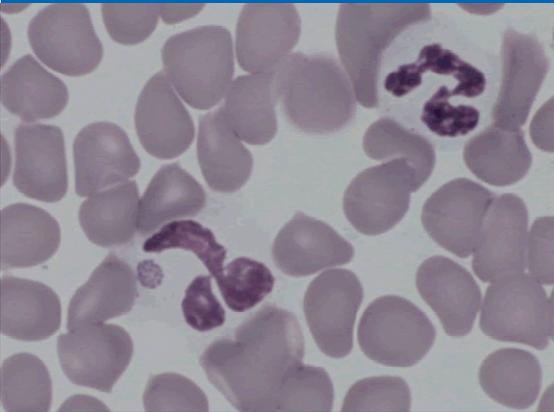


# Anaplasma phagocytophilum



**Morula in granulociti**

*Foto: Internet, fonte non nota*

# Anaplasma phagocytophilum

## DEFINIZIONE

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

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

## L'AGENTE PATOGENO

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

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



inclusione cellulare in granulociti

Foto: Parasitologie Zürich

## PRESENZA

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

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

## SERBATOIO

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

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

## TRASMISSIONE

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

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

## GRUPPI A RISCHIO

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

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

## PERIODO DI INCUBAZIONE

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

## QUADRO CLINICO

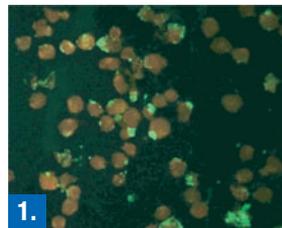
La sintomatologia clinica dell'ehrlichiosi granulocitica umana non è caratteristica nello stadio acuto e assomiglia ad un'infezione influenzale. La malattia inizia con febbre subacuta, mialgia, artralgia e stanchezza. Un esame fisico non presenta normalmente un referto caratteristico, mentre un esame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

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

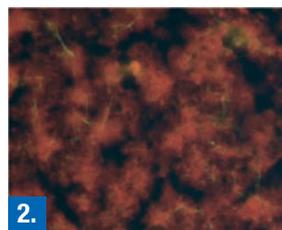
## DIMOSTRAZIONE DELL'HGE

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

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



1.



2.

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

Foto: propria

## TERAPIA

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

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

## RISULTATI DI LABORATORIO

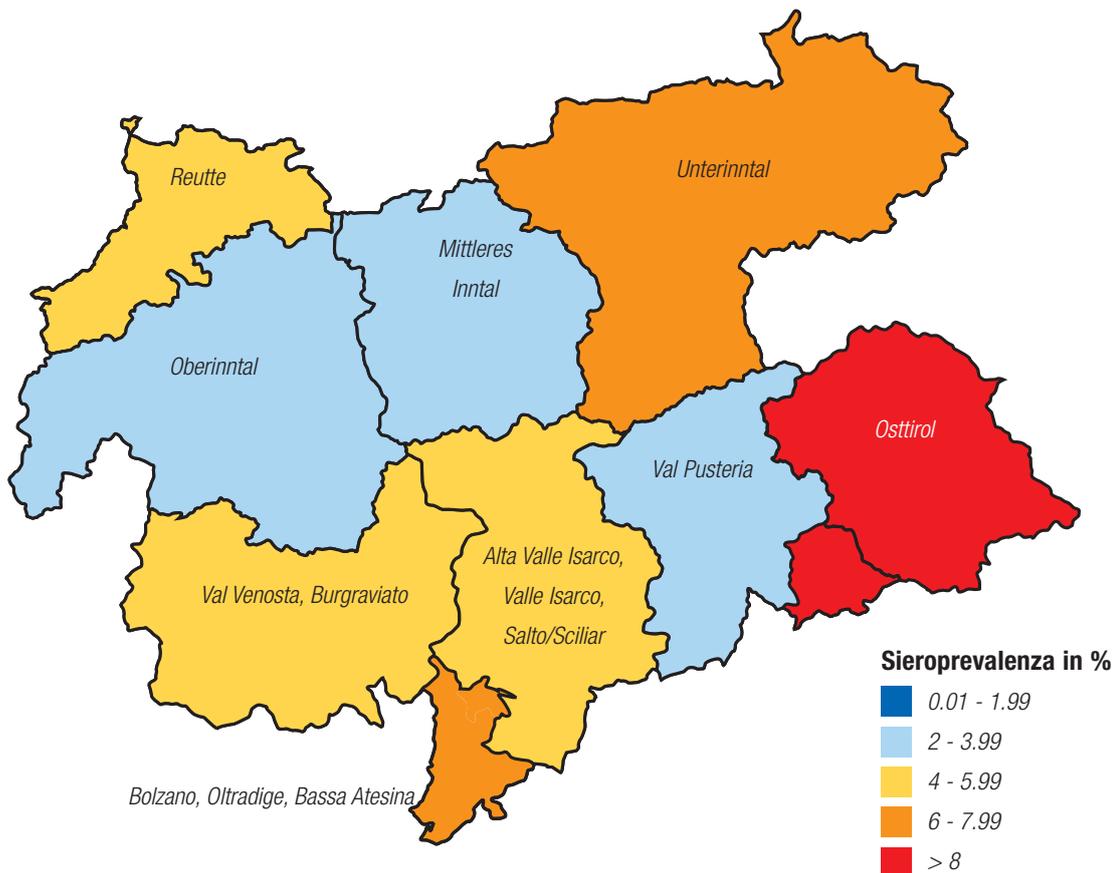
Il 5,2% (n=83) dei campioni dell'intera area in studio era positivo al test di conferma per gli anticorpi IgG contro *Anaplasma phagocytophilum*, l'agente patogeno dell'ehrlichiosi granulocitica umana (HGE). La prevalenza nel bacino idrografico dell'Adige (5,5%) era simile a quello del Donau (5,0%) (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

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

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

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

Figura 19

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

## DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DELLE PERSONE SIEROPOSITIVE PER AREA

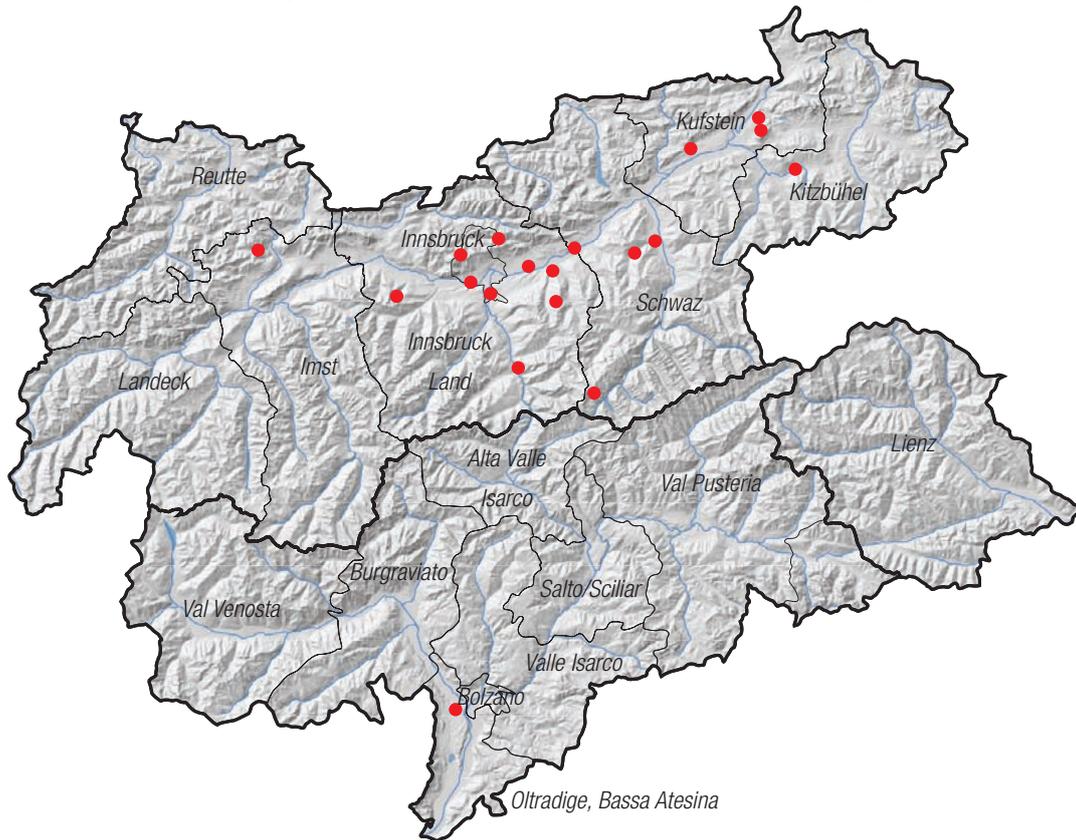
Anticorpi contro *A. phagocytophilum* sono stati rilevati nell'intera area studiata. I tassi di sieroprevalenza più alti sono stati rilevati nel bacino idrografico del Drau (Tirolo orientale con i comuni San Candido, Sesto e Dobbiaco) con l'11,0% (n=11), valore quasi doppio che nell'Unterinntal e a Bolzano-Oltradige-Bassa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

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

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

Figura 20

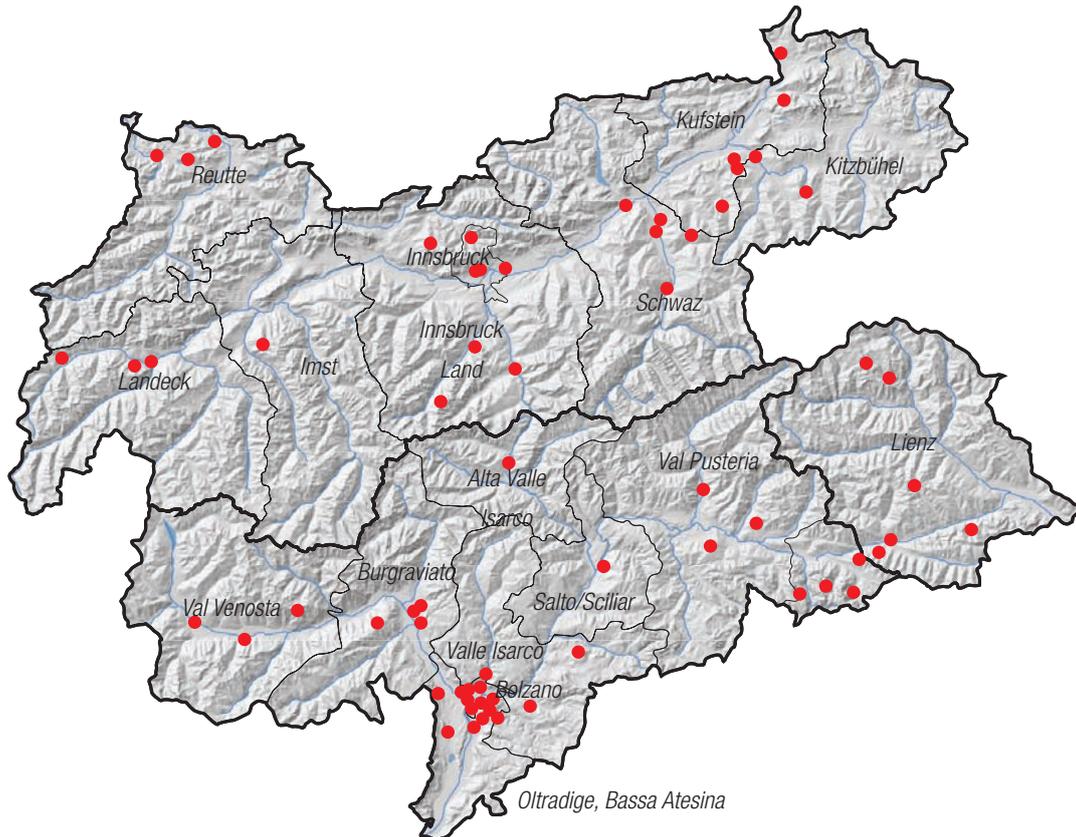
Probabili luoghi di infezione con l'HGE con un'anamnesi di zecca (n=19)



● luogo della puntura da zecca

Figura 21

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



● luogo di residenza delle persone sieropositive

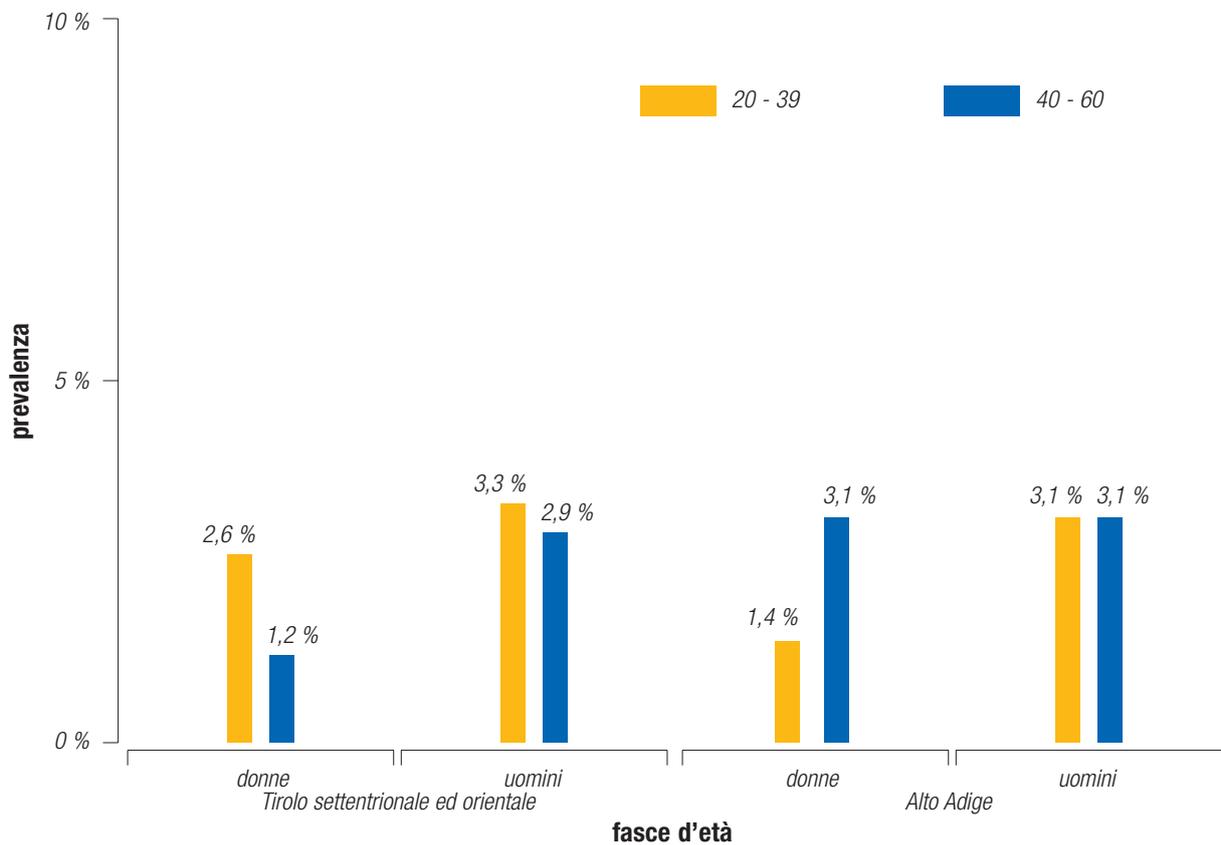
## DISTRIBUZIONE PER ETÀ E SESSO

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

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

Figura 22

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



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

## FATTORI DI RISCHIO PER UN'HGE

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

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

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

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

## INFORMAZIONI CLINICHE

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

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

## DISCUSSIONE

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

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

## CONFRONTI CON LE REGIONI CONFINANTI

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

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

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

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

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

## IL VALORE RILEVATO CORRISPONDE ALLA REALTÀ?

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## I MEDICI DEVONO ASPETTARSI IL QUADRO CLINICO?

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

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

## RACCOMANDAZIONI

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

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