

La risposta della Medicina di Laboratorio nelle malattie trasmesse da zecche

Ruscio M.

Dipartimento Diagnostico e Strumentale ASS 4 "Medio Friuli", Laboratorio Analisi Cliniche e Microbiologia, Ospedale di San Daniele del Friuli (UD)

Introduzione

Le zecche sono artropodi, appartenenti alla classe degli aracnidi e all'ordine degli acari. Hanno dimensioni piuttosto piccole (da 2 a 8 millimetri) e si nutrono esclusivamente di sangue (ematofagi obbligati). Per soddisfare questa necessità biologica sono parassiti esterni (ectoparassiti) e temporanei di numerose specie animali (anfibi, rettili, uccelli, mammiferi) e occasionalmente dell'uomo.

Nel mondo sono state identificate 850 specie di zecche, suddivise in due grandi famiglie: le Ixodide (*Ixodidae*), o «zecche dure» (così chiamate per lo scudo rigido che ne riveste il dorso), e le Argaside (*Argasidae*), o «zecche molli» (prive della protezione dorsale).

Dal punto di vista della salute sono però le «zecche dure» quelle che costituiscono l'insidia maggiore: rappresentano infatti ottimi serbatoi e vettori efficienti di un gran numero di agenti patogeni (batteri, virus, rickettsie e protozoi).

Le malattie trasmesse da zecche

Nell'ambito delle patologie sostenute da vettori, le zoonosi veicolate dal morso di zecca costituiscono, in assoluto, le malattie più frequenti.

La maggiore consapevolezza creata tra i clinici sul ruolo rivestito da queste forme morbose e il miglioramento dei mezzi diagnostici hanno consentito una corretta classificazione nosologica di tali malattie e l'individuazione degli agenti eziologici che le sostengono.

Borreliosi di Lyme

È una patologia multisistemica che coinvolge principalmente la pelle, le articolazioni, il sistema nervoso (centrale e periferico) il cuore e altri organi interni. L'agente causale è una spirocheta appartenente al genere *Borrelia*, specie *Borrelia burgdorferi* sensu lato (sl), di cui sono note, al momento, tre specie patogene: la *B. burgdorferi* sensu stricto (ss), la *B. afzelii* e la *B. garinii*. Tali specie sono messe in relazione a talune variazioni cliniche osservate nella presentazione della malattia. Caratteristicamente la Borreliosi di Lyme (BL) presenta un'evoluzione a stadi, ciascuno dei quali contraddistinto da varie manifestazioni cliniche. La descrizione delle manifestazioni viene usualmente raggrupata in due fasi: la fase precoce (o acuta) e la fase tardiva (o

cronica). La fase precoce comprende le manifestazioni della fase acuta, del I° e del II° stadio (infezione localizzata e disseminata) e si sviluppa nell'arco temporale di settimane o mesi dall'inoculo del patogeno. La fase tardiva o cronica, invece, è rappresentata dal III° stadio (infezione persistente) ed emerge a distanza di diversi mesi od anni dall'esordio dei sintomi.

Di norma, anche se non obbligatoriamente, la BL inizia con una lesione a carico della pelle e determina, anche negli stadi successivi della malattia, un caratteristico coinvolgimento cutaneo. Nel 60-80% dei casi, infatti, la manifestazione d'esordio è l'eritema migrante, che costituisce il marker clinico tipico dell'infezione. Le lesioni eritematose possono essere multiple (*eritemi migranti multipli*) nel II° stadio o presentarsi come lesioni croniche a carattere atrofico (*acrodermatite cronica atrofica*) nel III° stadio.

Accanto alle manifestazioni cutanee la disseminazione della *Borrelia burgdorferi* può interessare l'apparato muscolo-scheletrico (con artromialgie a carattere migrante, seguite talora da mono – oligoartrite asimmetrica) e il coinvolgimento del sistema nervoso (*neuroborreliosi*), con quadri clinici che possono variare dalla meningite subacuta isolata, all'encefalopatia, comprendendo la meningoradicolite con coinvolgimento dei nervi cranici (frequente è la paralisi del VII° n.c.).

La disseminazione della *Borrelia burgdorferi* sl, inoltre, può bersagliare l'occhio (congiuntivite, cheratite, iridociclite, vasculite retinica, neuropatia ottica, ecc.) e il cuore (disturbi del ritmo cardiaco/blocchi AV, pericarditi, miocarditi).

Lo sviluppo della BL può altresì registrare, nel II° e III° stadio, manifestazioni cliniche generali, quali: astenia, inappetenza, grave malessere, irrequietezza, alterazioni del sonno, variamente associate tra loro.

Tick Borne Encephalitis (TBE)

È un'infezione virale del sistema nervoso centrale. Può esprimersi con una diversità di quadri clinici che comprendono una modesta meningite fino a una severa encefalite, con o senza mielite. Ne è responsabile un flavivirus (famiglia *Flaviviridae*), trasmesso con il morso di zecca (da cui il nome *arbovirus: arthropod – born viruses*) o mediante l'ingestione di latte proveniente da animali con viremia.

Nella sua forma caratteristica presenta un decorso bifasico: l'esordio è di tipo simil-influenzale (febbre, dolore, artromialgie), cui fa seguito un intervallo asintomatico e lo sviluppo di una seconda fase, con febbre molto alta (39-40 °C) e manifestazioni a carico del sistema nervoso centrale.

E' tuttavia possibile che si verifichi una sola delle fasi descritte.

Anaplasmosi (o Ehrlichiosi Granulocitica) umana

E' una malattia acuta febbrile (> 38°C) che si manifesta con quadro clinico aspecifico (brividi, cefalea, mialgie e/o artralgie diffuse), talora con nausea, dolori addominali, dissenteria e tosse. E' causata da un piccolo battere Gram negativo, intracellulare obbligato che parassita i granulociti nell'uomo e negli animali. Appartiene all'ordine delle Rickettsiales *Anaplasma phagocytophilum* (precedentemente definita come Ehrlichia granulocitica umana, *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi*).

Molta parte delle infezioni restano asintomatiche e, nei casi acuti, solo il 50% dei pazienti necessita di ricovero. Al momento non risultano documentate forme croniche di malattia e non sono descritte sequele a distanza¹.

Rickettsiosi

Sono infezioni sistemiche che si esprimono con febbre, cefalea, dolori muscolari, rash cutanei, linfadenopatia locale e con una caratteristica escara necrotica, la cosiddetta "tache noire, localizzata nella zona del morso. Agenti causali sono batteri intracellulari appartenenti al genere *Rickettsia*. La febbre mediterranea (nota anche come "febbre bottonosa"), indotta dalla *Rickettsia conorii*, era ritenuta sino ad alcuni anni fa l'unica rickettsiosi presente in Europa. L'osservazione di quadri clinici atipici della malattia, correlata all'isolamento nelle zecche di nuove specie di rickettsiae, rende tuttavia ipotizzabile, in un prossimo futuro, la descrizione di nuove sindromi cliniche^{2,3}.

Al morso di zecca si lega la trasmissione di ulteriori malattie, come la febbre ricorrente, la babesiosi e la tularemia, la cui segnalazione nel nostro Paese è ancora aneddotica.

Febbre ricorrente

E' una sepsi ad esordio acuto, causata da 16 diversi batteri, appartenenti al genere *Borrelia*.

Compare in forma improvvisa con febbre elevata, brividi, cefalea, mialgie, artralgie, tosse. Il quadro clinico iniziale, che ha una durata di circa tre giorni, può associarsi inoltre a rash cutaneo e manifestazioni neurologiche. A distanza di una settimana circa può presentarsi un secondo episodio, che usualmente si caratterizza con un decorso più breve e attenuato, di seguito possono verificarsi ulteriori episodi analoghi (della durata di circa due giorni) distanziati da un lungo intervallo.

Babesiosi

E' un'infezione simil-malarica, causata da un protozoo, la *Babesia microti*. Inizia con uno stato febbrile aspecifico e sintomi simil-influenzali, associati ad un quadro di anemia emolitica provocata dall'agente eziologico parassitando le emazie.

La Babesiosi può essere asintomatica o paucisintomatica

nei giovani, mentre può assumere un decorso severo nei pazienti splenectomizzati, immunodepressi e negli anziani con patologie preesistenti.

Tularemia

E' una zoonosi che debutta in forma improvvisa e severa con febbre, brividi, cefalea, linfadenopatia, mialgie, malessere, astenia. Ne sono state descritte sei forme cliniche (ulcerogranulomatosa, granulomatosa, oculogranulomatosa, orofaringea, tifoide e pneumonica). L'agente eziologico è la *Francisella tularensis*, un coccobacillo Gram negativo, intracellulare facoltativo, che non cresce nei normali terreni di coltura.

L'epidemiologia della malattia è poco nota. C'è evidenza di infezioni negli animali (in oltre 250 specie) e sono riportate multiple vie di trasmissione (contatto con animali infetti, via alimentare, inalatoria, punture di zanzara), compreso il morso di zecca. La malattia, che comunemente si associa a fattori di rischio professionale, presenta diversi livelli di gravità in relazione alla via d'infezione, alla carica batterica, alle condizioni immunitarie del paziente.

La diagnosi strumentale. Impieghi e caratteristiche dei test diagnostici

Nella **Borreliosi di Lyme** la diagnostica di Laboratorio si affida essenzialmente alle indagini sierologiche.

La risposta immunitaria suscitata dalla *Borrelia burgdorferi* si è usualmente lenta e, alla comparsa dei primi segni clinici (eritema migrante), è frequente una falsa sieronegatività. Inizialmente lo sviluppo di anticorpi specifici è documentata dalla produzione di IgM (tra la seconda e la terza settimana d'infezione), seguita a breve distanza dalla comparsa di IgG (attorno alla sesta settimana d'infezione). Valori elevati di IgG si possono registrare invece nella fase tardiva di malattia, unitamente ad una presenza incostante delle IgM (10-40%), la cui dimostrazione dipende dalla sensibilità della metodica utilizzata per l'esame.

Il riscontro della produzione anticorpale intratecale è particolarmente significativa nei casi di neuroborreliosi cronica, dove le IgM sono regolarmente assenti nel siero e talora possono mancare anche le IgG, per l'effetto inibitore di precedenti trattamenti antibiotici.

I test di screening di primo livello sono rappresentati dalla fissazione del complemento, inibizione dell'immunoemoagglutinazione, immunofluorescenza indiretta e dai test immunoenzimatici. Il test di secondo livello (o test di conferma) è rappresentato invece dalla Western blot.

Tra i test di screening la fissazione del complemento costituisce un metodo superato e non sufficientemente sensibile. Il suo impiego, pertanto, è scarsamente utilizzabile a fini diagnostici. I test di immunoemoagglutinazione non differenziano le IgG e le IgM e sono adatti, quindi, solo per selezionare i negativi. L'immunofluorescenza indiretta ha come limitazione la manualità dell'esecuzione (che la rende adatta a piccole serie di campioni) e la soggettività della lettura. Necessita, inoltre, della definizione di un cut-off sufficientemente alto per limitare le interferenze, a scapito della sensibilità, specie nelle prime fasi di malattia. I kit che prevedono il preassorbimento dei sieri con il treponema di Reiter si possono considerare di seconda generazione e sono dotati di maggiore specificità rispetto ai precedenti,

pur mantenendo la stesse prerogative sulla sensibilità.

I test immunoenzimatici di seconda e terza generazione sono i più idonei per lo screening della BL. Utilizzano antigeni multipli, naturali o ricombinanti, consentendo l'esecuzione automatizzata di grandi serie di campioni. Recentemente l'inserimento della VlsE ricombinante, una proteina espressa solo in vivo, ne ha accresciuto notevolmente la sensibilità⁴.

La Western blot, ovvero il test di secondo livello, utilizza antigeni della *Borrelia* preparati da lisati cellulari in cui la *whole-cell* è separata elettroforeticamente e le proteine vengono quindi trasferite sulle membrane di flottazione. Più recentemente sono stati introdotti kit con antigeni ricombinanti prodotti con tecniche di ingegneria genetica. I preparati allestiti con lisati batterici hanno il vantaggio di rilevare un gran numero di proteine immunoreattive e, nel contempo, lo svantaggio di rendere difficile il discriminare tra le bande specifiche e le cross-reattività. Queste difficoltà interpretative non esistono per i blot ricombinanti, nei quali le bande vengono attribuite con maggiore certezza e quindi si prestano a una maggiore standardizzazione, a scapito di una minore sensibilità rispetto ai lisati batterici. Sono presenti in commercio numerosi test che utilizzano antigeni di differenti ceppi o di genospecie diverse di *Borrelia burgdorferi* sl.

L'interpretazione del bandeggio presenta elementi di particolare complessità.

Per una corretta decodifica del pattern anticorpale è necessaria una adeguata familiarità con il significato diagnostico assunto dalle bande in relazione allo stadio della malattia, familiarità che va ben oltre all'applicazione dei criteri interpretativi basati sulla semplice somma dei punteggi attribuiti alle singole bande, come proposto dai produttori di kit diagnostici. Ad esempio, anche un pattern incompleto può essere significativo se si tratta di malattia in fase precoce; in altro caso, invece, può risultare determinante non tanto la presenza, quanto l'intensità di alcune bande (p41, Osp C). Per questa ragione va sottolineata la necessità di indicare nel referto della Western blot oltre all'esito dell'esame, anche l'elenco delle bande rilevate.

Da tutte queste considerazioni emerge che non esiste un test predittivo assoluto e che, nella sierodiagnosi della BL, è necessario prevedere un uso combinato e razionale dei test disponibili.

A questo riguardo il CDC raccomanda l'esecuzione di un test di screening (primo livello) e, solo in presenza di esito positivo o border line, di ricorrere a un test di conferma (Western blot)⁵.

Tale approccio, pur razionale, presenta alcuni obiettivi limitati di carattere pratico: in una zona endemica la sieropositività (asintomatica) è infatti elevata e l'applicazione del criterio anzidetto comporterebbe un notevole ricorso a test di secondo livello, traducendosi in alti costi, TAT allungati e scarso apporto al quesito diagnostico. Per questo motivo i test non devono essere eseguiti indiscriminatamente, ma vanno richiesti a supporto della diagnosi, basata su precisi riscontri clinici ed epidemiologici.

Oltre alle indagini sierologiche sono state messe a punto metodiche di diagnosi diretta, che tuttavia hanno una rilevanza modesta nella corretta pratica clinica.

La ricerca microscopica della *Borrelia burgdorferi* sl con

colorazioni di Steiner e Steiner e l'immunoistochimica necessitano infatti di lunghe preparazioni e di occhio esperto per la lettura. L'esame colturale della *Borrelia* in terreni artificiali semi-solidi (Kelly's medium modificato, MKP medium - descritto da Preac-Mursic)⁶, richiede tempi lunghi e procedure complesse che ne consigliano l'utilizzo solo in particolari circostanze. L'isolamento della *Borrelia burgdorferi* sl assume rilievo nei pazienti sieronegativi con quadri clinici suggestivi per la BL (eritemi migranti o altre dermatiti atipiche, neuroborreliosi), senza produzione intratecale di anticorpi o nei casi di BL in stati di immunodeficienza. Le colture da biopsie cutanee effettuate in pazienti sieropositivi con lesioni tipiche non sono giustificate.

Con la reazione polimerasica a catena (PCR) si dimostra la presenza del DNA della spirocheta nei tessuti e nei liquidi biologici, utilizzando sonde geniche (di origine plasmidica e cromosomica) preparate da vari ceppi di *Borrelia burgdorferi* sl. Le varie metodiche proposte per la PCR non sono validate per uso clinico⁷. Tali metodiche si basano sull'impiego di tecniche di lisi e di estrazione del DNA diverse e in differente combinazione portando a risultati non confrontabili se ottenuti da laboratori diversi. Una PCR negativa non esclude la presenza della *Borrelia burgdorferi* sl e, viceversa, un dato positivo non giustifica la diagnosi di BL. Il ricorso alla PCR può tuttavia presentare possibilità di successo (maggiori rispetto all'esame colturale) se impiegata nel liquido e nella biopsia sinoviale.

Altre indagini di laboratorio

Caratteristica nella BL è l'assenza di indici di flogosi, velocità di eritrosedimentazione e proteina C reattiva. Ciò rappresenta un utile elemento di diagnosi differenziale specie nelle manifestazioni articolari.

Il riscontro di **TBE (Tick-borne encephalitis)** avviene essenzialmente mediante indagini di laboratorio e si basa sulla dimostrazione di anticorpi specifici nel siero, effettuata con metodiche immunoenzimatiche.

Di norma al manifestarsi dei sintomi neurologici la sierconversione è già avvenuta e, nella maggior parte dei casi, la ricerca degli anticorpi specifici nel sangue dà esito positivo. Qualora venga individuata la presenza di sole IgM devono essere ricercati in un secondo campione l'aumento del titolo delle IgM e la comparsa delle IgG specifiche. La positività, invece, nel liquor è tardiva ed appare entro 10 giorni dall'esordio neurologico.

La presenza di IgM può venir riscontrata nel siero anche per molti mesi, mentre gli anticorpi IgG persistono tutta la vita e ad essi va riferita l'immunità duratura post infezione. La ricerca di IgG anti-TBEV può essere anche utilizzata per definire la sieroprevalenza nella popolazione o in gruppi selezionati di persone, per monitorare la sierconversione dopo il ciclo vaccinale, o per controllare lo stato immunitario pre-vaccinazione.

Interferenze sulle IgM sono possibili per la presenza di anticorpi eterofili e del fattore reumatoide.

I test ELISA di prima generazione possono inoltre risentire di cross-reattività dovute a contatti con altri flavivirus (es. vaccinazione contro la febbre gialla, l'encefalite giapponese o l'infezione da virus dengue). Pertanto è necessaria sempre un'attenta raccolta anamnestica sulle pratiche vaccinali e sui viaggi effettuati dal paziente e, nel sospetto

di possibili interferenze, è indicata l'esecuzione del test di neutralizzazione (RFFIT - rapid fluorescent focus inhibition test). Quest'ultimo richiede la manipolazione dell'agente virale; è complesso e costoso e resta appannaggio di pochi laboratori specializzati.

In passato venivano utilizzate altre metodiche (l'emoagglutinazione, la fissazione del complemento, l'immunofluorescenza indiretta), divenute progressivamente desuete perché meno standardizzabili e precise.

La sensibilità e specificità della nuova generazione di test (ELISA e Immunoblot) sono notevolmente più elevate rispetto al passato, e anche le interferenze analitiche (comprese le cross-reattività con altri flavivirus) si sono ridotte in modo rilevante⁸.

Si può ipotizzare che in passato, l'utilizzo di metodiche poco affidabili, rappresenti una delle cause di ritardo nel riconoscimento della malattia.

Nella fase viremica, che precede la sierconversione, il TBEV è rilevabile con metodiche dirette (reverse-transcriptase polymerase chain reaction RT-PCR, esame colturale e microscopia elettronica). Tuttavia il loro impiego, nella pratica clinica, è di scarsa utilità poiché la viremia ricorre solo nella prima fase d'infezione, quando mancano i sintomi neurologici che portano il paziente al medico.

La microscopia elettronica e l'esame colturale non hanno pratica applicazione nella routine.

Altre indagini di laboratorio

Durante la prima fase di malattia e nell'intervallo asintomatico è comune il riscontro di leucopenia. All'esordio della seconda fase (quadro di meningoencefalite), la leucopenia scompare. Segue una transitoria leucocitosi con conte che sono considerevolmente più alte rispetto ad altre forme di meningite virale (6.600-14.600/mm³). Gli indici di flogosi sono alterati: la velocità di eritrosedimentazione può arrivare oltre il valore di 100 e l'aumento della proteina C reattiva è comune in oltre l'80% dei casi.

Nel liquor è presente una pleocitosi, rappresentata prevalentemente da linfociti, che raggiunge un massimo di 5000 cellule/mm³. I valori delle proteine variano solitamente tra 50-200 mg/dl.

I parametri liquorali usualmente si normalizzano nell'arco di 4-6 settimane, ma possono persistere elevati per molti mesi⁹. L'entità delle alterazioni non rappresenta però un fattore di prognosi per la TBE.

Nell'Anaplasmosi (o Ehrlichiosi Granulocitica) umana l'IFI rappresenta il test sierologico comunemente utilizzato a fini diagnostici. Richiede il riscontro della sierconversione (aumento di quattro volte del titolo; sviluppo delle IgG specifiche) mettendo a confronto i risultati ottenuti su un campione della fase acuta ed un campione acquisito durante la convalescenza (15-21 giorni più tardi). La sensibilità del metodo supera il 95%, ma va considerata la possibilità di cross-reattività con altre rickettsie. Per la diagnosi di Anaplasmosi acuta vanno considerati i titoli e la dinamica anticorpale che accompagnano le manifestazioni cliniche.

L'esame microscopico diretto dello striscio di sangue prelevato in fase di acuzia può evidenziare la presenza di inclusi citoplasmatici nei granulociti neutrofilici (morule) e rappresentare la prima conferma diagnostica. Tale presenza è

rilevabile mediamente nell'1% dei neutrofilici e la sensibilità del metodo si aggira attorno al 60%.

L'esame colturale utilizza, per le colture cellulari, la linea HL-60 (ATCC CCL240) derivata da una leucemia promielocitica. Viene effettuato solo in alcuni laboratori specialistici e non ha applicazione nella pratica clinica.

L'impiego della PCR non è standardizzato e può dare esiti discordanti. La ricerca del DNA batterico è però possibile nella fase acuta della malattia.

Altre indagini di laboratorio

Rappresentano spesso il primo indizio per le indagini successive. Nella fase acuta sono comunemente presenti trombocitopenia (90%), leucopenia (70%), alterazione della funzionalità epatica (aumento di ALT e AST e molto spesso anche dell'LDH). Risultano inoltre aumentati gli indici di flogosi (proteina C reattiva).

La normalizzazione dei parametri avviene alla fine della seconda settimana d'infezione. L'aumento della creatinina, dell'azotemia e l'anemia configurano l'insorgenza di complicanze che possono manifestarsi nel decorso della malattia.

La diagnosi della **Rickettsiosi** si affida alle indagini sierologiche e la microimmunofluorescenza (MIF) è la tecnica di riferimento¹⁰. Viene impiegata per l'identificazione delle IgG e IgM sia nella fase acuta, che durante la convalescenza.

Come per l'Anaplasmosi è necessario definire un cut-off e affidare il giudizio diagnostico ai titoli e alla dinamica anticorpale che accompagnano le manifestazioni cliniche. Lo sviluppo degli anticorpi si registra durante la seconda settimana di malattia. Solitamente per la *R. conorii* titoli di IgG ≥ 128 e/o IgM 64 sono considerati indicativi di infezione.

Per la diagnosi eziologica di specie gli esami sierologici possono dare cross-reattività con altre rickettsie.

Anche la Western blot è responsabile di risultati falsamente positivi per cross-reattività con anticorpi anti lipopolisaccaride; il test, per contro, è particolarmente sensibile nelle fasi iniziali di malattia.

L'isolamento della rickettsia, che rappresenta la prova più sicura ai fini diagnostici, è possibile solo in laboratori specializzati. Ai fini dell'isolamento vengono impiegate colture cellulari.

Le metodiche PCR non sono ancora sufficientemente sensibili, specifiche e rapide per identificare le rickettsie dai vari materiali biologici.

Altre indagini di laboratorio

Sono presenti nella fase acuta trombocitopenia, alterazione della conta leucocitaria e aumento degli enzimi epatici.

Discussione

Nella maggior parte delle malattie trasmesse con il morso di zecca il quadro clinico non è patonomico e la diagnosi richiede l'attivo apporto del Laboratorio, unitamente ad corretta valutazione di altri fattori: **dati anamnestici, contesto epidemiologico, uso appropriato dei test di laboratorio.**

Il paziente che si sottopone ad accertamenti dopo un morso di zecca si trova essenzialmente in tre condizioni:

a. è asintomatico e vuole sapere se ha contratto qualche

infezione;

b. presenta (nella zona del morso) una lesione eritematosa anulare che assume carattere migrante;

c. versa in uno stato febbrile, senza evidente spiegazione. Nell'ipotesi a. il ricorso ad un accertamento diagnostico non sempre è corretto e utile al paziente. La probabilità infatti di ammalarsi dopo un morso di zecca è modesta. L'esecuzione indiscriminata di esami sierologici (con una bassa probabilità preanalitica) può produrre risultati positivi difficili da gestire, inducendo, quasi inevitabilmente, trattamenti terapeutici forse non indispensabili e controlli successivi. D'altra parte vanno considerati i fattori ansiosi (del curante e del paziente) che, nell'eventualità di esito negativo, conferiscono al risultato del test valenza terapeutica. Nell'ipotesi b. la presenza di una lesione eritematosa a carattere migrante, che si presenta nella zona del morso e che compare a distanza di qualche tempo dalla rimozione della zecca (all'incirca nella seconda settimana), è condizione sufficiente per porre diagnosi di BL. La ricerca degli anticorpi anti *Borrelia* oltre che inutile (la sierconversione è lenta) provoca un inevitabile ritardo nella prescrizione della terapia per necessità di attendere l'esito degli esami. Nell'ipotesi c. l'esordio febbrile dopo il morso (oltre i 38°C) senza giustificazioni evidenti, legittima il sospetto diagnostico. In assenza di altre manifestazioni cliniche occorre far riferimento al **contesto epidemiologico**, valutando se nella zona di provenienza (o abitualmente frequentata) sono presenti patologie, quali TBE (Triveneto), Anaplasmosi (Friuli), Febbre mediterranea (Sicilia o Sud Italia). Analoghe conoscenze vanno estese a eventuali viaggi del paziente in paesi esteri dove è segnalata l'esistenza di patologie legate al vettore. Sulla base di tale supporto anamnestico è quindi giustificato il ricorso agli accertamenti di laboratorio. La preddittività di questi ultimi è tuttavia legata alla corretta interpretazione dei risultati forniti dai test e alla definizione di linee guida in grado di ausiliare il clinico nel corretto utilizzo delle informazioni raccolte.

Conclusioni

A fronte del crescente numero di malattie trasmesse da zecche, spetta al Laboratorio, dunque, il compito di fornire adeguati indirizzi ai clinici per orientarli nella diagnosi e di promuovere la standardizzazione dei test diagnostici. Il che comporta oltre all'impegno nel favorire il razionale e conveniente utilizzo dei riscontri forniti, anche la raccolta e

l'elaborazione dei dati epidemiologici e la collaborazione per lo sviluppo di *case definition*. Senza dimenticare la peculiare necessità di garantire la qualità dei risultati, l'affidabilità dei referti come presupposto per la correttezza della diagnosi.

Bibliografia

1. Ruscio M, Cinco M Human granulocytic ehrlichiosis in Italy: first report on two confirmed cases. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 990:350-2.
2. Fournier PE, Gunnenberger F, Jaulhac B Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans, Eastern France. *Emerg Infect Dis* 2000; 6:389-92.
3. Nilsson K, Lindquist O, Pahlson C. Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death. *Lancet* 1999; 354:1169-73.
4. Schulte-Spechtel U, Lehnert G, Liegl G, et al. Significant improvement of the recombinant *Borrelia*-specific immunoglobulin G immunoblot test by addition of VlsE and a DbpA homologue derived from *Borrelia garinii* for diagnosis of early neuroborreliosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1299-303.
5. Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors and the Centers for Disease Control and Prevention. Proceedings of the second national conference on serological diagnosis of Lyme disease. Fort Collins, CO: Centers for Disease Control, 1995; 1-7.
6. Preac-Mursic V, Wilske B, Reinhardt S. Culture of *Borrelia burgdorferi* on six solid media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991; 10: 1076-9.
7. Wilske B. Microbiological diagnosis in Lyme borreliosis. *Int J Med Microbiol* 2002; 291:11-9.
8. Sonnenberg K, Niedrig M, Steinhagen K, Rohwader E, Meyer W, Schlumberger W, Muller-Kunert E, et al. State-of-the-art serological techniques for detection of antibodies against tick-borne encephalitis virus. *Int J Med Microbiol.* 2004 Apr; 293 Suppl 37:148-51.
9. Haglund M, Göran G. Tick-borne encephalitis-pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine* 2003, 21: S1/11-18.
10. La Scola B, Raoult D. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2715-27.