

# Allegati

## Allegato 1

**TABELLA**  
**Tablelle demografiche**

Tabella 1

**Numero campioni della popolazione intera**

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

Tabella 2

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

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

Tabella 3

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

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

Tabella 4

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

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

Tabella 5

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

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

Tabella 6

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

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

338 persone hanno dato indicazioni sul numero di punture

Tabella 7

## Numero punture da zecca per area studiata

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

rosso = Tirol settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 8

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

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

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

## BORRELIA BURGDFERFERI S.L.

Tabella 9

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

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

rosso = Tirol settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 10

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

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

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

Tabella 11

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

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

Tabella 12

**Distribuzione per età e area studiata (n=79)**

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

Tabella 13

**Fattori di rischio per la sieropositività contro le Borrelie**

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

\* differenza statistico significativa

**BABESIE**

Tabella 14

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

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

Tabella 15

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

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

rosso = Tirolo settentrionale ed orientale      nero = Alto Adige

Tabella 16

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

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

Tabella 17

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

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

Tabella 18

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

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

Tabella 19

**Fattori di rischio per la babesiosi**

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

## HGE (*Anaplasma phagocytophilum*)

Tabella 20

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

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

Tabella 21

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

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

rosso = Tirolo settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 22

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

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

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

Tabella 23

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

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

Tabella 24

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

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

Tabella 25

**Risikofaktoren für HGE**

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

\* differenza statisticamente significativa

## TBE

Tabella 26

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

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

## West Nile Virus (WNV)

Tabella 27

Stato vaccinale contro l'EEC e sieropositività contro il WNV

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

121

## Hantaviren

Tabella 28

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

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

rosso = Tirolo settentrionale ed orientale

nero = Alto Adige

Tabella 29

**Fattori di rischio per la sieropositività per Hantavirus**

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

# Allegato 2

## DISEGNO DELLO STUDIO, MATERIALI E METODI

### Indice

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

## Disegno dello studio

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

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

### Selezione dei partecipanti

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

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

Per lo studio sono state considerate le persone che:

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

### Alto Adige

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

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

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

### Tirolo settentrionale ed orientale

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

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

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

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

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

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

### Riflessioni etiche

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

sta la comunicazione dei risultati ai partecipanti.

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

dichiarazione di consenso (vedi allegato).

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

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

### **Sicurezza dei dati/privacy**

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

## Materiali e Metodi

### BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO

#### Scelta dei sistemi d'analisi

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

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

#### Esecuzione dei test

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

razione è stata eseguita secondo le indicazioni del produttore.

### BABESIA SPP.

#### Scelta dei sistemi d'analisi

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

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

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

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

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

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

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

le usare un sistema d'analisi di conferma possi- bilmente indipendente.

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

### Produzione dei sistemi di test

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

Durante le paressitemie sono stati isolati eri- trociti dalla vena della coda e fissati su un por- taobiettivi. Come controllo dei negativi sono sta- ti usati eritrociti di topi non infetti.

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

### Esecuzione dei test

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

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

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

## Stabilire i valori di cut-off

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

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

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

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

## ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM

### Scelta dei sistemi d'analisi

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

ne del Tirolo settentrionale ed orientale nel 2001.

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

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

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

### Test d'immunofluorescenza

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

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

### IgG-Westernblot

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

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

### Determinazione del valore di cut-off

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

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

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

## TBE

### Scelta dei sistemi d'analisi

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

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

### Esecuzione dei test

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

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

## WEST NILE VIRUS

### Scelta dei sistemi di analisi

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

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

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

### Esecuzione dei test

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

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

## HANTAVIRUS

### Scelta dei sistemi di analisi

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

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

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

### Esecuzione dei test

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

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

# Allegato 3

## QUESTIONARIO

### Studio TIMO

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

Data del prelievo di sangue: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2003

Servizio trasfusionale: Bolzano  Brunico  San Candido  Bressanone

Vipiteno  Merano  Silandro

Istituto per medicina trasfusionale Innsbruck

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

Iniziali \_\_\_\_ Sesso: maschio  femmina  Data di nascita: \_\_\_\_\_

Luogo di residenza: \_\_\_\_\_

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

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

Se si oppure a volte prego indicare la professione \_\_\_\_\_

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

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

camminare  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

andare in bicicletta  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

nuotare  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

giardinaggio  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

rafting  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

attività agricole  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

raccogliere funghi  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

andare a caccia  quante volte alla settimana \_\_\_\_ x in media per quante ore \_\_\_\_

altro \_\_\_\_\_

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

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

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

b) se si, l'ultima puntura era nell'anno \_\_\_\_\_ (prego indicare l'anno solare)

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

d) luogo della puntura (il più preciso possibile) \_\_\_\_\_

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

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

febbre  influenza  mal di testa

dolori muscolari oppure alle articolazioni  diarrea/malessere

eritema (Erythema migrans)  disturbi del battito cardiaco

altro \_\_\_\_\_

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

5.) Come rimuove la zecca:

pinza  olio/smalto per unghie  mano  affatto

altro: \_\_\_\_\_

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

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

FSME (meningite da zecca)  numero dosi \_\_\_\_ ultima dose nell'anno \_\_\_\_ non ricordo

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

Encephalite giapponese B (Asia)  numero dosi \_\_\_\_ ultima dose nell'anno \_\_\_\_ non ricordo

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

7.) È mai stato in uno dei seguenti paesi? si  no  non ricordo

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

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

-----

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

se sì, indicare l'anno \_\_\_\_\_

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

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

se sì, indicare l'anno \_\_\_\_\_

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

10.) È mai stato curato per un'infezione ai reni? sì  no  non ricordo

se sì, indicare l'anno \_\_\_\_\_

-----

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

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

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

-----

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

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

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

Tutti i dati verranno trattati nel rispetto della privacy.

Ringraziamo per la collaborazione

## DICHIARAZIONE DI AVVENUTA INFORMAZIONE E DI CONSENSO AL PRELIEVO DI SANGUE

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

dichiara di:

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

Data .....

Firma del partecipante .....

Timbro e firma dell'intervistatore .....

## LETTERA INFORMATIVA PER I PARTECIPANTI ALLO STUDIO TIMO

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La ringraziamo per la Sua collaborazione.

I servizi trasfusionali e l'osservatorio epidemiologico

## Allegato 4

### BIBLIOGRAFIA

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## Impressum

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

