

Malattie trasmesse da vettori. Convegno a Napoli

LA MALATTIA DI LYME tra il cane e l'uomo



Un approccio interdisciplinare alla borreliosi è fondamentale per una gestione ottimale della patologia. Per questo motivo è necessario più che mai il confronto fra mondo medico umano e veterinario.

Il 7° congresso nazionale del Gruppo italiano per lo studio della malattia di Lyme (Gisml) che si è recentemente tenuto a Napoli¹ in collaborazione all'associazione Lyme Italia e con il patrocinio dell'Università degli studi di Napoli Federico II, ha offerto un'interessante occasione di confronto fra mondo medico umano e veterinario. Tutti i relatori, infatti, sono stati concordi sull'importanza di un approccio interdisciplinare alla malattia, una sorta di integrazione dei saperi, come detto da Vincenzo Giordano, direttore sanitario dell'Asl Napoli 1 centro.

A livello mondiale si registrano 700.000 circa morti l'anno per *vector borne disease*, soprattutto in America. In Italia, in un articolo del prof. Otranto del 2014, riportato nel Bollettino epidemiologico del Ministero della Sanità, si segnalano 4.604 casi di malattie trasmesse da zecche all'uomo e 33 decessi nel periodo tra il 1998 e il 2002. Il maggior numero di casi registrato è in Sud Italia e nelle Isole.

La malattia di Lyme è una *tick borne disease*. Nell'uomo si hanno manifestazioni multisistemiche (dermatologiche, soprattutto sotto forma di eritema migrante, neurologiche, cardiache e articolari), che colpiscono in modo più grave le fasce di popolazione più fragili. Nonostante sia inserita nell'elenco delle malattie rare, il numero di casi è in aumento a livello mondiale². Una

possibile spiegazione di questo aumento è data dalle mutate condizioni ambientali, che favoriscono l'ampliamento dell'habitat del vettore, e dalla movimentazione degli animali e dell'uomo. Sono oggi più esposti all'attacco delle zecche non solo determinate categorie professionali (pastori, agricoltori, cacciatori ecc.), ma anche escursionisti e turisti in generale. Le aggressioni diventano sempre più frequenti in varie aree turistiche tanto da spingere in alcuni casi a trattare i prati con antiparassitari.

In Italia sono state isolate 40 specie di zecche (7 Argasidae, o zecche molli, e 33 Ixodidae), di cui 18 sono state reperite almeno una volta anche sull'uomo: sulla diffusione di queste ultime non vi sono molti dati, ma si è accertato che *Ixodes*, *Rhipicephalus* e *Dermacentor* sono le più frequentemente riscontrate. *Ixodes*, inoltre, sembra avere una capacità vettoriale più spiccata rispetto alle altre. Tra i principali serbatoi di

infestazione si identificano i cervi e, in generale, gli animali selvatici, come dimostrato in Nord America e in Trentino. La prof.ssa Maria Teresa Manfredi (docente di Parassitologia e malattie parassitarie, Dipartimento di Medicina veterinaria, Milano) ha sottolineato come nella creazione di corridoi biologici di collegamento tra aree verdi

per le specie selvatiche sarebbe auspicabile una maggior collaborazione tra biologi e veterinari in modo da tenere conto anche degli aspetti parassitologici e infettivi. L'aumento e le variazioni delle temperature e della piovosità sono tutte caratteristiche da tenere in considerazione.

IXODES RICINUS SEMPRE PIÙ DIFFUSA

Ixodes ricinus è presente in Europa e in parte dell'Asia. Se fino a pochi anni fa si riteneva che avesse il suo habitat tra i 600 e i 1.500 metri di altitudine, recentemente alcuni esemplari sono stati repertati anche in Pianura Padana e addirittura fino ai 2.000 metri di altitudine in Spagna, seppur con distribuzione non omogenea.



Sotto i 5 °C l'attività della zecca dovrebbe cessare. Nella zona mediterranea a clima temperato si osservano due picchi di popolazione: uno alla fine della primavera e un altro - più contenuto - all'inizio dell'autunno. Nel Nord Europa a clima più rigido vi è invece un solo picco in primavera - estate.

Questa specie di zecca predilige le zone coperte di foreste a latifoglie o aree arbustive, aree ecotonali tra bosco e prato. Non ama infatti gli spazi aperti assolati poiché teme la disidratazione, soprattutto nello stadio larvale. Inoltre, le aree boschive offrono più occasioni di incontrare l'ospite per effettuare il pasto di sangue necessario per la muta. *Ixodes*, zecca trifasica, compie il pasto di sangue allo stadio di larva e ninfa su piccoli mammiferi, per prediligere da adulta mammiferi più grandi. Sale sull'ospite per il tempo del pasto, quindi ritorna nell'ambiente, alternando momenti di attività a fasi anche lunghe di diapausa. Per captare l'arrivo dell'ospite, oltre a utilizzare occhi semplici posti sullo scudo dorsale, la zecca assume il cosiddetto "atteggiamento di questua": sale sulla vegetazione ed estende il primo paio di zampe anteriori dove sono presenti recettori che le fanno percepire le variazioni fisiche e chimiche (ad esempio, vibrazioni del terreno e aumento dei livelli di CO₂ o acido lattico) che anticipano l'arrivo dell'ospite. Durante il pasto di sangue vengono veicolati nell'ospite i patogeni di cui lei stessa è stata infettata nello stadio precedente. Nonostante sia stata segnalata l'infezione a qualunque stadio e anche recentemente il passaggio transovarico, lo stadio larvale sembra essere il più colpito. Tra i vari patogeni inoculabili figura anche l'agente della malattia di Lyme, *Borrelia burgdorferi*, che presenta diverse varianti genetiche.

La prof.ssa Manfredi ha inoltre citato *Borrelia afzelii* il cui ciclo è sostenuto da zecche che parasitano micromammiferi come roditori e arvicole, *B. garinii* e *B. valesiana* negli uccelli, soprattutto tordi.

Borrelia produce diverse lipoproteine che la aiutano a eludere le difese del vettore in tutte le varie fasi: dalla disseminazione a tutto il periodo di quiescenza fino al momento in cui si concentra nelle ghiandole salivari. Inoltre, il comportamento di *cofeeding* delle zecche sull'ospite facilita la mescolanza dei prodotti salivari e il passaggio del patogeno.

Il tasso di infezione nelle zecche è variabile da zona a zona: in Europa, da analisi sulle ninfe, si attesta globalmente intorno al 10%.

ZECCHIE NEI CANI PADRONALI: UN'INDAGINE IN ITALIA

L'analisi della situazione parassitologica degli animali padronali in Italia è importante per comprendere i patogeni che possono essere trasmessi e i rischi a cui sono sottoposti sia l'animale sia l'uomo. Il prof. Giuseppe Cringoli (Dipartimento di Medicina veterinaria, Università di Napoli Federico II) ha riferito gli esiti di uno studio promosso dalle Università di Napoli e Torino che ha analizzato la situazione italiana nei cani padrona-

li.³ Sulla scia dell'indagine svolta nel Regno Unito dal prof. Richard Wall (Università di Bristol) nel 2015, hanno preso il via progetti nazionali che prevedono l'identificazione delle zecche presenti sul territorio e dei patogeni da esse trasmessi. Questo tipo di ricerca è stata condotta anche in Belgio, Grecia, Spagna e Russia.

L'attenzione è stata focalizzata su protozoi come *Babesia* e *Theileria*, e su batteri come *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Borrelia* per le forti implicazioni cliniche di questi patogeni sia in Medicina veterinaria che umana.

Lo studio italiano è stato condotto da febbraio 2016 a settembre 2017, in 64 Province italiane, utilizzate come unità geografica nel protocollo di arruolamento. A ogni veterinario partecipante è stato fornito un kit comprendente il protocollo dello studio, questionari, dispositivi per rimuovere le zecche, provette e targhette identificative. Si è proceduto alla randomizzazione dei cani che sono stati analizzati per circa 15-20 minuti su undici aree di selezione (testa, muso, collo, ascelle, dorso, addome, ano, vagina, arti, spazio interdigitale e coda). Gli esemplari di zecca raccolti sono stati inviati ai laboratori accompagnati dal questionario dove era indicato il veterinario curante, il segnalamento, la data e le abitudini di vita del cane, oltre all'ambiente circostante. Inoltre dovevano essere indicati eventuali trattamenti ectoparassitocidi e in che sito erano state repertate le zecche inviate.

I laboratori di parassitologia napoletani e torinesi hanno compiuto l'identificazione utilizzando le Linee guida Eurnegvec (*European network for neglected vectors & vector-borne infections*) e la letteratura scientifica pubblicata dal prof. Estrada-Peña (Facoltà di Veterinaria di Saragozza, Spagna), massimo esperto europeo di zecche. Qualora necessario, sono ricorsi per l'identificazione alla biologia molecolare.

Allo studio hanno partecipato 153 veterinari di 64 Province di 17 Regioni (85% delle Regioni italiane). Dei 3.026 cani arruolati con un'età compresa tra 1 e 17 anni (mediana 4 anni), 1.459 presentavano almeno una zecca e, in generale, sono state repertate da 1 a 44 zecche per cane.

In totale le zecche sono state 2.716 con una prevalenza del 48,2%.

I siti da cui sono stati raccolti più esemplari erano: testa 37%, collo 29%, muso 15% e dorso 15%. Nonostante non siano state identificate correlazioni significative tra genere di zecca e area di reperto sul cane, *R. sanguineus* ha mostrato una maggior predilezione per gli spazi interdigitali rispetto a *Ixodes* (10,8% vs 0,2%; rispettivamente). Sono stati isolati 4 generi: *Rhipicephalus* 64,2%, *Ixodes* 36,7%, *Dermacentor* 0,7%, *Haemaphysalis* 0,2%.

Le specie riscontrate sono state 14, le più frequenti appartenevano al gruppo *R. sanguineus* che comprende *R. sanguineus sensu lato*, *R. pusillus*, *R. turanicus* e *R. sp. I*.

Questo risultato è in linea con gli studi effettuati in Grecia e Spagna che segnalano una prevalenza maggiore di *R. sanguineus*. In Belgio e

Regno Unito prevale invece *Ixodes*, e in Russia *Dermacentor*.

Gli esemplari raccolti erano soprattutto adulti, seguiti da ninfe e infine larve.

Ventiquattro cani presentavano infestazioni miste di più specie.

Tra le specie presenti in Italia, *Rhipicephalus* era la più rappresentata al sud, mentre *Ixodes* è risultata più presente al nord. Al proposito è stato ricordato quanto ipotizzato dal prof. Domenico Otranto (Università di Bari), che in uno studio ha ipotizzato che questa differenza di prevalenza fosse da correlare alla predilezione di *Rhipicephalus* per temperature tra i 23-35 °C e umidità relativa tra il 35% e il 95%; *Ixodes* ama climi più "continentali" con temperature sui 20-23 °C e umidità tra il 95% e 98%. *Dermacentor* mostra una diffusione limitata a Piemonte e Lombardia e *Haemaphysalis* sembra essere presente solo in Campania e Calabria.

Tra i fattori di rischio di infestazione dei cani sono stati individuati la lunghezza del pelo e la vita in ambiente rurale/silvestre o comunque in ambiente esterno.

I PATOGENI TRASMESSI

Per analizzare i patogeni trasmessi è stato creato per ogni cane un *pool* di zecche omogeneo per specie, stadio di sviluppo e sesso. Questi *pools* sono stati analizzati con PCR e sequenziamento per ricercare *Borrelia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Theileria* e *Babesia*.

Nelle zecche *Ixodes ricinus* è stata repertata una prevalenza maggiore di *Babesia* e *Theileria*, soprattutto nelle femmine ingorgate. I cani meno a rischio sono risultati quelli che frequentano solo ambienti urbani. Sono state tipizzate 9 specie di *Babesia* e 5 di *Theileria*.

L'analisi su 53 Province ha mostrato che le specie zoonotiche di *Babesia* erano presenti in 36 di queste mentre tutte le altre presentavano specie miste ed esclusivamente solo in quella di Benevento erano presenti solo quelle canine (*B. canis* e *B. vogeli*).

Anaplasma ed *Ehrlichia* sono state isolate con maggiore prevalenza in femmine ingorgate di *I. ricinus* provenienti da cani che frequentavano ambiente silvestre. Sono state identificate 4 specie di *Anaplasma* e 2 di *Ehrlichia*.

Di *Anaplasma sensu lato* (*burgdorferi sensu stricto* e *afzelii*) sono state isolate 2 specie in zecche (non solo *Ixodes* ma anche *R. sanguineus* e *R. turanicus*) prelevate da 10 cani provenienti da 9 Province. Tutte le femmine adulte risultate PCR positive per *Borrelia* erano per la maggior parte non ingorgate. La maggioranza di questi cani frequentavano l'ambiente di vita rurale e silvestre, ma alcuni vivevano in ambiente esclusivamente urbano.

Questi risultati relativi all'analisi dei patogeni sono in via di pubblicazione, e sono importanti per sviluppare misure di controllo e aiutare a comprendere pienamente l'importanza della prevenzione delle infestazioni parassitarie in un'ottica *One Health*.

BORRELIA E IL BIOFILM

L'identificazione di *Borrelia burgdorferi* come agente eziologico della malattia di Lyme risale al 1983. In Italia, il primo caso registrato è stato a Chiavari nei primi anni '80; successivamente riscono riscontrati casi Trieste.

Nonostante le terapie antimicrobiche in molti casi siano efficaci, si registra una persistenza di questa spirocheta anche dopo cicli ripetuti di antibiotico, il che ha fatto presupporre una capacità di *Borrelia* di creare biofilm a scopo difensivo. Questo è stato evidenziato sia *in vitro* sia *in vivo*⁴. Il biofilm, matrice composta da sostanza polimerica extracellulare formata da DNA, polisaccaridi e proteine e creata dai batteri stessi, conferisce loro caratteristiche di resistenza agli attacchi sia del sistema immunitario dell'ospite sia degli agenti antimicrobici. Inoltre, il batterio da fase planctonica a biofilm cambia l'espressione genica del

40-60%. Gli stessi tassi di crescita sono diversi: nel biofilm i batteri crescono più lentamente, cosa che permette loro di eludere alcuni antibiotici che hanno come bersaglio le fasi della replicazione. In sintesi, all'arrivo dell'antimicrobico, i batteri in fase di attiva replicazione situati nello strato superficiale del biofilm vengono uccisi, ma prima di ciò, inviano segnali ai batteri sottostanti permettendo a queste di attivare tramite regolazione genica, la cosiddetta risposta SOS, per fronteggiare più rapidamente nuovi cicli di terapia. Ancora più in profondità, in zone difficilmente raggiungibili dall'antimicrobico per ostacoli di natura sia fisica sia chimica, alcune cellule vanno in quiescenza fino a riattivarsi nel momento in cui si verificano condizioni più favorevoli. Il biofilm, inoltre, aggregando anche diverse specie batteriche, facilita lo scambio di materiale genico sotto forma di plasmidi.

Nel 10% dei pazienti con Lyme la terapia anti-

microbica fallisce, pur utilizzando farmaci con un *killing* del 100% della spirocheta in forma planctonica.

Lo studio dei meccanismi della produzione del biofilm permette di comprendere come batteri sensibili in fase planctonica siano tolleranti e persistenti *in vivo*. È stato messo quindi a punto un kit di analisi per stabilire se il microrganismo sia un forte, medio o basso produttore di biofilm: il *Clinical Biofilm Ring test* è composto da una piastra a 96 pozzetti con terreno in cui sono presenti nanoparticelle magnetiche. Una volta seminato e incubato il batterio, si stima che generalmente in circa 5 ore (*Borrelia* richiede 24/48 ore) questo formi il cosiddetto biofilm maturo. A questo punto la piastra viene messa in contatto con un magnete: se le nanoparticelle non sono state inglobate nel biofilm, perché non presente, risulteranno aggregati visibili come hotspot neri, che saranno

Position statement Wsava

Undici associazioni per l'ARMONIZZAZIONE MONDIALE DELLA DISPONIBILITÀ DI FARMACI VETERINARI

Undici associazioni veterinarie mondiali hanno firmato una presa di posizione che chiede maggiori convergenza e armonizzazione delle norme che regolano l'accesso ai farmaci veterinari, per garantire che i veterinari di tutto il mondo possano realmente avere a disposizione quelli di cui hanno bisogno per trattare i loro pazienti. La dichiarazione è stata uno dei risultati dell'incontro che il nuovo Gruppo di lavoro sulle Linee guida terapeutiche (TGG) della Wsava ha convocato durante il Congresso mondiale di luglio di Toronto (Canada), a cui hanno partecipato i vertici delle associazioni veterinarie globali e delle parti

interessate per discutere di potenziali soluzioni, ed è solo l'ultimo passo di una vasta campagna promossa allo scopo di far sì che tutti i professionisti che si occupano di pet abbiano uguale possibilità di accesso ai farmaci nei diversi Paesi.

Il TGG è nato per "garantire le migliori pratiche per la selezione e l'uso di medicinali, comprese la loro qualità, disponibilità ed uso responsabile negli animali da compagnia, prevedendo al contempo la partecipazione delle parti interessate e della Wsava Global Community nell'ambito del concetto di One Health".

La campagna sulla disponibilità di farmaci intende

mantenere alta la sensibilizzazione sui problemi legati alla regolamentazione dei farmaci, ma anche invitare i governi e gli organismi regolatori a mettere in atto azioni concrete in tal senso.

Infatti, come ha indicato la Wsava, "l'accesso limitato ai farmaci veterinari dovuto a problemi normativi in diverse regioni del mondo, tra cui Europa orientale, Africa e Asia, è un problema di vecchia data e limita gli sforzi di molti veterinari per fornire cure ottimali ai loro pazienti". Tra i farmaci di difficile accesso ve ne sono anche di essenziali, come quelli necessari per controllare adeguatamente il dolore, questo fa sì che molti

IN BREVE

MammalNet, un'App per raccogliere dati sui mammiferi selvatici in Europa

Gli animali selvatici sono importanti per la sicurezza alimentare perché possono contribuire alla diffusione di malattie e virus tra gli animali d'allevamento. Ad esempio l'attuale diffusione della peste suina africana nell'Europa sudorientale è strettamente legata agli spostamenti dei cinghiali selvatici nella regione. Un'equipe internazionale sponsorizzata dall'Efsa ha progettato una piattaforma di *crowdsourcing* denominata MammalNet¹ che può raccogliere dati da "scienziati in funzione di privati cittadini" che s'imbattono in queste specie durante il lavoro o il tempo libero. Sono invitati a contribuire anche i fotografi dilettanti e i professionisti che utilizzano trappole fotografiche (ambientalisti, ricercatori/osservatori dell'ambiente,

cacciatori, agricoltori, guardiaparchi, escursionisti, scalatori, alpinisti, ciclisti, sciatori e altri; amministrazioni e centri visitatori in aree naturali/riserve protette, uffici turistici, consigli presso le comunità rurali, scuole, università e aziende che operano nel settore ambientale). Queste persone e organismi possono contribuire segnalando avvistamenti di animali necessari per il progetto, oppure promuovendo l'iniziativa e l'app tra i visitatori, i clienti, il personale e le comunità locali. Quando si carica una foto, l'applicazione seleziona la specie corretta e salva automaticamente le coordinate del luogo in cui è stata scattata. Attualmente è stata attivata la prima fase del progetto a cui partecipano: Croazia, Germania, Polonia e Spagna. Nella

seconda fase, dal maggio 2020, il progetto sarà esteso al resto d'Europa. È indetto un concorso per premiare la «foto del mese» e ci sono anche dei quiz. Più persone saranno coinvolte, più è probabile che i dati saranno della qualità necessaria per coadiuvare le valutazioni scientifiche. Questo lavoro scientifico potrà avere effetti importanti non solo sulla salute degli animali e sulle relative questioni di sicurezza alimentare, ma anche sul benessere economico delle comunità rurali e degli agricoltori.

¹ Scaricabile da:
<https://play.google.com/store/apps/details?id=uk.ac.ceh.imammalia&hl=en>
<https://apps.apple.com/app/id1480199644>

assenti nel caso ibatteeri abbiano formato biofilm⁵. Alla luce di quanto finora esposto è allo studio anche l'allestimento di un antibiofilmogramma. L'analisi genomica di alcuni pazienti ha permesso di identificare geni che codificano per caratteristiche del sistema immunitario che si oppongono alla formazione del biofilm e che spiegherebbero, e forse potrebbero predire, la diversa evoluzione delle infezioni nei pazienti. ■

Chiara Galbiati

1. Napoli, 18-19/10/2019. www.associazionelymeitalia.org

2. Schotthoefer AM et al. Clin Lab Med 2015;35(4):723-743

3. Maurelli MP et al. Parasit Vectors 2018;11(1):420-9

4. Di Domenico EG et al. Front neurol 2018; 9:1048

5. Cavallo I, Domenico EG. Congresso nazionale italiano, Gruppo italiano per lo studio della malattia di Lyme; Milano 2018

animali siano costretti a sopportare gravi sofferenze non necessarie.

In un sondaggio condotto dalla Wsava tra i suoi membri nel periodo 2016-2017, tre quarti degli intervistati hanno confermato che i problemi di accesso ai farmaci veterinari hanno ostacolato la loro capacità di soddisfare le esigenze dei loro pazienti e il 20% ha valutato questo problema come una grave limitazione della loro capacità di fornire un elevato livello di assistenza.

Walt Ingwersen, ex presidente Wsava, ha sottolineato che *“la difficoltà di accesso ai farmaci per curare i pazienti è un problema critico per i veterinari per animali da compagnia in molte parti del mondo, che provoca grande frustrazione e significa che molti animali domestici in tutto il mondo non ricevono cure ottimali. È una situazione che richiede cambiamenti urgenti”*. Tra problemi che riguardano la fornitura di farmaci, Ingwersen ritiene che uno dei più gravi sia *“la duplicazione del processo di approvazione dei farmaci in diverse regioni del mondo”*.

A seguito di questa dichiarazione, la Wsava ha fatto sapere che presto sarà disponibile una serie di strumenti pratici per aiutare i veterinari e le loro associazioni a esercitare pressioni sui propri governi e organi di regolamentazione.

La dichiarazione è stata sostenuta da:

- World Veterinary Association;
- HealthforAnimals;
- Federation of European Companion Animal Veterinary Associations;
- Commonwealth Veterinary Association;
- Federación Iberoamericana de Asociaciones Veterinarias de Animales de Compañía;
- Asian Small Animal Veterinary Associations;
- Federation of Veterinarians of Europe;
- Federation of Asian Veterinary Associations;
- Fédération des Associations Francophones Vétérinaires pour Animaux de Compagnie;
- Caribbean Veterinary Medical Association. ■

Fonte: Wsava.