

Ixodes ricinus, malattie trasmesse e reservoirs

A. Rizzoli¹, R. Rosà¹, B. Mantelli¹, E. Pecchioli¹, H. Hauffe¹, V. Tagliapietra¹, T. Beninati², M. Neteler³, C. Genchi²

¹Centro di Ecologia Alpina, Viote del Monte Bondone, 38040, Trento, Italy; ²Dip. di Patologia Animale Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Via Celoria, 22, 20133, Milano, Italy; ³Centro per la Ricerca Scientifica e Tecnologica, ITC-irst, Via Sommarive, 38100 Povo, Trento, Italy.

Abstract [*Ixodes ricinus*, transmitted diseases and reservoirs]. The tick *Ixodes ricinus* has been recorded in most Italian regions especially in thermo-mesophilous woods and shrubby habitats where the relative humidity allow the tick to complete its 3 year developmental cycle, as predicted for the European climatic ranges. This tick acts both as vector and reservoir for a series of wildlife zoonotic pathogens, especially the agents of Lyme diseases, Tick borne encephalitis and Human Granulocytic Ehrlichiosis, which are emerging in most of Europe. To assess the spatial distribution of these pathogens and the infection risk for humans and animals within the territory of the Province of Trento, we carried out a long term study using a combination of eco-epidemiological surveys and mathematical modelling. An extensive tick collection with a GIS based habitat suitability analysis allowed us to identify the areas where tick occurs at various density. To identify the areas with higher infection risk, we estimated the values of R_0 for *Borrelia burgdorferi* s.l., TBE virus and *Anaplasma phagocytophila* under different ecological conditions. We assessed the infection prevalence in the vector and in the wildlife reservoir species that play a central role in the persistence of these infections, ie the small mammals *A. flavicollis* and *C. glareolus*. We also considered the double effect of roe deer (*Capreolus capreolus*) which act as reservoir for *A. phagocytophila* but is an incompetent host for *B. burgdorferi* and TBE virus, thus reducing the infection prevalence in ticks of these last two pathogens. Infection prevalence with *B. burgdorferi* and *A. phagocytophila* in the vector was assessed by PCR screening 1212 *I. ricinus* nymphs collected by dragging in six main study areas during 2002. The mean infection prevalence recorded was 1.32% for *B. burgdorferi* s.l. and 9.84 % for *A. phagocytophila*. Infection prevalence in nymphs with TBE virus, as assessed in a previous study was 0.03%. Infection prevalence in rodents was assessed by screening (with ELISA and PCR) tissues and blood samples collected from 367 rodent individuals trapped extensively during 2002 within 6 main study areas. *A. flavicollis* (N=238) was found to be infected with all three pathogens investigated, with infection prevalence ranging from 3.3% for TBE virus to 11.7 % for *A. phagocytophila*, and 16.6% with *B. burgdorferi* s.l. *C. glareolus* (N=108) showed an infection prevalence of 6.5% with *A. phagocitophila* and 12.7% with *B. burgdorferi* s.l., while no individuals were infected with TBE virus. We also screened 98 spleen samples collected from roe deer with PCR, resulting in a mean prevalence of infection with *A. phagocitophila* of 19.8%. Using a deterministic model we explored the condition for diseases persistence under different rodent and roe deer densities. R_0 values resulted largely above 1 for *B. burgdorferi* s.l. in the vast majority of the areas classified as suitable for *I. ricinus* occurrence in Trentino, while the condition for TBE persistence appeared to be more restricted by a combination of climatic condition and host densities.

La zecca *Ixodes ricinus*

I. ricinus, la comune zecca dei boschi, è diffusa nelle zone temperate e si rinviene in tutta la regione paleartica occidentale, dalle coste atlantiche europee fino agli Urali e dalle regioni più meridionali di Scandinavia e Finlandia all'Africa occidentale. In Italia è presente nell'intera Penisola e in Sicilia, mentre sono dubbie le citazioni relative alla Sardegna. È una specie telotropa, endofila allo stadio larvale ed esofila allo stadio adulto. È una specie a bassissima specificità parassitaria, in grado di nutrirsi su più di 237 specie animali ospiti. Le larve, e talora anche le ninfe, si nutrono soprattutto su micromammiferi roditori ed insettivori, come arvicole, topi selvatici, ghiri, ratti, topiragno, talpe e ricci, oltre che su lucertole e uccelli terricoli (più di 80 specie segnalate). Le femmine adulte, e talora anche le ninfe, si nutrono su numerose specie di mammiferi, principalmente ungulati domestici e selvatici, lagomorfi ed altri tra cui l'uomo. I maschi adulti non si nutrono. La dis-

persione della specie è affidata principalmente agli uccelli ed ai mammiferi più vagili, mentre il suo mantenimento è garantito dalle popolazioni di micromammiferi. La presenza degli ungulati selvatici svolge invece un ruolo di notevole importanza nel condizionare la densità di zecche sul territorio. Nelle condizioni climatiche dell'Europa centrale, la dinamica di *I. ricinus* è di tipo bimodale, con due picchi di abbondanza in primavera ed in autunno. Negli ambienti forestali dell'Europa centrale il ciclo completo di sviluppo di *I. ricinus* varia da 24 a 38 mesi circa. Uno dei fattori determinanti lo sviluppo della zecca risulta essere l'umidità relativa, che in natura dipende da latitudine, altitudine, piovosità e copertura vegetale. In genere, climi piuttosto piovosi favoriscono la diffusione di questo ixodide che con umidità relativa inferiore al 50% riesce a sopravvivere solo pochi giorni. Il rapporto tra zecca e vegetazione è invece più complesso dato che questa non solo mantiene un determinato microclima, ma favorisce anche l'incontro con l'ospite. In genere aree boschive con sottobosco e

radure rappresentano gli habitat ottimali per la sopravvivenza e lo sviluppo di *I. ricinus*.

A seconda del suo stato di replezione la femmina depone da 500 a 3000 uova in un solo episodio che si protrae per una ventina di giorni. *I. ricinus* può essere parassitata da alcuni imenotteri e da microsporidi, che sono stati utilizzati in infruttuosi tentativi di lotta biologica.

Principali malattie trasmesse

La zecca *I. ricinus* riveste una notevole importanza per l'elevato numero di agenti patogeni che può trasmettere. In Nord Italia, le infezioni più frequentemente rinvenute comprendono la Tick-borne Encephalitis (TBE), la Borreliosi di Lyme (LB) e l'Ehrlichiosi Granulocitica (HGE).

L'encefalite da zecche (Tick-borne encephalitis, TBE) è un'infezione provocata da un Flavivirus che in Europa può causare infezioni di gravità variabile a seconda del gruppo interessato. In Italia il tipo circolante risulta appartenere al ceppo Centro Europeo (WTBE). Oltre alle zecche, il latte crudo (di capra, pecora o bovino infetti), ed alcuni prodotti caseari prodotti con latte non pastorizzato, rappresentano una via importante d'infezione per l'uomo. La presenza del virus TBE è stata evidenziata sierologicamente nella popolazione umana in Italia a partire dal 1967, e comprende ora segnalazioni nelle province di Trento, Belluno, Gorizia, Firenze e Latina. Casi conclamati sono stati registrati nelle province di Trento, Belluno e Firenze; in queste province il virus è stato isolato da pool di zecche, con prevalenze medie di 0,5%. Notevole il numero di casi di malattia rilevati nella provincia di Belluno, dove dal 1994 al 2001 sono stati registrati 57 casi, 49 dei quali relativi a popolazione residente. In provincia di Trento sono stati evidenziati 10 casi in fase acuta dal 1992 al 1999, mentre la prevalenza di anticorpi in soggetti a rischio è dell'1%.

La Malattia di Lyme è la più diffusa malattia trasmessa da zecche nell'emisfero boreale ed è attualmente endemica in larga parte dell'Europa, dell'Asia e del Nord America. E' causata da spirochete appartenenti al complesso *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.), veicolate in Europa principalmente da *I. ricinus*. Questa spirocheta presenta più genospecie, spesso sintopiche nella stessa zecca, a diversa ecologia e patogenicità. Quelle attualmente ritenute ad alta patogenicità per l'uomo comprendono *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* e *B. afelii*. Oltre a queste genospecie responsabili della patologia umana, altre specie sono state recentemente identificate fra gli isolati ottenuti da vettori ed ospiti vertebrati non primati quali: *B. japonica*, *B. andersonii*, *B. lusitanae*, *B. valaisiana* e *B. bissettii*.

Registrata per la prima volta in Italia nel 1983, la malattia è molto diffusa ed è segnalata in quasi tutta la nazione, dal Nord al Sud, con una probabile sottostima di prevalenza e incidenza. Il livello di sieropositività della popolazione italiana è stimato attorno al 5%, dal

2,4% della Sicilia a valori superiori al 10% nelle aree endemiche del Nord, come Liguria e Friuli. Per quanto riguarda l'Italia nord-orientale, presso l'Ospedale di Belluno dal 1992 al 2001 sono stati diagnosticati 536 casi, presso l'Ospedale di Gemona del Friuli dal 1993 al 2000 i casi registrati sono stati 2272. Nelle zecche il patogeno è stato riscontrato con prevalenze variabili dall'1 al 17,5 %.

L'Ehrlichiosi Granulocitica Umana (HGE) è una malattia dell'uomo e degli animali sostenuta da batteri del genere *Anaplasma* (*Ehrlichia*), in particolare da *A. phagocytophila*; è considerata una zoonosi emergente. In Italia è stata segnalata in diverse regioni, soprattutto in persone a rischio per infezioni trasmesse da zecche e come infezione multipla in co-occorrenza con la malattia di Lyme. La compresenza di *Borrelia* ed *Anaplasma* in *I. ricinus* è stata segnalata per la prima volta in Italia nel Lazio e recentemente è stata riscontrata nel Bellunese e in Trentino; la prevalenza di *Anaplasma* nelle ninfe è risultata del 24,4% nel Lazio e del 7,6% nel Bellunese e 9,8% in Trentino.

Reservoirs

I "reservoirs" comprendono l'insieme delle popolazioni di ospiti, vettori e ambienti in cui un agente patogeno può essere permanentemente mantenuto e da cui l'infezione può essere trasmessa ad una determinata popolazione target. Di fatto, la dinamica di una malattia trasmessa da zecche è determinata da numerosi fattori fisiologici ed ecologici correlati alle caratteristiche ambientali, alle specie ospiti, al vettore e al patogeno, che agiscono nel determinare l'intensità di trasmissione della malattia. I patterns epidemiologici di una malattia trasmessa da zecche dipendono strettamente dal tasso base di riproduzione (R_0) del patogeno trasmesso dal vettore, cioè dal numero di infezioni secondarie prodotte da un singolo individuo vettore infetto. Se $R_0 < 1$ l'infezione non persiste. Un meccanismo di base necessario al mantenimento delle infezioni trasmesse da zecche è rappresentato dall'amplificazione dell'infezione stessa: le malattie trasmesse da zecche possono essere amplificate sia orizzontalmente che verticalmente. Nel primo caso, l'ospite vertebrato che funge da serbatoio dell'infezione deve essere in grado di trasmettere l'infezione a uno o più vettori che a loro volta trasmetteranno l'infezione a uno o più ospiti recettivi. La trasmissione dell'infezione deve inoltre verificarsi da uno stadio di sviluppo (es. larva o ninfa) a quello successivo (ninfe ed adulti) ed è noto come trasmissione "transtadiale". L'ampiezza del range di ospiti della zecca condiziona l' R_0 e l'amplificazione dell'infezione: minore è il range, minore è la probabilità di diffusione della malattia. Alcune zecche si cibano esclusivamente su una o due specie di vertebrati; altre invece sono meno specifiche ed utilizzano numerosi tipi di ospiti: tra esse va annoverato *I. ricinus* che può parassitare più di 237 specie di animali ospiti.

Il primo elemento che condiziona l'amplificazione orizzontale delle malattie trasmesse da zecche è l'infettività

di una specie ospite. L'infettività è rappresentata dalla proporzione di zecche che diventano infette dopo un pasto di sangue su una determinata specie ospite. A tal riguardo, le specie animali che fungono da ospiti per le zecche si dividono in "non competenti" e "competenti". Gli ospiti non-competenti sono quelli che svolgono un ruolo importante nel fornire il pasto di sangue alle zecche, ma non trasmettono infezioni, mentre gli ospiti competenti perpetuano sia l'infezione sia contribuiscono al mantenimento delle popolazioni di zecche.

Il tasso d'infestazione degli ospiti è un altro parametro determinante da considerare nell'amplificazione orizzontale. Infatti, il numero di infezioni dell'ospite dipende dal numero di zecche infette e dal livello d'infezione delle stesse, mentre il numero di zecche che si infetta dipende dal numero di zecche suscettibili, oltre che dall'infettività dell'ospite.

La probabilità d'infestazione dell'ospite dipende da fattori ecologici, legati alla tipologia dell'ambiente, e comportamentali sia dell'ospite che del vettore. In particolare è necessaria una sovrapposizione tra habitat e comportamento della zecca e dell'ospite. Ad esempio, il capriolo frequenta preferibilmente le aree ecotonali ai margini del bosco nonché le zone ricche di cespugli: tali aree sono preferite anche dagli stadi ninfali e adulti di *I. ricinus*. Certi comportamenti inoltre, come il tipo di alimentazione o la marcatura del territorio da parte del maschio e lo sfregamento dei palchi, aumentano la probabilità di contatto tra ospite e zecca. La frequenza di contatto dipende anche dal comportamento dei diversi stadi di sviluppo delle zecche, che a loro volta sono condizionate da fattori microclimatici. Il massimo di attività delle zecche si registra di solito nei periodi primaverili ed estivi, periodi che peraltro caratterizzano anche un'elevata attività di molti ospiti vertebrati.

L'amplificazione verticale avviene invece mediante la trasmissione degli agenti patogeni dalla femmina adulta alle uova e successivamente alle larve. La trasmissione verticale è spesso condizionata, oltre che dal tipo, anche dalla quantità di patogeni ingeriti. Elevati livelli d'infezione si accompagnano ad una ridotta trasmissione transovarica per aumento di mortalità delle uova. La trasmissione verticale risulta comunque generalmente efficiente nel caso di infezioni virali, come TBE.

Un altro meccanismo di amplificazione individuato di recente è rappresentato dalla trasmissione di virus o batteri da una zecca all'altra che si nutrono simultaneamente su di uno stesso ospite. Questo meccanismo, detto di co-suzione (co-feeding), permette una notevole amplificazione dell'infezione perché non necessita della circolazione del patogeno all'interno dell'ospite. Questo meccanismo risulta particolarmente importante per la persistenza del virus della TBE.

La dinamica di popolazione e la densità degli ospiti in un determinato ambiente condizionano la trasmissione dell'infezione: ambienti con alta densità di ospiti sono generalmente caratterizzati da elevate densità di zecche che potenzialmente si infettano. Il turnover delle popolazioni è importante, soprattutto quando l'ospite divie-

ne immune o perde infettività. I micromammiferi, ad esempio, svolgono un ruolo determinante poiché hanno un rapido turnover che garantisce la presenza costante di individui suscettibili.

L'infettività dell'ospite, il tasso di infestazione e la densità dell'ospite condizionano quindi l'abbondanza di vettori infetti. Lo studio di questi parametri ci permette di calcolare il potenziale di reservoir (reservoir potential) di una specie nell'infettare la popolazione di zecche.

La fluttuazione delle popolazioni di ospiti condiziona fortemente la dinamica di trasmissione della malattia ed il relativo rischio zoonosico. Ad esempio, è stato osservato come le fluttuazioni di certe specie di micromammiferi condizionano la prevalenza d'infezione nelle zecche con *Borrelia burgdorferi*, agente della malattia di Lyme. E' stato infatti osservato come picchi di popolazione siano seguiti l'anno successivo da un aumento di zecche infette. Studiando le popolazioni di micromammiferi è quindi possibile predire il rischio d'infezione per le malattie trasmesse dalle zecche che utilizzano tali specie come ospiti.

La durata d'infettività dell'ospite competente, cioè il periodo di tempo durante il quale una zecca può assumere un agente patogeno da un ospite, condiziona il mantenimento o l'amplificazione della malattia. Essa è variabile a seconda del patogeno e dell'ospite: in genere è di breve durata per i virus (da alcune ore a settimane), mentre nel caso di batteri come *Borrelia*, può durare per tutta la vita dell'ospite. La durata d'infettività dell'ospite generalmente subisce variazioni stagionali per la nascita di individui non infetti, per l'instaurarsi dell'immunità o per variazioni periodiche di batteriemia.

Le modalità attraverso le quali viene portato a termine il pasto di sangue condiziona la trasmissione degli agenti patogeni. Il successo di suzione, ad esempio, dipende dal grado di immunità acquisita dall'ospite competente nei confronti della zecca: generalmente infestazioni ripetute aumentano l'immunità dell'ospite nei confronti delle zecche riducendo la quantità di sangue che esse ingeriscono. Esistono tuttavia differenze legate alla specie di ospite. E' stato infatti dimostrato come il potenziale di reservoir per la malattia di Lyme nel topo selvatico dal collo giallo (*Apodemus flavicollis*) e nel topo selvatico (*Apodemus sylvaticus*) sia differente di quello dell'arvicola rossastra (*Clethrionomys glareolus*) e che quindi l'abbondanza relativa di queste specie condiziona l'epidemiologia di *B. afzelii*.

In alcuni casi i meccanismi difensivi dell'ospite impediscono lo sviluppo del patogeno nel vettore. Ad esempio, è stato dimostrato come il potere borrelcida complemento-mediato del siero condiziona, oltre al mantenimento dell'infezione nell'ospite, la sopravvivenza della spirocheta nel vettore. Tale meccanismo invece non pare sia efficiente nel caso di trasmissione di virus. In altri casi l'immunità acquisita dall'ospite impedisce la muta delle zecche agli stadi successivi, bloccando quindi il ciclo di trasmissione transtadiale delle malattie da esse veicolate.

Principali ospiti vertebrati di *Borrelia burgdorferi* s.l., TBE virus e *A. phagocytophila*

I diversi pattern epidemiologici osservati per le malattie trasmesse da *I. ricinus* dipendono anche dal numero e dalla distribuzione delle specie di ospiti vertebrati in grado di mantenere i diversi agenti patogeni considerati. L'ampia distribuzione della Borreliosi di Lyme, e l'elevato numero di genospecie circolanti, dipendono dal potenziale elevato di trasmissione delle spirochete in diverse tipologie ambientali grazie al lungo periodo di infettività di una vasta gamma di vertebrati. Questi comprendono diverse specie di micro e mesomammiferi (arvicole, topi selvatici, toporagno, ricci, scoiattoli, ghiri), ospiti soprattutto di *B. afzelii* e *B. burgdorferi* s.s., uccelli (merli, pettirosso, fagiano), ospiti soprattutto di *B. garinii*, e ruminanti domestici (pecore) che sono in grado di mantenere cicli endemici attraverso infezioni non sistemiche. Gli ungulati selvatici (cervi e caprioli) non sono in grado di trasmettere l'infezione alle zecche per l'elevato potenziale borrelidico del loro siero. Il loro effetto è detto di "diluizione" per questa malattia proprio perché pur mantenendo elevata la densità di zecche nell'ambiente, ne riducono la percentuale d'infezione.

La TBE presenta invece una distribuzione più aggregata. Almeno dieci specie di roditori e insettivori sono stati classificati come ospiti del virus TBE in Europa centrale. I più importanti sono rappresentati dai topi selvatici, seguiti dall'arvicola rossastra e dalla talpa. Risultano altamente suscettibili al virus e l'infezione può causare alti livelli di mortalità con conseguenze sulla dinamica di queste specie. Il mantenimento dell'infezione si basa soprattutto sull'infezione attraverso co-feeding delle zecche che avviene anche su soggetti già immuni, soprattutto appartenenti alla specie *A. flavicollis*. I grandi mammiferi (ovini, caprini, ungulati selvatici) possono contrarre l'infezione da TBE virus, ma generalmente il livello di viremia raggiunto in queste specie non è sufficiente ad infettare le zecche, anche se l'infezione può essere trasmessa con il latte; di conseguenza essi sono considerati ospiti di mantenimento delle zecche ma non del virus.

La recente scoperta dell'Ehrlichiosi Granulocitica (HGE) come malattia acuta febbrile negli Stati Uniti e nell'Europa ha generato un crescente interesse per questo patogeno da parte della sanità pubblica e del mondo scientifico. I dati epidemiologici sinora raccolti non

sono sufficienti per definire la sua diffusione a livello nazionale. *Anaplasma phagocytophila* è un batterio intracellulare obbligato che parassita i granulociti di numerose specie di mammiferi. Il batterio presenta un vasto range di ospiti sia domestici che selvatici che comprendono il cane, le pecore, i bovini, i cavalli così come i ruminanti selvatici come i caprioli e i micromammiferi. Il ruolo dei vertebrati selvatici nel mantenimento dell'infezione e tuttora oggetto di ricerche, anche se alcune evidenze sperimentali indicano come sia i micromammiferi sia i caprioli possano fungere da ospiti competenti.

Ringraziamenti

This study was supported by The Research Fund of the Autonomous Province of Trento, under Grant n. 1060 (4 May 2001) ECODIS 'Ecology and control of some zoonotic wildlife diseases'. We thank the Servizio Gestione Sanitaria, the Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Sezione di Trento, the N.O. Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria APPS of the Autonomous Province of Trento for their help in data and samples collection.

Riferimenti bibliografici principali

- AAVV (2001). Progetto Cooperazione Interregionale Veneto - Carinzia per lo studio, la sorveglianza e la prevenzione delle infezioni trasmesse da zecche 2000-2001: Attività e prospettive di intervento. Regione Veneto, U.L.S.S. n. 1 di Belluno.
- Chemini C, Rizzoli A (2002). La zecca del bosco (*Ixodes ricinus*): ruolo vettore e fattori favorevoli la sua diffusione. Atti XIX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Catania 10-15 Giugno 2002: 1163-1173.
- Hudson PJ, Rizzoli A, Grenfell BT, Hesterbeek H, Dobson AP (2002). The Ecology of Wildlife Diseases. Oxford University Press.
- Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK (2002). Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg Infect Dis* 8: 1468-1473.
- Manilla G (1998). Acari Ixodida. Fauna d'Italia, vol. 36. Calderini, Bologna, VIII+280 pp.
- Mather T, Ginsberg H (1994). Vector-host-pathogens relationship: transmission dynamics of tick-borne infection. Ecological dynamics of tick-borne zoonoses. Sonenshine D, Mather T, eds, Oxford University Press, New York-Oxford.
- Perkins SE, Cattadori IM, Tagliapietra V, Rizzoli A, Hudson PJ (2003). Evidence for functional groups in disease transmission, *Int J Parasitology* 33: 909-917.