



Artrite

Il sistema immunitario continua ad essere sollecitato dalle spirochete con meccanismi che coinvolgono anche le citochine dando origine a fenomeni infiammatori e in alcuni soggetti fenomeni autoimmuni

Artrite

Episodi intermittenti di artrite asimmetrica associata a versamento delle larghe articolazioni: ginocchia, caviglie e gomiti

Presente nel 60% dei pazienti non trattati

Il 10% dei pazienti ha episodi di artrite per mesi o anni dopo la sospensione della terapia antibiotica

Malattia di Lyme

Borrelia burgdorferi

è il batterio che causa la malattia di Lyme.
Questo batterio appartiene ad un gruppo di batteri,
chiamato spirochete, il cui aspetto assomiglia a una
molla



Classificazione di *Borrelia*

(dal nome del batteriologo francese A. Borrel)

Ordine : Spirochaetales

Famiglia : Spirochetaceae

Genere : *Borrelia* (20 specie)

Specie: *Borrelia burgdorferi* s.l. (15 genospecie)

Genospecie : *B. burgdorferi* s.s,
B. garinii , *B.bavariensis*
B. afzelii , *B. spielmanii*

Malattia di Lyme

- È una zoonosi
- Ospiti invertebrati : Vettori
- Ospiti vertebrati
 - Serbatoi
 - Occasionali

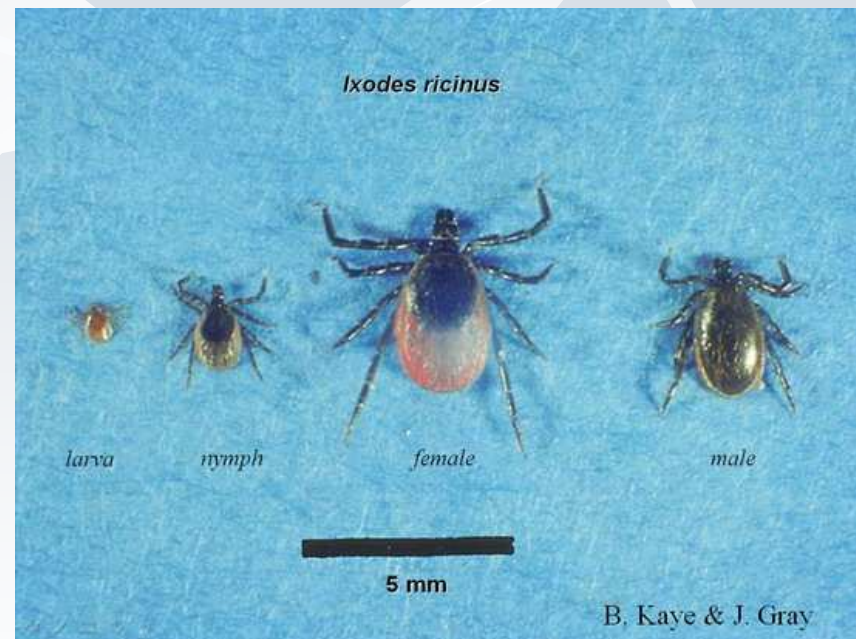
B.burgdorferi

E' molto sensibile alle condizioni ambientali (essiccamento) :

1. Necessità di contatto diretto tra vettore e ospite
2. La natura e il ciclo biologico del vettore sono elementi condizionanti la trasmissione.

Zecche

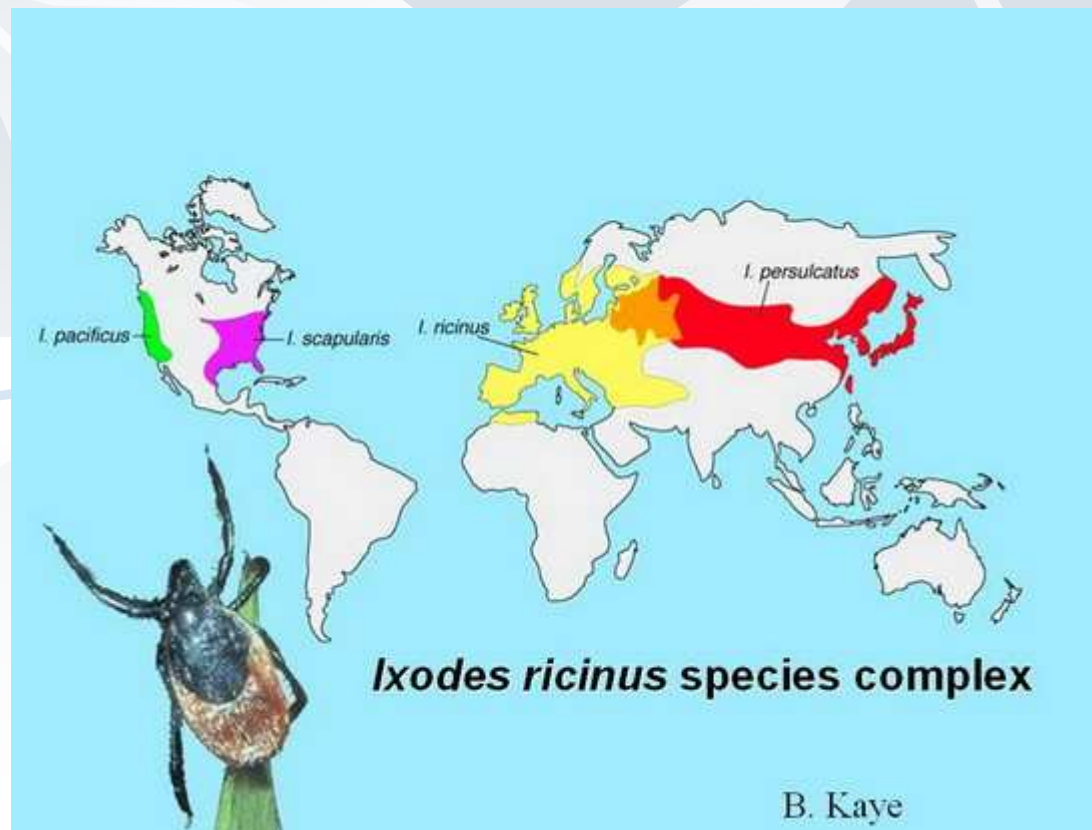
- Le Borrelie responsabili della malattia di Lyme vengono trasmesse all'uomo attraverso la puntura di zecche dure appartenenti al genere *Ixodes* che è molto comune in Europa ed è un importante vettore di malattia sia tra il bestiame che nell'uomo



- le specie di *Ixodes* che trasmettono ML sono quattro :

www.eucalb.it

1. *I. ricinus*
2. *I. persulcatus*
3. *I. pacificus*
4. *I. scapularis*



L'habitat

- Deve essere sufficientemente umido
- Deve contenere un mix di ospiti animali adatti ai tre stadi della zecca (larva, ninfa e adulto)

Zecca: ciclo vitale

- Il ciclo vitale (larva, ninfa, adulto) dura circa tre anni, ma può durare anche di più.(6 anni) (Gray, JS. 1991. *Rev Med Vet Entomol.* 79:323-333)
- Il passaggio da uno stadio all'altro avviene tramite un pasto di sangue e dura un periodo di pochi giorni.
- La digestione del pasto e lo sviluppo allo stadio successivo avvengono nella vegetazione.



Ospiti di *I. ricinus*

- Includono piccoli mammiferi (roditori), uccelli, rettili e grandi mammiferi come gli ungulati
- Le zecche presentano, generalmente, una bassa specificità di specie, per cui, in assenza dell'ospite preferito, possono attaccarsi al primo ospite "utile" di passaggio; l'uomo rappresenta solitamente un ospite occasionale.
- L'infestazione di uccelli, migratori e non, nonché di numerosi animali selvatici, è alla base della diffusione delle zecche in aree sempre più estese.

Trasmissione

- Trasmissione trans-stadiale
- Ninfe di *I. ricinus* probabilmente le maggiori responsabili dell'infezione
- Tramite co-feeding (doppia infezione documentata)

Patogenicità

Complessa interazione tra *B.b* e l'ospite, in cui giocano una notevole importanza:

1. la struttura e le componenti di superficie di *B.b*.
2. la tendenza a modificare gli antigeni di superficie nel corso dell'infezione
3. il suo ruolo come **immunomodulante**
4. la mimesi molecolare, causa di imponenti fenomeni di infiammazione ed autoreattività.

Patogenicità

- In relazione alle manifestazioni cliniche esiste sicuramente un overlap tra le specie.
- Tutte comunque possono causare il classico sintomo della fase early: l'eritema migrans (ECM). Può mancare nel 25-30% di casi
- ci sono evidenze in Europa che suggeriscono il fatto che ECM sia più associato *B. afzelii* piuttosto che a *B. garinii*, (Bennet et al, *Wien. Klin. Wochenshr.* 2006. 118: 531-7).

Infezione

- **Infezione primaria (fase early)**
- **Infezione secondaria (fase late)**

Early

Zecca



ECM



sangue



invasione disseminata



Attraversamento dell'endotelio



CFS



tessuti



articolazioni

Infezione localizzata: **caratteristico rash** che parte dal punto della puntura e compare circa 2 e 30 giorni dopo, che si allarga per la migrazione delle spirochete nella cute.

Early /Caratteristiche cliniche

- artralgia e mialgia
- radicolopatia (di solito mesi o settimane dopo l'infezione)
- artrite ricorrente with effusion (joint swelling);
- difetto di conduzione (parziale blocco di branca)
- linfocitoma da borrelia
- Early neuroborreliosis:
 - Paralisi del facciale
 - Paralisi di altri nervi cranici
 - Meningiti
 - Poliradicoliti
 - Lieve encefalite
 - Neuriti periferiche

Late

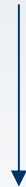
Stato di persistenza di *Borrelia b.* per anni



Fenomeni infiammatori e autoimmuni



Neuroborreliosi



ACA



Artrite

Diagnosi

L'infezione da *Borrelia burgdorferi* può essere :

- Subclinica
- Quadri clinici polimorfi in comune con altre patologie
- Avere un range di manifestazioni cliniche varie che dipendono:
 - dalla lunghezza del tempo trascorso dall'infezione
 - Dall'organo/sistema colpito

Diagnosi

La diagnosi va fatta alla luce di :

- storia clinica,
- sintomi,
- storia di esposizione al rischio
- dati di laboratorio.

Diagnosi di laboratorio

- Ricerca diretta nei liquidi biologici o nei tessuti
- Evidenziazione di anticorpi specifici (sierodiagnosi)

Ricerca diretta

Coltura

Gold Standard

- ECM → 80%
- ACA → 60%
- CFS → 17%
- Sangue, liquidi sinoviali, tessuto cardiaco: scarso successo
- Lunga (1 mese in microaerofilia)
- Complessa (laboratori specializzati)

Ricerca diretta

PCR: può vedere un più basso n° di copie, ma in caso di infezione paucibatterica come *Borrelia*, la sensibilità resta non ottimale

- ECM 50/70%
- CFS 20/30%
- **Liquidi sinoviali >50%**

Ricerca indiretta

Il risultato dei test sierologici dipende:

- dallo stadio della malattia
- Dalla eventuale terapia antibiotica

Non distingue la fase attiva dalla fase di quiescenza

Occorre ricordare

1. In caso di *Borrelia* la risposta anticorpale è lenta
2. Consiste in una fugace iniziale produzione di IgM (tra la terza e sesta settimana di malattia)
3. Successiva comparsa di IgG (settimane) che raggiungono la concentrazione massima in alcuni mesi
4. Pazienti affetti da Lyme in fase late esprimono titoli significativi per IgG, non di IgM che sono assenti
5. Coloro che si trovano in fase di ECM possono risultare sieronegativi (30%)
6. L'intervento terapeutico tende a negativizzare la risposta immune in fase iniziale di malattia

Sierologia

- Immunofluorescence Assay (IFA)
- Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
- Immunoblot

IFA

- Uno dei primi test disponibili
- Ormai abbandonato in molti paesi perché non adatto all'uso su grandi numeri
- Richiede l'utilizzo di microscopio a fluorescenza quindi di personale esperto

Test sierologici

E' raccomandato un approccio a due stadi:

Screening : test ELISA sensibile

Conferma : test IMMUNOBLOT sensibile e specifico

CDC di Atlanta,

DGHM (German Society for Hygiene and Microbiology),

EUCALB (European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis)

Fattori che influenzano le performance dei test

1. Sensibilità varia secondo i differenti stadi della malattia
2. Scelta del cut off in relazione alla popolazione sana
3. Mix di antigeni usate
4. Cross reattività con altre patologie (IgM) es. EBV, CMV, Sifilide, RF

Elisa IgG e IgM

1. Utilizzato come test di screening
2. Test più comunemente usato
3. Test di prima, seconda e terza generazione a seconda del tipo di antigeni utilizzate: antigeni sonicate, purificate, ricombinanti o peptidi sintetici.
4. Richiede ancora l'associazione all'immunoblot come test di conferma
5. Futuro: test con combinazione di antigeni che consentano una diagnostica one-step

Immunoblot IgG e IgM

Identifica la risposta immune contro le singole specifiche proteine di borrelia b.

È utilizzato come test di conferma

I criteri di interpretazione dipendono dai ceppi e dal tipo di antigeni utilizzate

Presenta ancora difficoltà di interpretazione

La standardizzazione dei criteri è soggetta a continui aggiornamenti da parte di gruppi di studio europei e attualmente non esiste un protocollo completamente definito e condiviso

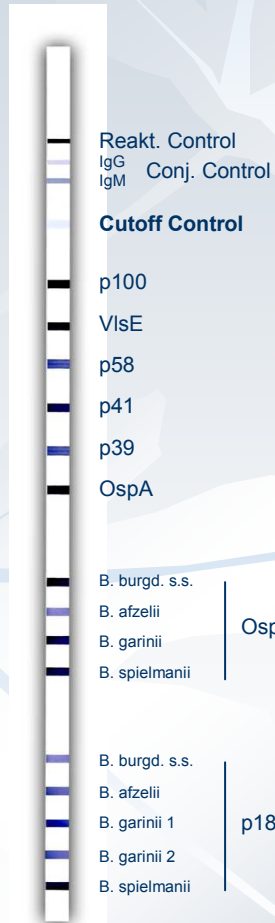
Immunoblot

- La tecnica ricombinante rende possibile fornire le antigeni in quantitativi sufficienti quando questi siano sottorappresentati in lisati cellulari
- Nei blot lisati è difficile distinguere le bande immunorilevanti dalle antigeni comuni
- In un unico test si possono testare proteine di diverse specie antigeniche, molto importante in caso di proteine molto eterogenee come Osp C VIsE e P18 che hanno omologie basse (40/44%)

The sensitivity and standardization of immunoblots has been considerably enhanced by use of recombinant antigens (p100, p58, p41i, VlsE, OspC, DbpA) including those expressed primarily *in vivo* (VlsE and DbpA) instead of whole cell lysates. VlsE is the most sensitive antigen for IgG antibody detection, OspC for IgM antibody detection.

recomLine Borrelia IgG

recomLine Borrelia IgM



Cutoff band on the strip



No extra cutoff strip necessary

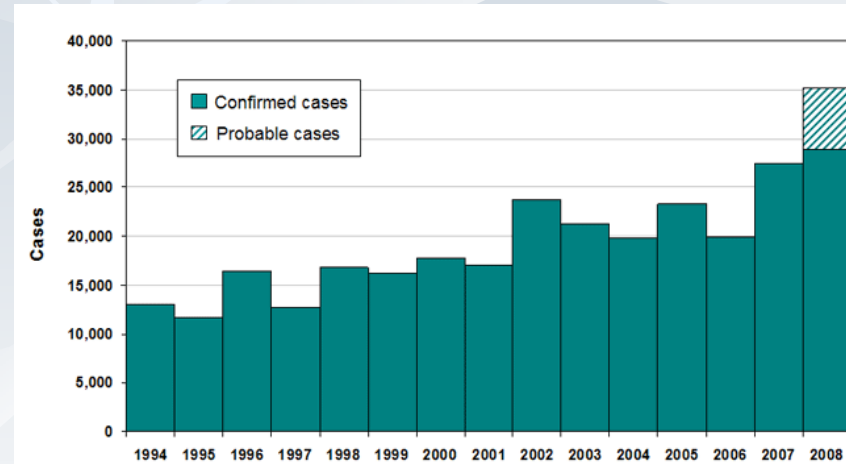
Lyme arthritis

For the diagnosis of Lyme arthritis, it is essential to demonstrate the presence of specific IgG antibodies (usually high levels). A positive IgM test in the absence of IgG antibodies argues against the diagnosis of Lyme arthritis. Follow-up is recommended only in cases with short duration of symptoms. Note that arthralgias may occur early during disease and should not be mistaken for Lyme arthritis.

Riassumendo

- I dati di laboratorio vanno interpretati alla luce dei sintomi clinici ($< \text{clinica} < \text{valore predittivo positivo dei test}$)
- Racomandato il follow-up in pz sieronegativi con manifestazioni “early”
- IgG negative depongono contro una “Late” come la presenza delle sole IgM
- Terapia incompleta può sopprimere lo switch IgM/IgG come la durata molto breve dei sintomi
- Follow-up sierologico non efficace per il monitoraggio della terapia
- La presenza di Ab non prova la presenza di malattia attiva

casi Segnalati di malattia di Lyme per anno, negli Stati Uniti, 1994- 2008



Servizi sanitari di Stato segnalati 28.921 casi confermati e 6.277 casi probabili della malattia di Lyme al CDC nel 2008.

Casi segnalati di malattia di Lyme per anno, nella provincia di Reggio Emilia, 1999-2008

