultimi 6 mesi	
Febbre negli ultimi 12 mesi	
Febbre negli ultimi 5 anni	
Ha assunto antibiotici negli ultimi 12 mesi?	
Linfoadenopatie	
Dolori articolari	
Diagnosi di eritema migrans	

Viaggi in Italia	
Viaggi all'estero	

DATA E LUOGO:

Allegato 3

SCHEDA PER LA RILEVAZIONE DEI DATI ANAMNESTICI (C)

CODICE IDENTIFICATIVO	
-----------------------	--

NOME	NASCITA	SESSO
LAVORO PRINCIPALE/ALTRO LAVORO		
FUMO	ALCOOL	
HOBBIES		
ANIMALI DOMESTICI	HA IL GIARDINO?	
VA A CAMMINARE IN MONTAGNA?		
CONSUMA LATTE E FORMAGGIO CRUDO?		

EVENTI PATOLOGICI DI RILIEVO	
Interventi chirurgici	
Ricoveri	
Malattie infettive	
Infortuni	
Terapie in atto	

Zecche negli ultimi 3 mesi		
Zecche negli ultimi 6 mesi		
Zecche negli ultimi 12 mesi		
Zecche negli ultimi 5 anni		
Febbre negli ultimi 3 mesi		
Febbre negli ultimi 6 mesi		
Febbre negli ultimi 12 mesi		
Febbre negli ultimi 5 anni		
Ha assunto antibiotici negli ultimi 12 mesi?		
Linfoadenopatie		
Dolori articolari		
Diagnosi di eritema migrans		
Viaggi in Italia	Anno	Luogo
Viaggi all'estero	Anno	Luogo

DATA E LUOGO

Allegato 4

U. O. C. di Medicina del Lavoro
Direttore: Prof. Gabri Brambilla
-Centro Internazionale per la Salute Rurale-

CARTELLA SANITARIA E DI RISCHIO

Lavoratoresesso M F

Nato il Luogo di nascita
.....

Codice fiscale

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Domicilio (Comune e Prov.)
.....CAP.....

Via Tel.
.....

E-mail.....Cell.
.....

Residenza (Comune e Prov.)
.....Via.....

Stato Civile: Coniugato Celibe/nubile
Altro.....

Medico curante
Dott.....

Indirizzo..... Tel.
.....

La presente cartella sanitaria e di rischio è istituita per:

- prima istituzione esaurimento del documento precedente
- altri motivi

Datore di lavoroData di assunzione.....

Attività dell'Azienda pubblica o privata
.....

Tipo di contratto: T. Indeterminato T. Determinato Stagionale
.....

Sede/i di
lavoro.....

Il Medico Competente

La presente cartella sanitaria e di rischio è costituita da n° pagine.

VISITA MEDICA PREVENTIVA

Data: _____

MANSIONE: _____

DESCRIZIONE COMPITI

LAVORATIVI:.....

.....

.....

.....

FATTORI DI RISCHIO PROFESSIONALE

- **Rumore** Misura Stima
 - L ex 8h < 80 dBA e/o ppeak < 135 dBC
 - L ex 8h tra 80 e 85 dBA e/o ppeak tra 135 e 137 dBC
 - L ex 8h tra 85 e 87 dBA e/o ppeak tra 137 e 140 dBC
 - L ex 8h > 87 dBA e/o L ex 2000h > 85 dBA, ppeak > 140 dBC

DPI in uso: dispositivi intra auricolari capsule canalari cuffie elmetto

Fonti di esposizione.....

- **Cancerogeni:** NO SI

Preparato o sostanza	Modalità d'uso	Via di esposizione	Tempo di uso/settim	Limiti di riferimento	Monit. ambientale	Monit. biologico

- **Agenti chimici:** NO SI **Rischio chimico:** MODERATO; NON

MODERATO

Preparato o sostanza	Modalità d'uso	Via di esposizione	Tempo di uso/settim	Limiti di riferimento	Monit. ambientale	Monit. biologico

- **Agenti biologici** NO SI

Fonte di esposizione:

animali: bovini suini ovi-caprini equini volatili Ittico altro.....

ambiente

- Attività a rischio:
- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> carico-scarico di animali | <input type="checkbox"/> alimentazione |
| <input type="checkbox"/> rimozione deiezioni – concimazione campi | <input type="checkbox"/> somministrazione farmaci/vaccini |
| <input type="checkbox"/> fecondazione | <input type="checkbox"/> assistenza al parto |
| <input type="checkbox"/> mungitura | |

- **Movimentazione manuale dei carichi:**

NO SI indice NIOSH (se applicabile)

Attività a rischio: carico-scarico di animali movimentazione sacchi mangimi

piccole macchine operatrici

- **Movimenti ripetitivi arti superiori:**

NO SI indice di rischio OCCRA (se applicabile)

- **Posture:** NO SI

- **Vibrazioni:** NO

SI WBV (corpo intero) A(8) (..... m/s²)

Profilo per mansione.....

SI HAV (mano braccio) A(8) (..... m/s²)

Profilo per mansione

- **Radiazioni non ionizzanti:** NO SI

- UV.._____ IR _____ Laser _____
- **Radiazioni Ionizzanti** < 6 mSv anno NO SI
 - **Videoterminali:** NO SI
h/sett.....
 - **Lavoro notturno:** NO SI >80 NOTTI/ANNO; < 80 NOTTI ANNO
- _____
- **Lavoro a turni:** NO SI
.....
 - **Lavori in quota / sospesi:** NO SI
.....
 - **Mansioni tabellate a rischio alcol / sostanze psicoattive:** NO SI
.....
.....
.....
 - **Altri rischi:**.....
.....
.....

PROGRAMMA DI SORVEGLIANZA SANITARIA

MANSIONE:

RISCHIO	ACCERTAMENTI	ALLEGATO	PERIODICITA' (mesi)
	ECG		
	PFR		
	AUDIOMETRIA		
	E.E. (emocromo, formula leucocitaria, QSP, funzionalità epatica e renale, glicemia, proteine totali)		
	Esame delle urine		
	E.E. Health Promotion (trigliceridi, colesterolo,...)		
	RACHIDE		
	ARTO SUPERIORE		
	VALUTAZ. ERGOFTALMOLOGICA		
	QUEST. LAVORO IN ALTEZZA		

	QUEST. LAVORO NOTTURNO		
	QUEST PAT. RESPIRATORIE		
	QUEST. RISCHIO CARDIOVASCOLARE		
	QUEST. SOSTANZE D'ABUSO		

ANAMNESI LAVORATIVA:

Esposizioni precedenti: NO SI Anno di inizio lavoro

Periodo (inizio-fine):	Azienda (nome, indirizzo) :	Mansioni svolte e durata (%) della singola mansione sul totale	Fattori di rischio:

Periodi di
inattività: _____

Contemporanea esposizione presso altri datori di lavoro o attività professionale autonoma: NO
 SI

.....
.....

Intolleranze all'uso di DPI nelle attività precedenti NO SI

.....
.....
.....

Prescrizioni, limitazioni od inidoneità nelle attività precedenti NO SI

.....
.....
.....

Altre notizie utili ai fini anamnestici lavorativi:

.....
.....
.....

ANAMNESI FAMILIARE:

Figli ♂ Numero.....Viventi.....
♀ Numero.....Viventi.....Aborti.....

Time to pregnancy:
Infertilità di coppia.....

Patologie di rilievo in ascendenti e/o collaterali: NO SI

.....
.....
.....

ANAMNESI FISIOLÓGICA:

Alimentazione: Mista
 vegetariana
 Carnea
 antiallergica
 Altro(celiaca,etc.)

Digestione: regolare dispepsia altro _____

Alvo: regolare stipsi alterno diarroico altro: _____

Diuresi: regolare nicturia altro _____

♀: Menarca: all'età di: _____
Cicli mestruali regolari irregolari
Menopausa: all'età di: _____ fisiologica chirurgica farmacologica
Gravidanze: NO SI: n. a termine con taglio cesareo altro
Aborti spontanei: NO SI:

Ritmo sonno/veglia: regolare insonnia ipersonnia altro: _____

Assunzione NO SI: Vino: unità alcoliche/ die: dal: al:
bevande Birra: unità alcoliche/ die dal: al:
alcoliche: Superalcolici: unità alcoliche/ die dal: al:

Caffè: NO SI: Numero di tazze die: _____
 The: NO SI: Numero di tazze die: _____

Fumatore: NO SI: Sigaretta: numero die: _____ Dal _____ ha smesso il: _____
 Sigaro: numero die: _____ Dal _____ ha smesso il: _____
 EX Pipa: numero die: _____ Dal _____ ha smesso il: _____

Uso di sostanze stupefacenti: NO SI: cannabinoidi: pregressa in atto
 eroina: pregressa in atto
 cocaina: pregressa in atto
 sintetiche: pregressa in atto

Assunzione abituale di farmaci: NO SI:

Attività sportive praticate: NO SI non agonistico: tipo: _____
 agonistico: tipo: _____
 saltuario: tipo: _____

Patente di guida: NO SI: A B altre _____

Servizio Militare o civile: SI NO: Riformato: Esentato: Non obbligo _____

Allergie/intolleranze: NO SI _____

Scolarità ANALFABETA OBBLIGO SCUOLA SUPERIORE LAUREA

Donatore di sangue SI NO

Hobbies: _____

Vaccinazioni:

Tipo di vaccinazione:	Data Ultimo richiamo valido	Data Successivo richiamo	Data Successivo richiamo	Titolo anticorpi: (data)	Commenti
Antitetanica					

ANAMNESI PATOLOGICA REMOTA

PATOLOGIA PER APPARATO	ANNO	DESCRIZIONE
------------------------	------	-------------

AFFEZ. SISTEMA NERVOSO (CENTRALE E PERIFERICO)		
AFFEZ. MUSCOLO -SCHELETRICHE		
AFFEZ. SISTEMA CARDIOVASCOLA		
AFFEZIONI RESPIRATORIE		
AFFEZ. GASTROINTESTINALI		
AFFEZ. SISTEMA ENDOCRINO		
UROPATIE E NEFROPATIE		
PATOLOGIA RIPRODUTTIVA		
DERMOPATIE		
ALLERGOPATIE		
<i>INTERVENTI CHIRURGICI</i>		

INFORTUNI (anche biologici)	ANN O	DESCRIZIONE	lavorativo (SI/NO)	Denuncia (SI/NO)

Malattie professionali: NO SI

Data di denuncia	Natura e causa	Data di riconoscimento	Invalità (%)

--	--	--	--

Altre invalidità riconosciute: NO SI

Data di denuncia	Natura e causa	Data di riconoscimento	Invalidità (%)

ANAMNESI PATOLOGICA PROSSIMA E STATO ATTUALE

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Il Sottoscritto dichiara che quanto riferito al Medico e, quindi riportato nell'anamnesi, corrisponde al vero.
Il Sottoscritto si impegna, inoltre, ad informarlo in futuro, su ogni variazione del proprio stato di salute.

Data **Per presa visione, il Lavoratore**

.....

ESAME OBIETTIVO GENERALE

PESO:

ALTEZZA:

BMI:

CIRC. VITA:

<i>APPARATO</i>	NORMALE	ALTERATO: DESCRIZIONE
CUTE e ANNESSI		
LINFONODI		
CAPO E COLLO		
APPARATO CARDIOVASCOLARE PA: _____ FC: _____		
APPARATO RESPIRATORIO		
ADDOME		
RACHIDE		
ARTI SUPERIORI		
ARTI INFERIORI		
SNC		
SNP		

Valutazioni conclusive dei dati clinico-anamnestici e dei risultati degli accertamenti integrativi, in relazione ai rischi occupazionali:

.....

.....

.....

.....

.....

Giudizio di idoneità alla mansione:

- IDONEO
- IDONEO CON LA SEGUENTE
PRESCRIZIONE.....
.....
.....
- IDONEO CON LA SEGUENTE
LIMITAZIONE.....
.....
.....
- TEMPORANEAMENTE NON IDONEO
.....
.....
- PERMANENTEMENTE NON IDONEO

OSSERVAZIONI e/o CONSIGLI:

.....
.....
.....
.....
.....

Luogo e data:

**Il Medico
Competente
(Timbro e firma)**

MALATTIE SOGGETTE A SEGNALAZIONE OBBLIGATORIA E TEMPI DI TRASMISSIONE AL SERVIZIO IGIENE

Classe 1	
Malattie infettive soggette a segnalazione obbligatoria anche nei casi sospetti	termine di segnalazione
Botulismo	12 ore
Colera	12 ore
Difterite	12 ore
Febbre Gialla	12 ore
Febbre Ricorrente	12 ore
Febbri Emorragiche Virali (Lassa , Marburg , Ebola)	12 ore
Influenza Con Isolamento Virale	12 ore
Peste	12 ore
Poliomielite	12 ore
Rabbia	12 ore
Tetano	12 ore
Tifo Esantematico	12 ore
Trichinosi	12 ore

CLASSE 2	
Malattie infettive soggette a segnalazione obbligatoria	termine di segnalazione

Meningite e sepsi Menigococcica anche nei casi sospetti	12 ore
Febbre tifoide anche nei casi sospetti	12 ore
Salmonellosi non tifoidea (Come Da Modifica Circ.15 Reg.Lombardia 18.6.96)	12 ore
Blenorragia	48 ore
Brucellosi	48 ore
Diarrea Infettiva (Non Da Salmonella)	48 ore
Epatite Virale A ; B ; Nanb ; Non Specificata	48 ore
Legionellosi	48 ore
Leishmaniosi Cutanea E Viscerale	48 ore
Leptosirosi	48 ore
Meningite ed encefalite acuta virale	48 ore
Morbillo	48 ore
Parotite Epidemica	48 ore
Pertosse	48 ore
Rickettsiosi	48 ore
Rosolia	48 ore
Scarlattina	48 ore

Sifilide	48 ore
Tularemia	48 ore
Varicella	48 ore
Listeriosi (Compresa La Meningite Da Listeria)	48 ore
CLASSE 3	
Malattie infettive soggette a segnalazione obbligatoria	termine di segnalazione
AIDS (modello di segnalazione e flusso specifico)	48 ore
Lebbra	48 ore
Malaria	48 ore
Micobatteriosi Non Polmonare	48 ore
Tbc Polmonare Ed Extra- Polmonare (Anche Nei Casi Sospetti)	48 ore
classe 4	
Malattie infettive soggette a segnalazione obbligatoria	termine di segnalazione
Infezioni; Tossinfezioni; Infestazioni di Origine Alimentare (anche sospette)	12 ore
Dermatofitosi	24 ore
Pediculosi	24 ore
Scabbia	24 ore
classe 5	
Malattie infettive soggette a segnalazione obbligatoria	termine di segnalazione
Meningiti Batteriche (Escluse	12 ore

Le Meningococciche Già Comprese In Classe 2°)	
Rosolia congenita	48 ore
Malattia di Lyme	48 ore
Zoonosi (Carbonchio; Morva ; Ecc.)	48 ore
Parassitosi da Protozoi e da Elminti (Amebiasi, Anchilostomiasi, Schistosomiasi Ecc.)	48 ore
Ogni malattia infettiva non compresa nelle classi precedenti che possa costituire pericolo per la salute pubblica	