

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

**Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute**

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in  
MEDICINA VETERINARIA

*Hepatozoon e Cytauxzoon* nei felidi:  
aspetti epidemiologici e diagnostici

Relatore

Prof. Antonio Frangipane di Regalbono

Correlatore

Dott.ssa Marika Grillini

Laureando

Jacopo Cavuoti

Matricola n. 111877

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

# INDICE

ABSTRACT .....	2
RIASSUNTO .....	3
1. INTRODUZIONE E SCOPO .....	4
2. EZIOLOGIA.....	6
2.1 Phylum Apicomplexa .....	6
2.2 Genere <i>Cytauxzoon</i> .....	7
2.3 Genere <i>Hepatozoon</i> .....	9
3. DIFFUSIONE .....	11
3.1 <i>Cytauxzoon felis</i> .....	11
3.2 <i>Cytauxzoon europaeus</i> , <i>Cytauxzoon otrantorum</i> e <i>Cytauxzoon banethi</i> .....	12
3.3 <i>Cytauxzoon manul</i> .....	15
3.4 <i>Hepatozoon felis</i> .....	15
3.5 <i>Hepatozoon silvestris</i> .....	17
3.6 <i>Hepatozoon canis</i> .....	17
4. CICLO BIOLOGICO E ASPETTI EPIDEMIOLOGICI .....	19
4.1 Ciclo biologico di <i>Cytauxzoon</i> spp. ....	19
4.2 Cytauzoonosi: aspetti epidemiologici .....	21
4.3 Ciclo biologico di <i>Hepatozoon</i> spp. ....	28
4.4 Hepatozoonosi felina: aspetti epidemiologici.....	30
5. PATOGENESI E SEGNI CLINICI .....	34
5.1 Cytauzoonosi .....	34
5.2 Hepatozoonosi .....	36
6. DIAGNOSI.....	38
6.1 Cytauzoonosi: aspetti diagnostici .....	38
6.2 Hepatozoonosi: aspetti diagnostici .....	44
7. TERAPIA E CONTROLLO.....	51
7.1 Cytauzoonosi .....	51
7.2 Hepatozoonosi .....	54
8. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE .....	55
BIBLIOGRAFIA .....	58
RINGRAZIAMENTI .....	72

## ABSTRACT

*Cytauxzoon* spp. and *Hepatozoon* spp. include different parasites belonging to the phylum Apicomplexa. *Cytauxzoon* spp., responsible for feline cytauxzoonosis, is probably the least known genus within the order Piroplasmida. The biological cycle shows analogies with other known piroplasmids, and its transmission occurs through the inoculation of the parasite during a blood meal by a tick vector. Most available data for *Cytauxzoon felis* on the domestic cat (*Felis silvestris catus*) and wild felids, such as bobcat (*Lynx rufus*) and wild cat (*Felis silvestris silvestris*), come from North America; however, during the last decade, multiple studies confirmed the presence of *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum* and *Cytauxzoon banethi* in the domestic cat, Eurasian lynx (*Lynx lynx*) and Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Hepatozoon* spp. has been thoroughly on domestic and wild canids, but available information about felids is scarce and needs further investigation. Feline hepatozoonosis is caused by *Hepatozoon felis*, *Hepatozoon silvestris* and *Hepatozoon canis*. Cytauxzoonosis and hepatozoonosis are classified as *Vector Borne Diseases* (VBDs), and they are emerging pathologies that can lead to fatal clinical cases. Even though there has been an increase in the number of cases in Europe, many aspects concerning the biological cycle, etiology, and clinical signs of these infections are still unknown. This work comes from a bibliographic research that aims to give *Hepatozoon* spp and *Cytauxzoon* spp. an epidemiologic, diagnostic and therapeutic overview, other than underline the vet's condition when it comes to supporting the diagnosis, therapy, and prophylaxis of these parasitic diseases.

## RIASSUNTO

I generi *Cytauxzoon* ed *Hepatozoon* includono diversi parassiti appartenenti al phylum Apicomplexa. *Cytauxzoon* spp., responsabile della cytauxzoonosi felina, è probabilmente il genere meno conosciuto all'interno dell'ordine Piroplasmida. Il ciclo biologico mostra analogie con altri piroplasmidi conosciuti e la trasmissione si realizza attraverso l'inoculazione del parassita durante il pasto di sangue compiuto da una zecca infetta. La maggior parte delle informazioni disponibili provengono dal Nord America e riguardano *Cytauxzoon felis* nel gatto domestico (*Felis silvestris catus*) e nei felidi selvatici, come la lince rossa (*Lynx rufus*) e il gatto selvatico (*Felis silvestris silvestris*); tuttavia, durante gli ultimi decenni, molteplici studi hanno confermato la presenza di *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum* e *Cytauxzoon banethi* nel gatto domestico, nella lince eurasiatica (*Lynx lynx*) e nella lince iberica (*Lynx pardinus*). *Hepatozoon* spp. è stato ampiamente studiato sui canidi domestici e selvatici, ma le informazioni riguardanti l'infezione nei felidi sono scarse e richiedono maggiori approfondimenti. L'hepatozoonosi felina è causata da *Hepatozoon felis*, *Hepatozoon silvestris* e *Hepatozoon canis*. Cytauxzoonosi ed hepatozoonosi sono classificate come *Vector Borne Diseases* (VBDs); si tratta di patologie emergenti in grado di provocare anche quadri clinici fatali. Nonostante il numero di casi in Europa stia crescendo, molti aspetti riguardanti il ciclo biologico, l'eziologia e i segni clinici di queste infezioni rimangono ancora sconosciuti. Il presente elaborato è frutto di una raccolta bibliografica finalizzata ad attribuire ai generi *Hepatozoon* e *Cytauxzoon* un inquadramento epidemiologico, diagnostico e terapeutico, oltre a sottolineare le condizioni in cui si trova il medico veterinario nell'ottica di supportare la diagnosi e la terapia, così come la profilassi, di queste patologie parassitarie.

## 1. INTRODUZIONE E SCOPO

I generi *Cytauxzoon* ed *Hepatozoon* includono diversi parassiti ematici di origine protozoaria appartenenti al phylum Apicomplexa. *Cytauxzoon* spp., responsabile della cytauxzoonosi felina, è stato segnalato per la prima volta nel 1976 negli Stati Uniti ed è probabilmente il genere meno conosciuto all'interno dell'ordine Piroplasmida. Il ciclo biologico presenta delle analogie con quello già noto di altri piroplasmidi e la trasmissione si realizza mediante l'inoculazione del parassita durante il pasto di sangue di una zecca infetta. La maggior parte dei dati disponibili sulle infezioni sostenute da *Cytauxzoon* spp. nei gatti domestici e in altri felidi provengono dal Nord America, dove la lince rossa (*Lynx rufus*) funge da serbatoio di *Cytauxzoon felis* mentre il gatto domestico (*Felis silvestris catus*) da ospite suscettibile. Nell'ultimo decennio, diversi studi hanno confermato la presenza di *Cytauxzoon* spp. anche nei felidi europei, asiatici e africani. In Europa, la cytauxzoonosi felina è stata documentata nei gatti domestici, nella lince eurasiatica (*Lynx lynx*), nella lince iberica (*Lynx pardinus*) e nei gatti selvatici europei (*Felis silvestris silvestris*). Può essere causata da tre specie di recente scoperta, *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum* e *Cytauxzoon banethi*. In Asia e in Africa è stata invece identificata la specie *Cytauxzoon manul* rispettivamente nel gatto di Pallas (*Otocolobus manul*) e nel leone (*Panthera leo*). Il genere *Hepatozoon* è costituito da centinaia di specie di parassiti intraeritrocitari obbligati a distribuzione mondiale in grado di infettare una vasta gamma di ospiti intermedi vertebrati (mammiferi, uccelli, rettili, anfibi), mentre le zecche fungono da vettori. L'hepatozoonosi felina, può essere causata dalle specie *Hepatozoon felis*, *Hepatozoon silvestris* ed *Hepatozoon canis*. Il primo caso noto di hepatozoonosi felina risale al 1908 in India e da allora ci sono state poche altre segnalazioni nei gatti. Infatti, nonostante la distribuzione, il ruolo patogenetico e le caratteristiche cliniche delle infezioni sostenute da *Hepatozoon* spp. siano state ampiamente studiate nei canidi domestici e selvatici, le informazioni disponibili nei felidi sono minimali e necessitano di ulteriori indagini. Cytauxzoonosi ed hepatozoonosi vengono classificate tra le *Vector-Borne Diseases* (VBDs) essendo entrambe malattie veicolate e trasmesse da artropodi vettori. Si tratta di patologie emergenti tra le popolazioni feline in grado di provocare anche quadri clinici fatali. In Europa, Italia compresa, negli ultimi anni è stato registrato un aumento dei casi di infezioni nei felidi ad opera di *Cytauxzoon* spp. ed *Hepatozoon* spp. Ciononostante, molti aspetti riguardanti il ciclo biologico, l'eziologia e la manifestazione clinica di queste infezioni nel gatto rimangono ancora oggi ignoti. Complice di ciò sicuramente è la difficoltà dei medici

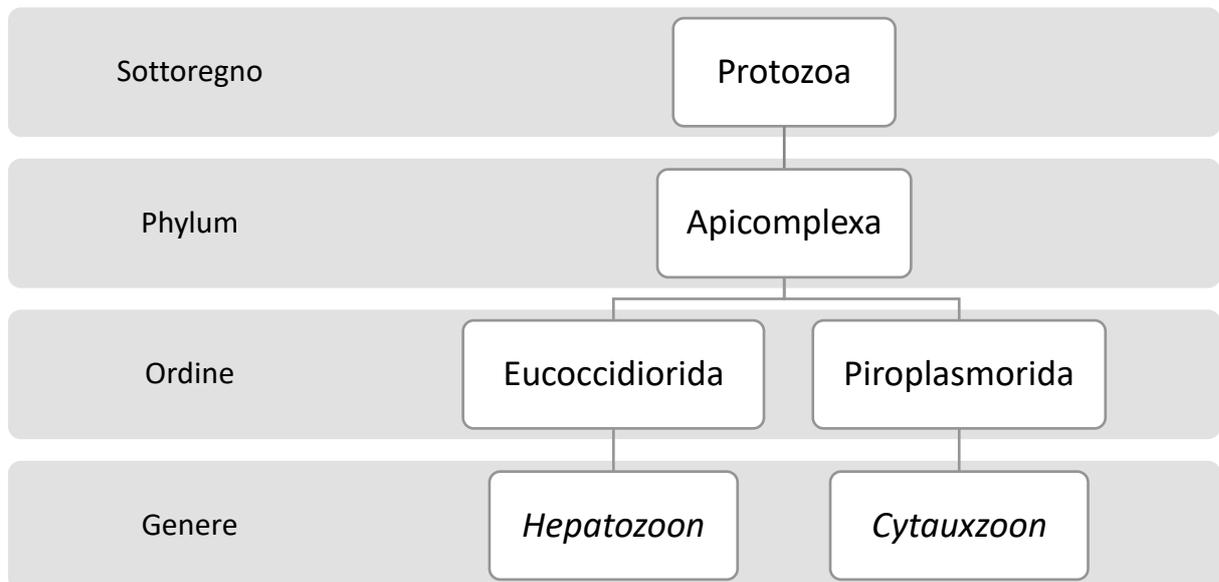
veterinari nel palesare il sospetto clinico, dati i segni clinici estremamente aspecifici, che può contribuire ulteriormente a sottostimare la loro presenza e diffusione. Il presente elaborato è frutto di una raccolta bibliografica finalizzata ad attribuire ai generi *Hepatozoon* e *Cytauxzoon* un inquadramento da un punto di vista epidemiologico, diagnostico e terapeutico. Lo scopo di questo lavoro è pertanto quello di evidenziare quali sono, sulla base delle conoscenze attuali, le condizioni in cui si trova il medico veterinario nell'ottica di supportare la diagnosi e la terapia, così come la profilassi, di queste patologie parassitarie.

## 2. EZIOLOGIA

### 2.1 PHYLUM APICOMPLEXA

I protozoi inclusi nel phylum Apicomplexa sono caratterizzati dal compimento di alcune fasi del ciclo biologico in sede intracellulare. Il nome deriva dal latino “*apex*” (sommità) e “*complexus*” (proteso) e si riferisce al complesso apicale di cui questi microrganismi sono provvisti in determinati stadi del ciclo vitale. Tale struttura, costituita da fibrille, microtubuli e altre componenti, risulta fondamentale in quanto rende possibile la penetrazione attiva delle cellule bersaglio. La riproduzione di questi protozoi prevede una fase asessuata (schizogonia) e una sessuata (gametogonia). Quest’ultima si conclude con la formazione di uno zigote, il quale dividendosi porta alla formazione delle spore (sporogonia).

All’interno del phylum, si annoverano i parassiti ematici oggetto di studio: *Cytauxzoon* spp. ed *Hepatozoon* spp. (Figura 1)



**Figura 1** - Classificazione dei protozoi oggetto di indagine.  
(Tratto da: Taylor et al., 2010)

## 2.2 GENERE *CYTAUXZOOM*

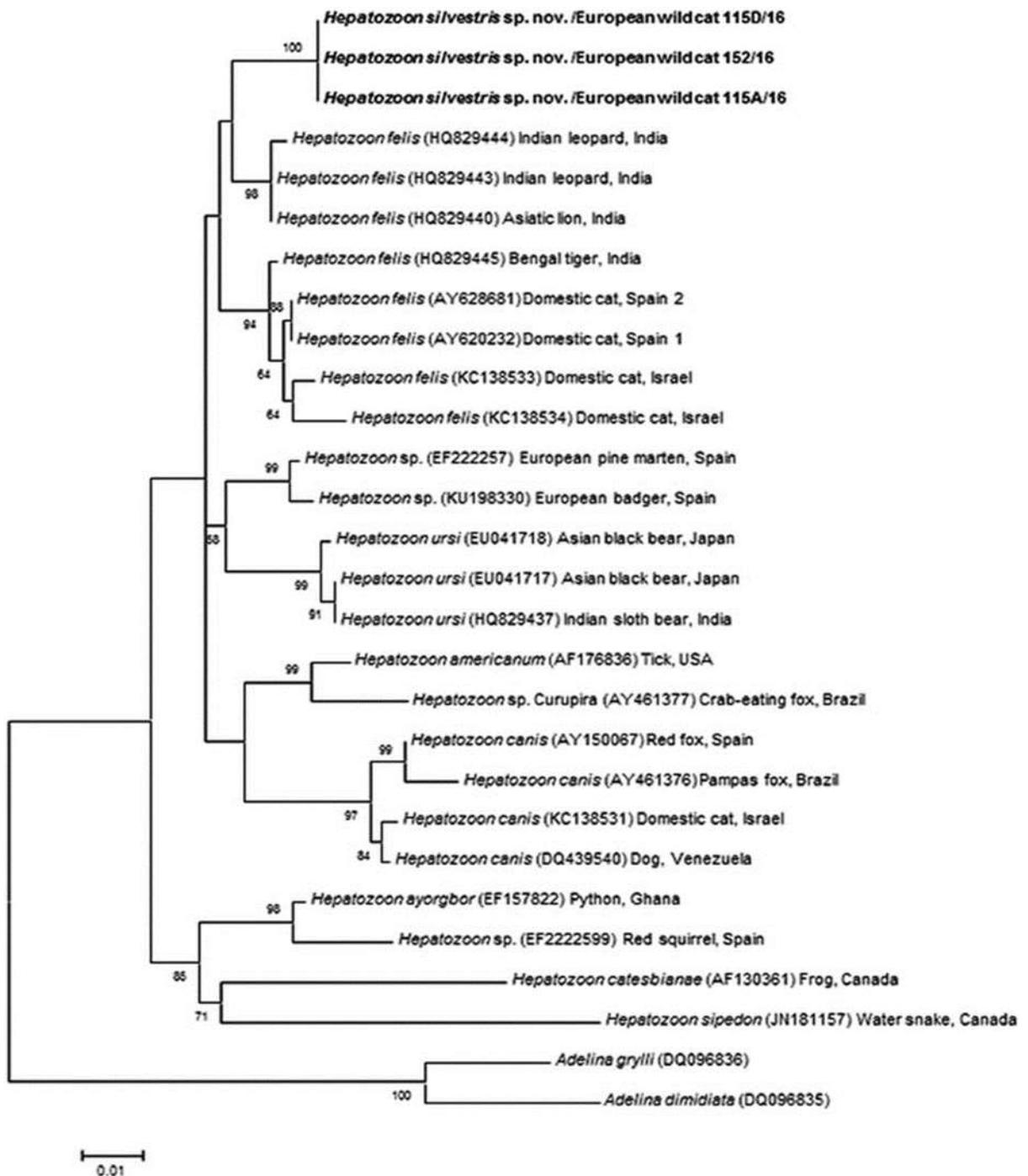
I parassiti del genere *Cytauxzoon* (classe Sporozoa, ordine Piroplasmida, famiglia Theileridae) sono dei piroplasmi *Theileria*-simili in grado di infettare un'ampia varietà di felini selvatici e domestici in tutto il mondo. Con il termine "piroplasmi" si intende un gruppo di protozoi rilevabili soprattutto negli eritrociti e nei leucociti di organismi vertebrati. La riproduzione asessuata si realizza nell'ospite vertebrato, mentre quella sessuata nell'invertebrato. Essi non producono oocisti a seguito del processo di sporogonia. Presentano un ciclo biologico eteroxeno e vengono trasmessi dalle zecche. Il genere *Cytauxzoon*, come riportato, è strettamente imparentato con *Theileria*, e ciò rende difficoltoso distinguere i due parassiti presenti nelle cellule degli ospiti mammiferi da un punto di vista morfologico. A differenza di *Theileria*, però, la schizogonia di *Cytauxzoon* avviene all'interno delle cellule reticoloendoteliali e non nei linfociti. Le specie principalmente investigate nel gatto domestico e nei felidi selvatici includono *Cytauxzoon felis*, *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum*, *Cytauxzoon banethi* e *Cytauxzoon manul* (Figura 2).



**Figura 2** - Albero filogenetico di *Cytosuxoon* spp. basato sulle indagini molecolari delle sequenze del gene Citocromo B.  
(Tratto da Willi et al., 2022)

## 2.3 GENERE HEPATOZOON

Il genere *Hepatozoon* (classe Conoidasida, ordine Eucoccidiorida, famiglia Hepatozoidae) è costituito da più di 340 specie di parassiti intraeritrocitari obbligati a distribuzione mondiale, in grado di infettare una vasta gamma di mammiferi, uccelli, rettili e anfibi. Tra le specie di *Hepatozoon* conosciute, meno di 50 colpiscono i mammiferi e ancora meno presentano un ciclo vitale completo e documentato. Diversi studi suggeriscono che il genere raggruppi in realtà alcuni lignaggi tra loro molto distinti, tuttavia la divisione di questo gruppo è ancora oggi da considerarsi controversa. Questi parassiti condividono tutti un ciclo biologico eteroxeno che prevede il coinvolgimento di un ospite intermedio vertebrato, in cui si verifica la fase asessuata di merogonia con sviluppo in gamonti, e di un ospite definitivo invertebrato dove avvengono invece le fasi di gametogonia e sporogonia con la formazione di oocisti sporulate. La trasmissione può avvenire per mezzo di una zecca, ma sono state descritte anche ulteriori vie di infezione come la trasmissione transplacentare o la predazione di un ospite paratenico vertebrato che alberga in cisti tissutali, i cistozoiti. Da tutto ciò si evince la complessità dei cicli vitali caratteristici di questi parassiti. I gamonti possono essere osservati rispettivamente mediante microscopia degli strisci ematici e il DNA di *Hepatozoon* spp. indagato tramite indagini molecolari. L'hepatozoonosi felina, può essere causata dalle specie *Hepatozoon felis*, *Hepatozoon silvestris* ed *Hepatozoon canis*.



**Figura 3** - Albero filogenetico di *Hepatozoon* spp. basato sulle indagini molecolari delle sequenze del gene 18S rRNA.  
(Tratto da: Hodžić et al., 2016)

### 3. DIFFUSIONE

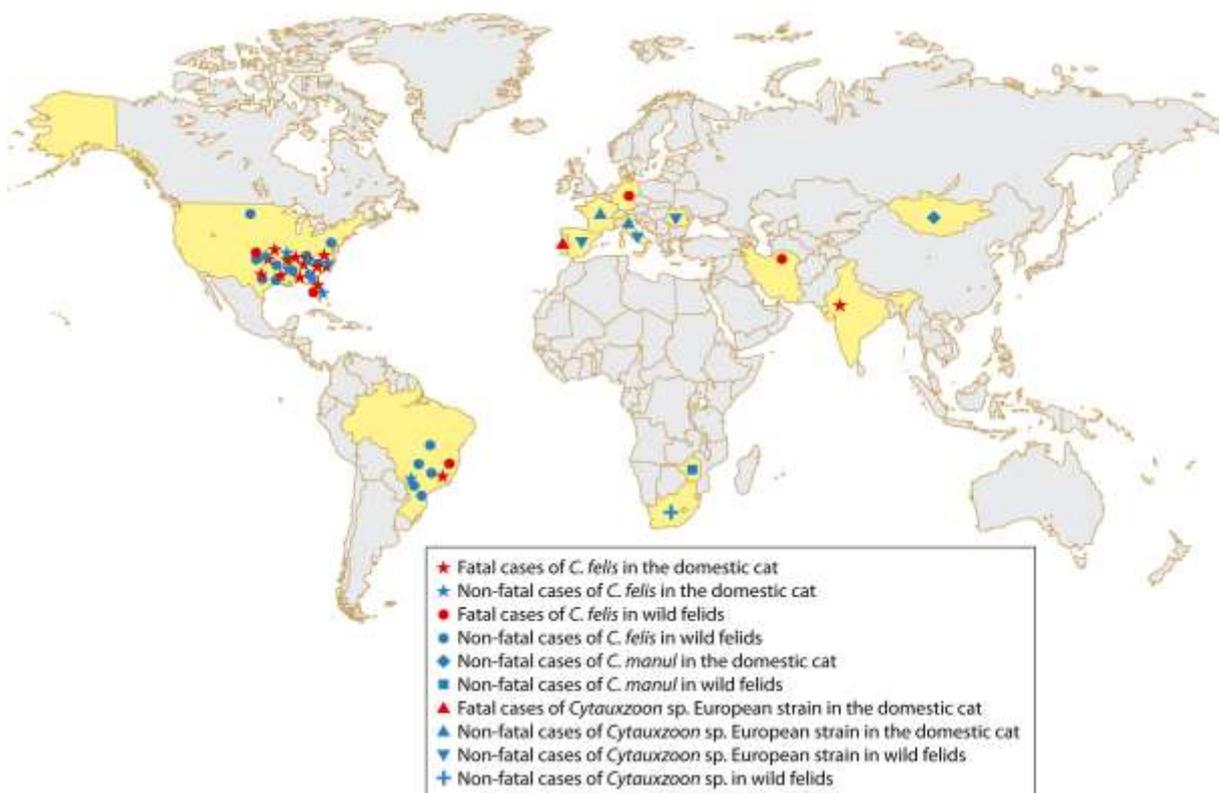
#### 3.1 CYTAUXZOOM FELIS

La cytauxzoonosi sostenuta da *C. felis* è stata segnalata per la prima volta nel 1976 nel Missouri, dove viene riportata nel gatto domestico (*Felis silvestris catus*) come la causa di quattro casi fatali (Wagner, 1976). Per molti anni la malattia è risultata endemica esclusivamente nel Nord America, in particolare negli stati meridionali, sudorientali e medio-atlantici degli Stati Uniti. Gli stati americani endemici comprendono Kentucky (Miller, Davis, 2013), Georgia (Brown et al., 2009), Tennessee (Shock et al., 2014) e Texas (Rotstein et al., 1999), oltre che North e South Carolina, e Virginia (Birkenheuer et al., 2006), Oklahoma e Arkansas (Mueller et al., 2013), Kansas (Nietfeld, and Pollock, 2002) e Florida (Garner et al., 1996). Nei territori statunitensi *C. felis* è stato identificato, oltre che nel gatto domestico, anche nella lince rossa (*Lynx rufus*) (Glenn et al., 1983), considerata il serbatoio del parassita, e in altri felidi selvatici come il puma (*Puma concolor*) (André et al., 2009), il puma del Texas (*Puma concolor stanleyana*) e la pantera della Florida (*Puma concolor coryi*) (Rotstein et al., 1999).

Dagli inizi del nuovo millennio *C. felis* è stato segnalato anche in Brasile (Peixoto et al., 2007), Sudafrica (Leclaire et al., 2015), Cina (Zou et al., 2019), Iran (Rassouli et al., 2015; Zaeemi et al., 2015), Turchia (Karaca et al., 2007), e Germania (Jakob, Wesemeier, 1996) sia nel gatto domestico che in felidi selvatici come il giaguaro (*Panthera onca*), il leone (*Panthera leo*), l'ocelot (*Leopardus pardalis*), la tigre (*Panthera tigris*), il ghepardo (*Acinonyx jubatus*), il gatto maculato (*Leopardus tigrinus*), e il gatto selvatico europeo (*Felis silvestris silvestris*).

Il primo caso fatale di cytauxzoonosi felina sostenuta da *C. felis* in India è stato segnalato nel 2009 (Varshney et al., 2009) e, secondo gli autori, quello fu anche il primo episodio nel continente asiatico. Le successive segnalazioni in Asia riguardano soprattutto l'Iran, dove sono state registrate le positività al patogeno in un gatto domestico randagio (Rassouli et al., 2015) e in un gatto selvatico (Zaeemi et al., 2015). In Brasile *C. felis* è stato identificato in gatti domestici (Maia et al., 2013) e in leoni nati e cresciuti in cattività, detenuti in alcuni zoo (Peixoto et al., 2007). In Germania il parassita è stato rinvenuto in una tigre del Bengala appartenente ad uno zoo (Jakob, Wesemeier, 1996). Non ci sono attualmente dati che rivelano la presenza di *C. felis* in Italia.

Nella Figura 4 è possibile osservare la distribuzione mondiale delle infezioni sostenute da *Cytauxzoon felis* nei gatti domestici e nei felidi selvatici.

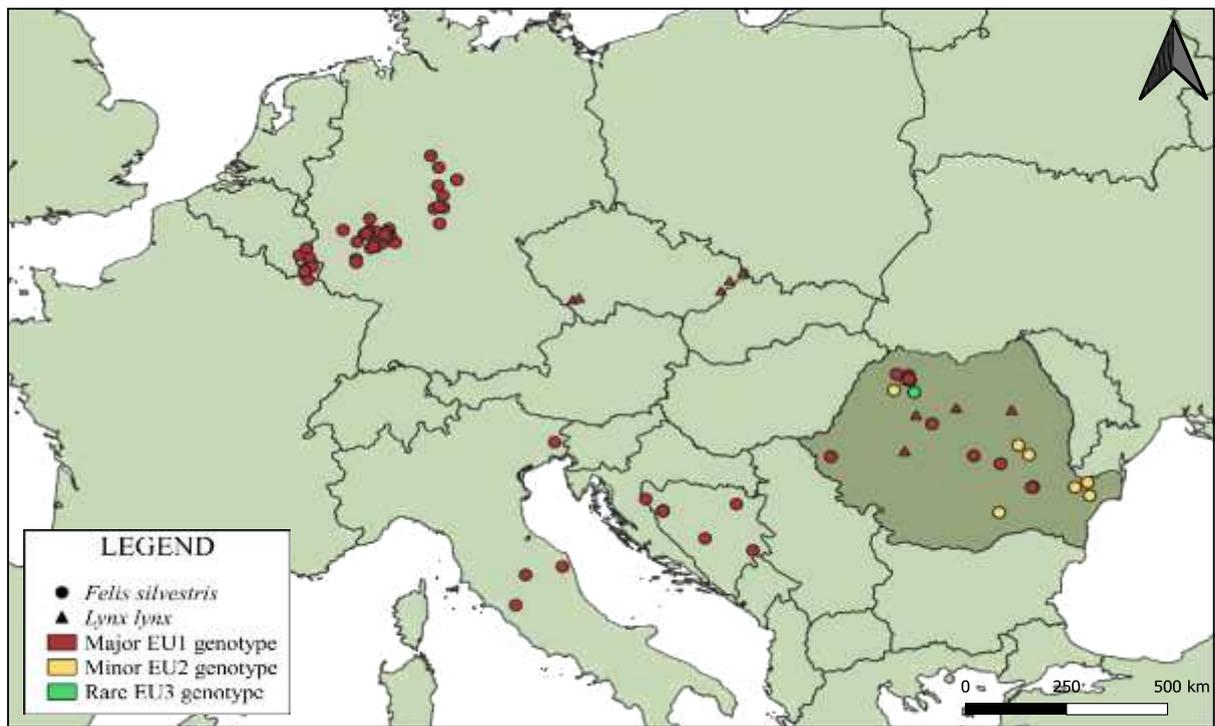


**Figura 4** - Distribuzione geografica delle infezioni sostenute da *Cytauxzoon* spp. nei gatti domestici e nei felidi selvatici. I territori dove sono stati riportati i casi di cytauxzoonosi felina sono stati evidenziati in giallo. (Tratto da: Wang et al., 2017)

### 3.2 *CYTAUXZON EUROPAEUS*, *CYTAUXZON OTRANTORUM* E *CYTAUXZON BANETHI*

Negli ultimi anni in Europa sono state segnalate numerose infezioni sostenute da protozoi del genere *Cytauxzoon* filogeneticamente distinti da *C. felis* e apparentemente più vicini a *Cytauxzoon manul* isolato dai gatti di Pallas (*Otocolobus manul*) in Mongolia (Gallusová et al., 2016; Legroux et al., 2017). Positività nel gatto domestico vengono segnalate in Italia (Carli et al., 2012; Carli et al., 2014; Veronesi et al., 2016; Morganti et al., 2019; Ebani et al., 2020; Grillini et al., 2021; Antognoni et al., 2022), Spagna (Díaz-Regañón et al., 2017), Francia (Legroux et al., 2017), Portogallo (Alho et al., 2016) e, più recentemente, in Svizzera (Nentwig et al. 2018; Willi et al., 2022) e Germania (Panait et al., 2020). Nel territorio europeo sono stati riscontrati anche casi di infezioni da *Cytauxzoon* spp. nei felidi selvatici come il gatto selvatico

europeo (*Felis silvestris silvestris*) in Italia (Veronesi et al., 2016; Panait et al., 2021), in Francia (Willi et al., 2022), Romania, Germania, Lussemburgo, Bosnia ed Erzegovina (Panait et al., 2021), la lince pardina (*Lynx pardinus*) in Spagna (Millán et al., 2007) e la lince euroasiatica (*Lynx lynx*) in Romania, Repubblica Ceca e Svizzera (Panait et al., 2021; Gallusová et al., 2016). I parassiti del genere *Cytauxzoon* rinvenuti sul suolo europeo venivano genericamente identificati come “*Cytauxzoon* sp.”, o ci si riferiva ad essi come ad un “ceppo europeo sconosciuto”. Recentemente, grazie a indagini filogenetiche condotte da Panait et al. (-2021), è possibile affermare l’esistenza di tre specie di *Cytauxzoon* nei felidi europei: *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum* e *Cytauxzoon banethi*. *Cytauxzoon europaeus*, denominato inizialmente “genotipo EU-1”, è stato identificato nei gatti selvatici europei provenienti da Germania (Stati federati dell’Assia, della Bassa Sassonia e della Renania-Palatinato), Romania (distretti dell’Alba, di Braşov, di Buzău, di Covasna, di Maramureş, di Mureş, di Neamţ, di Sălaj e di Timiş), Repubblica Ceca (regioni della Moravia-Slesia, della Boemia Meridionale e di Zlín), Lussemburgo (cantoni di Mersch, di Clervaux, di Vianden, di Lussemburgo e di Wiltz), Bosnia-Erzegovina (Bosnia), in Italia (regioni delle Marche, dell’Umbria, del Friuli Venezia Giulia e del Lazio) e nelle linci eurasiatiche provenienti dalla Romania, dimostrando di essere l’aplogruppo europeo maggiormente diffuso. *Cytauxzoon otrantorum*, o “genotipo EU-2”, è stato invece individuato solo nei gatti selvatici provenienti dalla Romania (distretti di Tulcea, di Bucarest, di Sălaj e di Vrancea) e considerato l’aplogruppo in minor presenza, così come anche *Cytauxzoon banethi*, o “genotipo EU-3”, considerato raro e presente solo in due campioni (distretti di Maramureş e di Cluj) (Figura 5). La presenza di *Cytauxzoon* spp. in Romania era già stata investigata nei felidi selvatici della parte transilvana della catena montuosa dei Carpazi (Gallusová et al., 2016).



**Figura 5** - Distribuzione geografica dei genotipi europei di *Cytauxzoon* spp. nei felidi selvatici, differenziati per ospite.

(Tratto da: Panait et al., 2021)

In Svizzera i primi casi clinici di un'infezione da *Cytauxzoon* spp. sono stati segnalati in cinque gatti domestici provenienti da Montignez e Vallorbe, nel nord-ovest e nell'ovest della nazione, in regioni vicine al confine francese (Nentwig et al. 2018). Uno studio successivo (Willi et al., 2022) ha stabilito la presenza di *C. europaeus* in Svizzera anche in sei gatti domestici provenienti dal Canton Argovia, nella Svizzera centrale, in un gatto domestico proveniente dal Canton Giura, nella Svizzera nord-occidentale, e in un gatto domestico proveniente dal Canton Basilea Campagna, nella Svizzera settentrionale. Successivamente, è stata confermata la presenza del parassita anche in dieci gatti selvatici provenienti dalla Francia orientale (Willi et al., 2022). Le analisi biomolecolari targanti i geni mitocondriali in gatti rinvenuti sul suolo svizzero hanno rivelato la presenza di *Cytauxzoon europaeus*, seguito da *Cytauxzoon otrantorum* e, in minor misura, da *Cytauxzoon banethi*. In Germania il primo caso di infezione da *Cytauxzoon* spp. è stato documentato in un gatto domestico a Saarlouis, nello Stato federale del Saarland (Panait et al., 2020). In Francia il primo caso clinico è stato riportato invece in un gatto domestico proveniente da un'area rurale della Francia nord-orientale, precisamente a Saint Sauveur (regione della Borgogna-Franca Contea) (Legroux et al., 2017). Uno studio condotto in Spagna (Millán et al., 2007) ha evidenziato la presenza di un'ulteriore

specie oltre a *C. felis* nella lince pardina. In Italia le conoscenze relative alla presenza di *Cytauxzoon* spp. risultano scarse e limitate a un numero esiguo di casi in aree ubicate per lo più nelle regioni settentrionali e meridionali. Come menzionato nello studio di Panait et al., (-2021), *Cytauxzoon europaeus* è stato identificato nei gatti selvatici provenienti da Macerata (Marche), Perugia (Umbria), Udine (Friuli-Venezia Giulia) e Viterbo (Lazio). Ultimamente sono stati inoltre descritti nell'Italia centrale (regione Umbria) tre casi clinici di gatti domestici di proprietà affetti da una specie europea di *Cytauxzoon* (Antognoni et al., 2022) nonostante tale area non fosse fino ad oggi considerata endemica. Uno studio condotto nel Nord-Est Italia (Veneto, Friuli-Venezia Giulia e Trentino-Alto Adige) (Grillini et al., 2021) ha confermato che la città di Trieste (Friuli-Venezia Giulia) è un sito endemico per la presenza di *Cytauxzoon* spp. nei gatti domestici di colonia, dimostrando come il parassita circoli nelle popolazioni feline presenti in loco, così come evidenziato in precedenti studi condotti nella stessa area (Carli et al., 2012; Morganti et al., 2019) che hanno riscontrato delle positività. Un'altra regione del Nord Italia dove è stata trovata la presenza di *Cytauxzoon* spp nel gatto domestico è l'Emilia-Romagna (Ebani et al., 2020). Due casi clinici di infezione da *Cytauxzoon* spp. nei gatti domestici randagi sono stati descritti anche nella regione Lazio (Carli et al., 2014). La presenza di *Cytauxzoon* spp. nel gatto selvatico in Italia è stata segnalata solo in alcune regioni come Marche, Lazio e Friuli-Venezia Giulia (Veronesi et al., 2016).

### 3.3 *CYTAUXZOON MANUL*

*Cytauxzoon manul* è stato segnalato nel gatto di Pallas (*Otocolobus manul*) in Mongolia e nel leone (*Panthera leo*) in Zimbabwe. A seguito di analisi molecolari condotte targando il gene 18S-rDNA, uno studio ha identificato *C. manul* in un gruppo di gatti di Pallas importati dalla Mongolia negli Stati Uniti (Ketz-Riley et al., 2003). Analogamente a quanto detto per *C. felis*, anche per *C. manul* non sono attualmente disponibili dati che ne indichino la presenza sul suolo italiano.

### 3.4 *HEPATOZOON FELIS*

Delle tre specie che sono state segnalate nei felidi, *Hepatozoon felis* è considerata la più diffusa e diagnosticata nei casi di hepatozoonosi felina in diversi Paesi del mondo. Questo parassita è stato descritto nel gatto domestico per la prima volta nel 1908 in India (Patton, 1908). In Brasile *H. felis* è stato investigato nel gatto domestico in uno studio condotto a Sao Luis (De Bortoli et al., 2011). Segnalazioni extra-europee del parassita sono riportate anche nei felini selvatici di Corea (Kubo et al., 2010), Giappone (Kubo et al., 2006), Tanzania (East et al., 2008) e Argentina (Giannitti et al., 2012); inoltre nel continente africano è stata dimostrata la sua presenza in uno studio condotto a Capo Verde (Pereira et al., 2019). In Europa *H. felis* è stato segnalato in diversi Paesi del bacino Mediterraneo e nell'Europa centrale, in particolare, a seguito di indagini molecolari, è stato amplificato nel sangue proveniente da gatti domestici di colonia e/o proprietà in Italia (Grillini et al., 2021; Giannelli et al., 2017), Spagna (Díaz-Regañón et al., 2017; Ortuño et al., 2008), Portogallo (Maia et al., 2014), Cipro (Attipa et al., 2017), Grecia (Morelli et al., 2021; Diakou et al., 2020) e Austria (Basso et al., 2019). In queste aree geografiche, il parassita è stato rinvenuto in diversi esponenti della famiglia Felidae, come la lince rossa (*Lynx rufus*), il ghepardo (*Acynonyx jubatus*), il gatto a testa piatta (*Prionailurus planiceps*), il giaguaro (*Panthera onca*), il leopardo (*Panthera pardus*), il gatto tigre (*Leopardus tigrinus*), il leone (*Panthera leo*), l'ocelot (*Leopardus pardalis*), il gatto di Pallas (*Otocolobus manul*), il puma (*Puma concolor*), la tigre (*Panthera tigris*), il gatto selvatico europeo (*Felis silvestris silvestris*) e il gatto domestico (*Felis silvestris catus*). Il primo caso di hepatozoonosi felina sostenuta da *H. felis* nell'Europa centrale è stato descritto in un gatto domestico originario dello Stato federale del Burgenland, in Austria (Basso et al., 2019). In Spagna la presenza del parassita è stata rintracciata in gatti domestici provenienti da Madrid (Díaz-Regañón et al., 2017) e Barcellona (Ortuño et al., 2008). In Portogallo *H. felis* è stato dimostrato essere presente nei gatti domestici del nord (Vilhena et al., 2013) e del centro del Paese (Maia et al., 2014). Uno studio condotto a Cipro (Attipa et al., 2017) ha evidenziato la presenza di *H. felis* in gatti domestici. Una recente indagine ha inoltre rivelato la presenza del parassita nel gatto domestico sia nella Grecia insulare, a Creta, Mykonos e Skopelos, che in quella continentale, nelle prefetture di Attica e di Salonicco (Morelli et al., 2021), dimostrando come l'hepatozoonosi felina sia diffusa sia in ambienti aridi che boscosi. *Hepatozoon felis* è stato recentemente descritto anche in un gatto selvatico (*Felis silvestris silvestris*) a Xanthi, nella Grecia settentrionale (Diakou et al., 2020). I primi dati sulla presenza di questo parassita nel gatto selvatico sono forniti da uno studio svolto in Bosnia ed Erzegovina (Hodžić et al., 2017). In Italia è stato dimostrato che *H. felis* circola nelle popolazioni feline sia nelle aree

settentrionali che in quelle meridionali della penisola. Lo studio condotto nel Nord-Est Italia (Grillini et al., 2021), ha confermato la presenza del parassita in gatti domestici sia di proprietà che di colonia/gattile provenienti dalle regioni Veneto, Friuli-Venezia Giulia e Trentino-Alto Adige. Nell'Italia meridionale invece, *H. felis* è stato identificato in gatti domestici originari della regione Puglia (province di Bari e Lecce) e Basilicata (provincia di Matera) (Giannelli et al., 2017).

### 3.5 *HEPATOZOON SILVESTRIS*

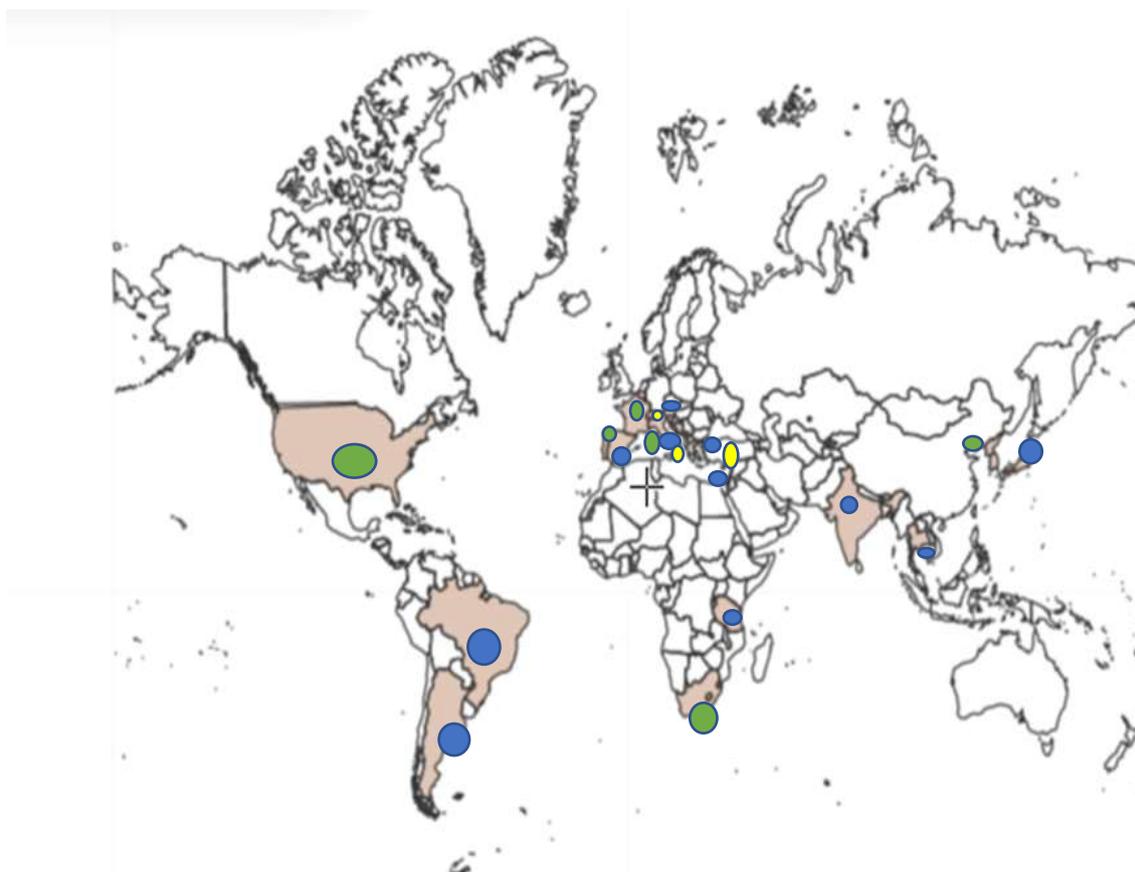
*Hepatozoon silvestris* deve il suo nome al fatto di essere descritto per la prima volta nei gatti selvatici in Bosnia-Erzegovina (Hodžić et al., 2017). In particolare, i gatti selvatici oggetto di indagine provenivano da cinque comuni della Bosnia-Erzegovina nord-occidentale (Bihać, Bosanski Petrovac), settentrionale (Odžak), orientale (Goražde) e centrale (Gornji Vakuf). Poco tempo dopo, la presenza di questo parassita è stata confermata anche in un gatto domestico subclinicamente infetto in Italia originario della provincia di Matera, in Basilicata (Giannelli et al., 2017), e in un gatto domestico con una grave miocardite in Svizzera (Kegler et al., 2018). Degno di nota è inoltre il ritrovamento di *H. silvestris* nei gatti domestici del Nord-Est Italia, originari delle regioni Veneto, Friuli-Venezia Giulia e Trentino-Alto Adige (Grillini et al., 2021).

### 3.6 *HEPATOZOON CANIS*

*Hepatozoon canis* è un parassita tipico dei canidi domestici e selvatici che è stato segnalato anche nel gatto domestico in diverse zone dell'Europa meridionale, Sudafrica e sud degli Stati Uniti (Urquhart et al., 1996), e Thailandia (Jittapalapong et al., 2006). Durante uno studio mirato a descrivere la filogenesi di *H. felis*, è stato individuato nei gatti domestici dello stato di Israele anche *H. canis* (Baneth et al., 2013). In Europa, *H. canis* è stato rilevato nel sangue di gatti domestici in Italia (Giannelli et al., 2017), Spagna (Díaz-Regañón et al., 2017), Francia (Criado-Fornelio et al., 2009). In Spagna l'identificazione è avvenuta grazie ad uno studio condotto su dei gatti domestici sia randagi che di proprietà originari di Madrid (Díaz-Regañón et al., 2017). In Italia si ha avuto la conferma della presenza di questo parassita nei territori

del Meridione grazie ad un'indagine condotta su campioni ematici di gatti domestici provenienti dalle province di Bari, Lecce e Matera (Giannelli et. al., 2017). Le infezioni sostenute da *H. canis* nel gatto sono riportate sporadicamente ed è, tra le tre specie in grado di causare l'hepatozoonosi felina, la meno diffusa.

Nella Figura 6 è possibile osservare la distribuzione mondiale delle infezioni sostenute da *Hepatozoon* spp. nei gatti domestici e nei felidi selvatici.



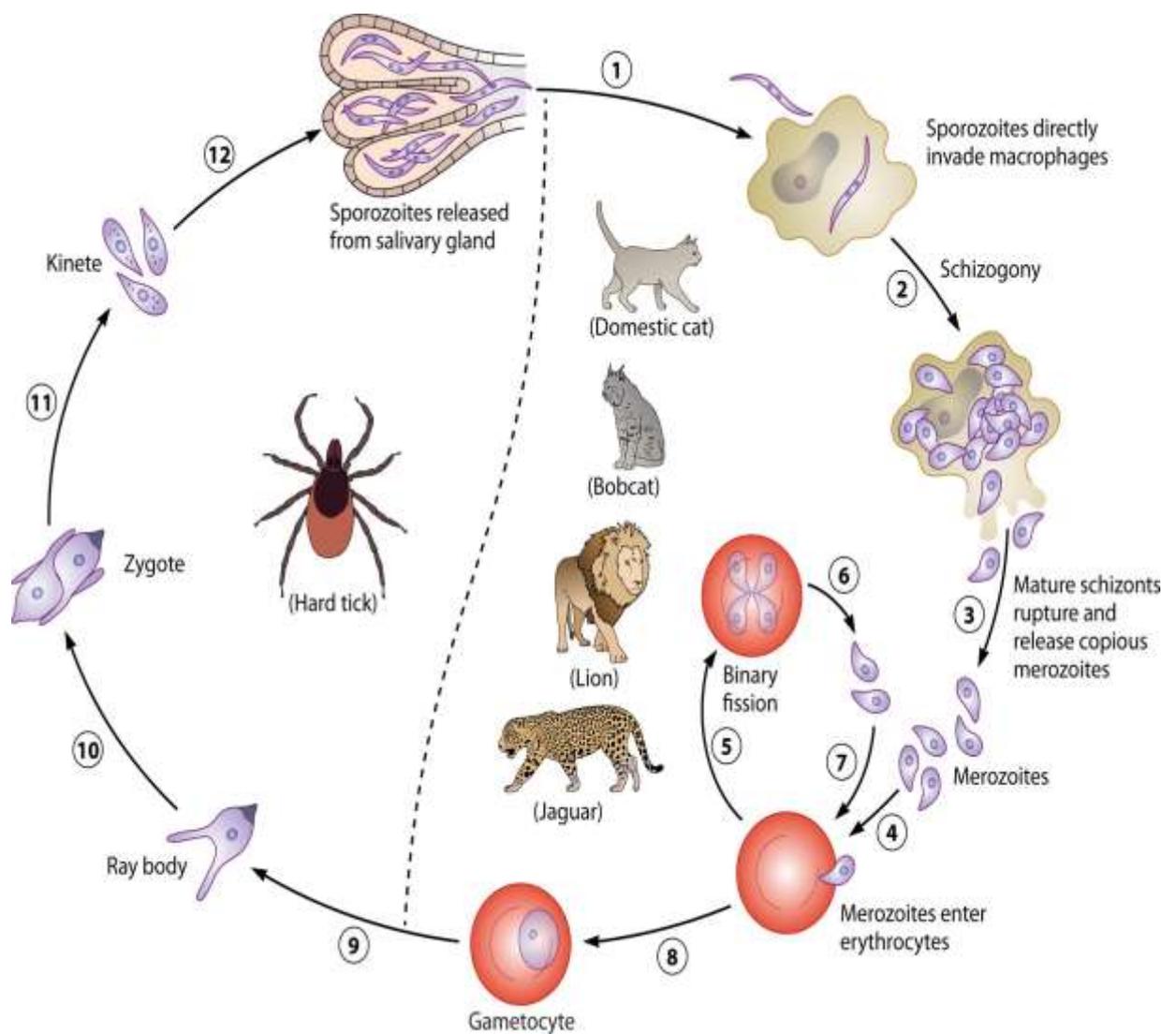
**Figura 6** - Mappa geografica della diffusione di *Hepatozoon* spp. nei felidi domestici e selvatici nel mondo. (giallo-*H. silvestris*; blu-*H. felis*; verde-*H. canis*).

(Tratto da Wagner et al., 1976; Peixoto et al., 2007; Leclaire et al., 2015; Zou et al., 2019; Rassouli et al., 2015; Zaeemi et al., 2015; Karaca et al., 2007; Jakob, Wesemeier, 1996; Varshney et al., 2009; Gallusová et al., 2016; Grillini et al., 2021; Díaz-Regañón et al., 2017; Legroux et al., 2017; Alho et al., 2016; Nentwig et al. 2018; Panait et al., 2020; Panait et al., 2021; Patton, 1908; De Bortoli et al., 2011; Kubo et al., 2006; Kubo et al., 2010; East et al., 2008; Giannitti et al., 2012; Pereira et al., 2019; Maia et al., 2014; Attipa et al., 2017; Morelli et al., 2021; Basso et al., 2019; Hodžić et al., 2017; Giannelli et. al., 2017; Kegler et al., 2018; Urquhart et al., 1996; Jittapalapong et al., 2006; Baneth et al., 2013; Criado-Fornelio et al., 2009; e modificato dall'autore)

## 4. CICLO BIOLOGICO E ASPETTI EPIDEMIOLOGICI

### 4.1 CICLO BIOLOGICO DI *CYTAUXZOOM* SPP.

La cytauxzoonosi viene descritta come una malattia emergente trasmessa da zecche ai felidi domestici e selvatici, causata da protozoi appartenenti al genere *Cytauxzoon*. La specie attualmente meglio caratterizzata e presa come riferimento all'interno di questo gruppo di patogeni è *C. felis*. Il ciclo biologico di *C. felis* prevede una zecca come ospite definitivo e un felide come ospite intermedio, all'interno dei quali si verificano rispettivamente la riproduzione sessuata e quella asessuata (Figura 7). Questi processi non sono ancora del tutto compresi, in particolare la riproduzione sessuata nel vettore zecca. L'ospite intermedio più comunemente colpito da *C. felis* in America è la lince rossa (*Lynx rufus*) (Wang et al., 2017), considerata il serbatoio di questo parassita con una prevalenza fino al 100% in alcune aree enzootiche.



**Figura 7** - Ciclo biologico schematico di *C. felis*.  
(Tratto da: Wang et al., 2017)

Ciononostante, *C. felis* è stato identificato anche nel gatto domestico (*Felis silvestris catus*) (Wang et al., 2017) e in altri felidi selvatici come il puma (*Puma concolor*) (Rotstein et al., 1999), il giaguaro (*Panthera onca*) (Furtado et al., 2017), il leone (*Panthera leo*) (Peixoto et al., 2007), l'ocelot (*Leopardus pardalis*) (André et al., 2009), il ghepardo (*Acinonyx jubatus*) (Garner et al., 1996), il gatto maculato (*Leopardus tigrinus*) (André et al., 2009), la tigre (*Panthera tigris*) (Garner et al., 1996) e il gatto selvatico europeo (*Felis silvestris silvestris*) (Zaemi et al., 2015). Sia la "lone star tick" (*Amblyomma americanum*) che la zecca americana del cane (*Dermacentor variabilis*) hanno dimostrato trasmettere *C. felis* in contesti sperimentali, tuttavia studi più recenti indicano la prima come ospite definitivo primario e vettore del parassita (Reichard et al., 2010). La zecca assume i gametociti tramite il pasto di sangue compiuto sull'ospite intermedio. Questi, una volta raggiunto l'intestino, danno origine

ai gameti. La fusione del gamete maschile con quello femminile determina la formazione di uno zigote diploide. Gli zigoti maturano e raggiungono la ghiandola salivare, sede in cui avviene il processo di sporogonia a seguito della quale si formeranno gli sporozoiti. Questi ultimi risultano infettanti per un ospite come la lince rossa o il gatto domestico. Solo le ninfe e gli adulti di queste zecche hanno un ruolo centrale nella trasmissione del patogeno ponendosi come ospiti definitivi, infatti non ci sono prove di trasmissione transovarica. I felidi contraggono l'infezione successivamente all'inoculazione degli sporozoiti del parassita da parte di una zecca infetta durante il pasto di sangue. Nel mammifero il parassita si moltiplica a livello sistemico in diverse cellule della linea mieloide (come cellule dendritiche, monociti, macrofagi, cellule di Langerhans), all'interno delle quali genera gli schizonti come risultato del processo di schizogonia. Da ciascuno schizonte si generano numerosi merozoiti, i quali, fuoriescono in seguito alla rottura dello schizonte stesso invadendo gli eritrociti e producendo all'interno di essi nuovi merozoiti tramite riproduzione asessuata per fissione binaria. A questo punto, i merozoiti escono dagli eritrociti e ne invadono di nuovi. Questo ciclo si ripete in maniera continua nell'ospite intermedio.

#### 4.2 CYTAUXZONOSI: ASPETTI EPIDEMIOLOGICI

La cytauxzoonosi felina è una parassitosi ben conosciuta nel Nord America, dove le linci rosse (*Lynx rufus*) rappresentano principale ospite-serbatoio confermato di *C. felis*. Dato che per anni è stata considerata endemica esclusivamente in questa parte del mondo, la maggior parte delle informazioni disponibili su questa patologia proviene da studi condotti negli Stati Uniti. Nel continente americano la malattia è veicolata primariamente da *Amblyomma americanum* e, come dimostrato in studi sperimentali, anche dalla zecca americana del cane *Dermacentor variabilis* (Blouin et al., 1987). I felidi, domestici o selvatici, contraggono l'infezione a seguito dell'inoculo degli sporozoiti parassitari da parte di una zecca infetta. La diffusione del parassita è, pertanto, intrinsecamente correlata a quella del suo vettore. Non a caso negli USA i casi clinici si concentrano nei mesi compresi tra aprile e ottobre, in concomitanza con il periodo di massima attività delle zecche sopracitate (Traversa et al., 2019). Le linci rosse arrivano a mostrare una prevalenza anche del 100% in alcune aree enzootiche, come gli Stati dell'Atlantico centrale (Antognoni et al., 2022). Dopo aver contratto

l'infezione, quest'ultime manifestano generalmente un breve decorso della malattia non fatale seguito da un completo recupero e, spesso, continuano ad albergare i merozoiti intraeritrocitari ricoprendo così il ruolo di serbatoio per lunghi periodi. Nel gatto domestico la cytauxzoonosi sostenuta da *C. felis* ha risvolti per lo più fatali, pertanto il suo ruolo nella propagazione del parassita rimane contenuto. Tuttavia, uno studio ha indicato che può verificarsi anche la situazione inversa, ossia linci che accusano forme acute gravi della malattia, talvolta letali, mentre alcuni gatti domestici possono risultare clinicamente sani o guarire completamente dopo la fase acuta della malattia, assumendo così talvolta il ruolo di serbatoi aggiuntivi (Meinkoth et al., 2000). Per capire le dinamiche inerenti alla trasmissione di questo parassita sono stati eseguiti numerosi esperimenti che hanno previsto l'inoculazione di sangue periferico e/o omogenati tissutali ottenuti con linfonodi, fegato, milza e polmoni di animali infetti. In uno studio volto a comprendere la trasmissione interspecifica della cytauxzoonosi è stato inoculato del sangue/omogenati tissutali provenienti da gatti domestici infettati sperimentalmente da *C. felis*, poi soppressi per la gravità della malattia, in animali da laboratorio, domestici e selvatici (Kier et al., 1982). Delle 30 specie animali infettate, solamente una lince rossa della Florida è deceduta manifestando nei giorni antecedenti la morte segni clinici riconducibili alla cytauxzoonosi. Un'altra lince rossa, seppur non abbia sviluppato la malattia, ha mostrato una parassitemia persistente. Nessuna altra specie animale infettata sperimentalmente in questo studio (eccezione fatta per una pecora con una bassa parassitemia persistente) ha sviluppato la malattia clinica o subclinica, come confermato dagli strisci ematici e dagli esami istopatologici e necroscopici. Lo stesso studio ha inoltre dimostrato che i gatti domestici inoculati con il sangue della pecora citata poc'anzi non hanno sviluppato alcuna malattia clinica o subclinica. Uno studio successivo ha mostrato che le pecore inoculate con il sangue/omogenati tissutali provenienti da gatti deceduti a causa di *C. felis* non sviluppano a loro volta alcuna malattia clinica o subclinica (Uilenberg et al., 1987). Le pecore non sono quindi suscettibili all'infezione sostenuta da *C. felis*, e una spiegazione plausibile per giustificare una parassitemia comprovata in questi animali è che in realtà riportino un'infezione concomitante sostenuta da un'altra specie di piroplasma morfologicamente indistinguibile da *C. felis*. Infettando alcune linci rosse in vitro, o confinando quelle naturalmente infette, si è notato che l'esame microscopico di fegato, milza, polmoni e linfonodi non rivela la presenza degli schizonti (Bloiu et al., 1984). La conclusione alla quale si è giunti è che in questo felide sembra verificarsi una fase di schizogonia limitata. Tuttavia, il sangue di queste linci infette inoculato nei gatti domestici risulta sufficiente per determinarne

il decesso o lo sviluppo di una parassitemia (Glenn et al., 1982). È stato inoltre dimostrato che se viene inoculato del sangue periferico proveniente da un gatto domestico parassitato ad un gatto domestico sano questo può provocare una parassitemia nel ricevente, senza che compaia alcun segno clinico (Meinkoth et al., 2000). *C. felis* non può essere trasmesso verticalmente dalla madre alla prole, come confermato da uno studio condotto su due gatte gravide, clinicamente sane e positive al parassita, che hanno partorito soggetti tutti negativi (Lewis et al., 2012). Per quanto concerne la specificità d'ospite è possibile affermare che il parassita può infettare, oltre che le linci rosse e i gatti domestici, anche altri felidi selvatici. In Florida è stata condotta un'indagine che ha mostrato una prevalenza di *C. felis* nei puma del Texas (*Puma concolor stanleyana*) e delle pantere della Florida (*Puma concolor coryi*) rispettivamente del 39% e del 36%. Nonostante fossero rintracciabili i piroplasmi a livello eritrocitario, questi felidi non hanno riportato segni clinici o alterazioni ematologiche evidenti (Rotstein et al., 1999). È stato sperimentalmente dimostrato che la zecca americana del cane se infetta è in grado di trasmettere *C. felis* alle linci rosse (Blouin et al., 1987), così come è in grado di veicolare il parassita da linci rosse infette a gatti domestici (Kocan et al., 1992). È importante tenere presente però che un vettore confermato sperimentalmente, ovvero in condizioni di laboratorio, non sempre lo è anche nel contesto naturale. Infatti, la capacità vettoriale degli artropodi è influenzata da molteplici condizioni, quali ad esempio la specie, la popolazione, l'effetto del patogeno sugli stessi, la durata della vita o la preferenza d'ospite. Per questo motivo, l'efficacia vettoriale della zecca americana del cane nelle aree di endemicità non può essere comprovata sperimentalmente. In uno studio condotto nel Missouri (Bondy et al., 2005), zona dove la cytauxzoonosi è endemica, sono state raccolte da cani e gatti domestici e analizzate oltre un migliaio di zecche. Tra tutte queste, solamente alcuni stadi ninfali della "lone star tick" hanno mostrato una positività al parassita con una prevalenza dello 0,9%. Inoltre, varie specie di zecca, tra cui anche la zecca americana del cane, sono state sperimentalmente indotte ad eseguire il pasto di sangue su gatti domestici precedentemente risultati negativi. Solamente la "lone star tick" ha dimostrato di veicolare efficacemente l'infezione (Reichard et al., 2009). Un ulteriore studio ha comparato la capacità vettoriale della "lone star tick" con la zecca americana del cane, dimostrando che solo i gatti inoculati con la prima si sono infettati. In aggiunta, tra queste due specie, solamente la "lone star tick" ha mostrato una positività al parassita, sia nello stadio adulto che ninfale (Reichard et al., 2010). Tutto ciò conferma quanto la "lone star tick" sia il vettore principale di *C. felis* in condizioni naturali, tuttavia non si può comunque escludere il ruolo di vettore della zecca

americana del cane. Un'indagine condotta in 13 Stati degli USA ha evidenziato la correlazione esistente tra l'elevata densità della "lone star tick" e le alte prevalenze di *C. felis*. La stessa correlazione statistica non è invece stata provata per la zecca americana del cane (Shock et al., 2011). Questo conferma ulteriormente come la "lone star tick" abbia una maggiore capacità vettoriale in natura. La trasmissione di *C. felis* ad opera di una "lone star tick" si realizza in un tempo minimo di 36 ore di attaccamento; al contrario, non è stata dimostrata alcuna trasmissione a seguito dell'ingestione della zecca infetta (Thomas et al., 2017). È stato dimostrato come un suolo provvisto di molteplici coperture boschive e inserito in un contesto climatico sufficientemente umido favorisca lo sviluppo delle popolazioni di zecche e, quindi, della diffusione della cytauxzoonosi felina (Mueller et al., 2013). In letteratura vengono riportati sempre più frequentemente casi di guarigione dalla cytauxzoonosi felina da parte del gatto domestico negli Stati Uniti meridionali e sudorientali e anche in altre aree geografiche differenti (Wang et al., 2017). In Arkansas e Georgia il tasso di prevalenza del parassita in gatti clinicamente sani ad alto rischio testati era del 30,3% (Brown et al., 2010), mentre in Brasile dello 0,7% (André et al., 2015). Sempre in Brasile è stata evidenziata una prevalenza del 96,7 % nei giaguari selvatici (Furtado et al., 2017), confermando ulteriormente come la cytauxzoonosi felina sia endemica anche in Sud America. Uno studio ha dimostrato come il gatto domestico subclinicamente infetto sia in grado di trasmettere la cytauxzoonosi ad un altro gatto domestico sano mediante l'intervento vettoriale di *Amblyomma americanum* (Reichard et al., 2010). Questo aspetto è di fondamentale rilevanza, in quanto suggerisce che i gatti domestici subclinicamente infetti possono fungere essi stessi da serbatoio, aumentando notevolmente il rischio di esposizione al parassita. Un altro aspetto epidemiologico da considerare è quello inerente all'importazione negli zoo di animali esotici provenienti da altre regioni geografiche. Esiste infatti la possibilità che vengano importati felidi infetti da aree endemiche. Un esempio è dato da un caso di cytauxzoonosi in una tigre del Bengala in uno zoo tedesco, il quale, in tempi precedenti, aveva importato tre linci rosse dagli Stati Uniti (Jakob, Wesemeier, 1996). Oltre a *C. felis*, sono stati segnalati anche altri piroplasmici riconducibili al genere nei felidi domestici e selvatici. In Europa *Cytauxzoon* spp. è stato rinvenuto nei gatti domestici in Spagna (Díaz-Regañón et al., 2017), Francia (Legroux et al., 2017), Italia (Carli et al., 2012; Carli et al., 2014; Veronesi et al., 2016; Morganti et al., 2019; Ebani et al., 2020; Grillini et al., 2021; Antognoni et al., 2022), Portogallo (Alho et al., 2016) e Svizzera (Nentwig et al. 2018; Willi et al., 2022), nei gatti selvatici in Francia (Willi et al., 2022), Italia (Veronesi et al., 2016; Panait et al., 2021), Romania, Germania e Bosnia ed Erzegovina

(Panait et al., 2021), nella lince pardina in Spagna (Millán et al., 2007) e nella lince eurasiatica in Romania, Repubblica Ceca e Svizzera (Panait et al., 2021; Gallusová et al., 2016). I tassi d'infezione nel Vecchio Mondo risultano diversi a seconda dei Paesi e delle specie ospiti coinvolte. Nel gatto domestico si passa da prevalenze dello 0,8% in Francia (Criado-Fornelio et al., 2009) fino al 22,9% in Italia (Carli et al. 2012). Nei felidi selvatici, invece, generalmente la prevalenza è superiore al 50% negli stati indagati quali Romania (Gallusová et al., 2016), Bosnia ed Erzegovina (Hodžić et al. 2018) e Spagna (Barandika et al., 2016; León et al., 2017). Le specie appartenenti al genere *Cytauxzoon* in Europa appaiono meno patogene rispetto a *C. felis*, non a caso gli studi compiuti a riguardo si riferiscono principalmente a casi subclinici. Le manifestazioni cliniche, quando presenti, sembrano essere in stretta correlazione con concomitanti malattie immunomediate o infezioni secondarie (Panait et al., 2020). È suggerita un'associazione significativa tra lo stile di vita outdoor dei gatti europei, in particolare nelle aree rurali, e la presenza in questi del parassita (Antognoni et al., 2022). La vita all'aperto, infatti, incrementa notevolmente il rischio di venire a contatto con il parassita a causa dell'esposizione al vettore e alla fauna selvatica, potenziale serbatoio, come dimostrato anche in studi recenti (Willi et al., 2022). Le popolazioni feline selvatiche, come ipotizzato a seguito del primo caso di cytauxzoonosi nella città di Saarlouis, in Germania, potrebbero occupare gli areali limitrofi delle zone urbane e rurali ed ibridarsi con i gatti domestici, ricoprendo così un ruolo centrale nella trasmissione del patogeno (Panait et al., 2020). Analogamente alla lince rossa per *C. felis* negli USA, è stato numerose volte ipotizzato che la lince eurasiatica e, in minor misura, la lince pardina possono fungere da serbatoio per le specie rinvenute nel continente europeo (Willi et al., 2022). *Cytauxzoon europaeus* è la specie predominante nei felidi selvatici europei, seguita da *C. otrantorum* e *C. banethi* (Panait et al., 2021). Come accennato nel paragrafo precedente, i presunti vettori zecca di *Cytauxzoon* spp. in Europa non sono ancora noti. L'ipotesi più probabile è che sia la zecca dei boschi (*Ixodes ricinus*) poiché rappresenta la specie maggiormente diffusa negli ecosistemi forestali del Vecchio Mondo. Si tratta della zecca prevalentemente rinvenuta su gatti domestici e selvatici europei, ed è inoltre l'unica specie rinvenuta nelle linci della Romania e Repubblica Ceca (Panait et al., 2021). Mentre negli USA la malattia è correlata al periodo caldo dell'anno, in Europa ancora le conoscenze sono ancora troppo frammentarie per poter identificare la finestra temporale con il maggior rischio di infezione per il gatto (Traversa et al., 2019). La cytauxzoonosi è considerata una malattia emergente nei felidi domestici e selvatici d'Europa, tuttavia i risultati di un'indagine condotta in Svizzera su campioni provenienti da gatti domestici e selvatici della

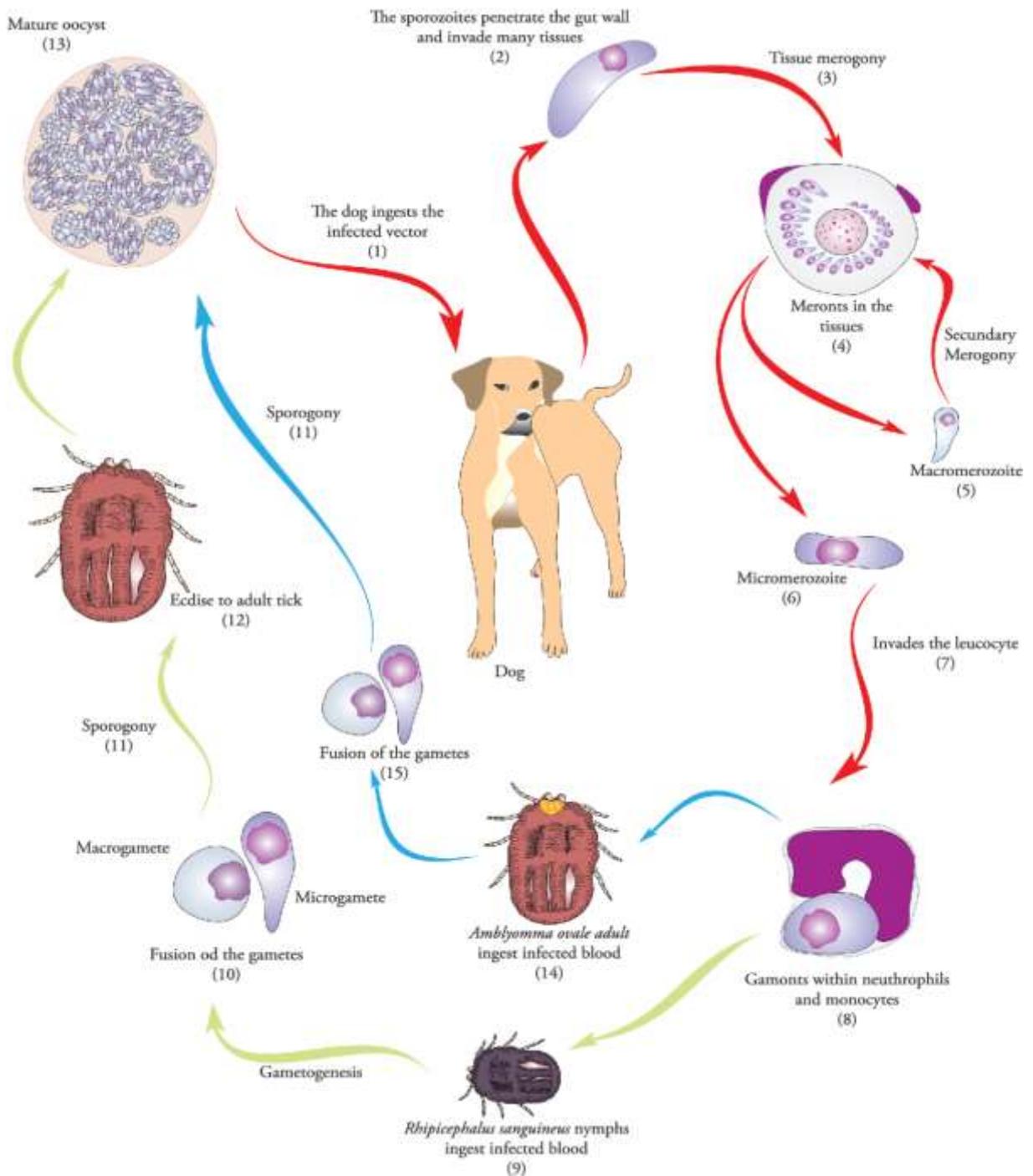
Francia orientale risalenti agli anni 1995-1996 suggeriscono che l'infezione è presente nell'Europa centrale da oltre due decenni (Willi et al., 2022). È quindi probabile che *Cytauxzoon* spp. in Europa sia sempre stato trascurato, seppur già diffuso, per via del suo basso potenziale patogeno rispetto a *C. felis*. Sempre grazie a questo studio si è osservato che la maggior parte dei gatti infetti non mostra segni di malattia e, a differenza di *C. felis*, non è mai stata documentata la presenza degli schizonti. Inoltre, nessuna correlazione significativa è stata riscontrata tra le infezioni a trasmissione sessuale o da retrovirus e quella sostenuta da *Cytauxzoon* spp. (Willi et al., 2022). Non è ancora chiaro se i comportamenti aggressivi possano avere un ruolo nella trasmissione del parassita, anche se un contatto ematico diretto è piuttosto improbabile in tali circostanze (Willi et al., 2022). In uno studio condotto in Italia, seppur sia stata rilevata un'alta prevalenza del parassita nei gatti domestici, la maggior parte di questi risultava clinicamente sana e nessuna associazione statistica è stata trovata tra infezione, stato clinico, risultati di laboratorio o mortalità per *Cytauxzoon* spp. in Europa (Carli et al., 2012). Nonostante ci si riferisca ad una patologia principalmente a carattere subclinico, sono state comunque documentate infezioni sintomatiche e persino fatali. Tuttavia, in questi casi non sono sempre state del tutto escluse le malattie concomitanti che possono esitare in segni clinici sovrapponibili, come neoplasia, disturbi intracranici o FIP (Carli et al., 2012; Alho et al., 2016). Uno studio condotto in Svizzera ha evidenziato la possibilità che il patogeno possa essere trasmissibile mediante trasfusioni ematiche (Nentwig et al., 2018). Per *C. felis* è stato dimostrato che la trasfusione causa una malattia grave se il sangue è stato raccolto durante la fase schizogonica; per le specie europee, invece, la trasfusione da gatti subclinici non induce schizogonia o malattia clinica, bensì determina una parassitemia cronica nel ricevente (Nentwig et al., 2018). Non è ancora chiaro se la trasfusione con sangue proveniente da gatti infetti sia in grado di causare la malattia clinica nel ricevente, lo stesso studio consiglia però di sottoporre i gatti donatori a screening per questo patogeno (Nentwig et al., 2018). Un'indagine recente condotta nel Nord-Est Italia indica che l'areale limitrofo alla città di Trieste rappresenta un sito endemico per cytauxzoonosi, con una prevalenza nei gatti domestici di colonia che si aggira intorno al 23% (Grillini et al., 2021), la medesima segnalata dieci anni prima (Carli et al. 2012). Nella regione del Friuli-Venezia Giulia vi è un'importante presenza nel territorio di popolazioni feline selvatiche, i cui spostamenti ampiamente descritti con la vicina Slovenia potrebbero determinare un ponte epidemiologico tra l'Italia e quest'ultima. Non a caso è emerso che la prevalenza nei gatti domestici randagi è del 10,9%, mentre nei gatti domestici di proprietà non è stata riscontrata alcuna positività. Questo

suggerisce ancora una volta che i gatti che conducono uno stile di vita all'aperto siano maggiormente esposti all'infezione per via della condivisione del medesimo ambiente con i felidi selvatici e i vettori zecca presenti in loco. È stato ipotizzato che la riduzione dell'habitat faunistico ad opera dell'antropizzazione intensifichi gli areali di condivisione tra il gatto domestico e i felidi selvatici, incrementando significativamente la trasmissione di agenti patogeni tra questi. Lo stesso studio ha evidenziato come i gatti FIV-FelV positivi presentino prevalenze del parassita superiori. I soggetti positivi a *Cytauxzoon* spp. mostrano una lieve parassitemia, questo implica che potenzialmente tutti i soggetti sani subclinicamente infetti possono fungere da fonte d'infezione per i vettori e contribuire quindi alla propagazione del parassita. In Italia, nella regione Umbria, è stata descritta per la prima volta la coinfezione tra *Cytauxzoon* spp. e *Candidatus Mycoplasma turicensis* (Antognoni et al., 2022). Il ruolo che potrebbero avere le infezioni concomitanti in corso di cytauxzoonosi non è ancora chiaro, si pensa possano esacerbare i segni clinici ma mancano ancora dei dati certi per poter giungere a delle conclusioni (Antognoni et al., 2022). La prevalenza del parassita nella regione Emilia-Romagna si aggira intorno al 2,8% (Ebani et al., 2020). I dati inerenti alle prevalenze sul territorio italiano suggeriscono che *Cytauxzoon* spp. sia distribuito nella penisola in "hot spots" endemici distribuiti lungo la penisola (Antognoni et al., 2022). I dati relativi alla presenza e alla distribuzione di *Cytauxzoon* spp. in Italia rimangono limitati e circoscritti principalmente alle regioni settentrionali e centrali, con risultati spesso contrastanti. Per quanto riguarda *C. manul* si può solo dire che è stato segnalato in un gruppo di gatti di Pallas importati dalla Mongolia, areale dove il parassita è endemico, negli Stati Uniti. Tuttavia, nessuno di questi animali ha manifestato segni clinici evidenti (Ketz-Riley et al., 2003; Reichard et al., 2005). Gli studi condotti su quest'ultima specie sono estremamente limitati. Tutti i felini possono essere ospiti target e ad oggi non vengono descritti altri mammiferi in grado di ospitare *C. felis*. Mentre *C. felis* è stato ben studiato in America a livello biologico, clinico e molecolare, le specie di recente scoperta in Europa rimangono ancora poco caratterizzate. I cicli vitali e i presunti vettori zecca di *C. europaeus*, *C. otrantorum* e *C. banethi* non sono ancora ufficialmente noti, lo stesso vale per *C. manul*. Quello che si conosce oggi sugli ospiti intermedi selvatici delle tre specie europee, così come la distinzione genetica e tassonomica delle stesse, lo si deve ad un recente studio che ha confermato la presenza di *C. europaeus* nel gatto selvatico e nella lince e di *C. otrantorum* e *C. banethi* nel gatto selvatico (Panait et al., 2021). Nel Vecchio Mondo, quindi, la cytauxzoonosi circola, oltre che nel gatto domestico, anche nel gatto selvatico, nella lince eurasiatica e nella lince pardina, i quali probabilmente fungono da serbatoi. Gli unici

mammiferi segnalati per essere stati infettati da *Cytauxzoon* spp. europeo che non appartengono alla famiglia Felidae sono il suricato (*Suricata suricatta*) e l'orso bruno di Hokkaido (*Ursus arctos lasiotus*) (Antognoni et al., 2022).

#### 4.3 CICLO BIOLOGICO DI *HEPATOZOON* SPP.

L'hepatozoonosi felina può essere causata dalle specie *Hepatozoon felis*, *Hepatozoon silvestris* ed *Hepatozoon canis*. Ad oggi il ciclo biologico di *H. felis* e di *H. silvestris* non è stato ancora del tutto chiarito, ma si può supporre che sia simile a quello noto di *H. canis* (Figura 8). Quest'ultimo presenta un ciclo biologico indiretto dove le zecche assumono il ruolo di ospite definitivo mentre i canidi, e analogamente i felidi, fungono da ospite intermedio. L'ospite intermedio contrae l'infezione mediante l'ingestione dell'ospite definitivo contenente gli sporozoiti, situazione che tipicamente si verifica durante la pulizia del pelo. Sono state inoltre segnalate anche modalità di trasmissione secondaria, come il carnivorismo o la trasmissione verticale per via transplacentare (Traversa et al., 2019). Gli sporozoiti di *H. canis* tramite il circolo ematico e linfatico raggiungono i polmoni, il fegato, la milza, i linfonodi e il midollo osseo, dove formano i meronti contenenti i micro- e i macromerozoiti. I macromerozoiti danno origine a nuovi cicli di sviluppo portando alla formazione di altri meronti (merogonia), mentre i micromerozoiti penetrano all'interno dei monociti e dei neutrofili dove, dopo circa un mese dall'infezione, raggiungono lo stadio di gamonte (gametogonia). Nei cani e nei gatti parassitemici è quindi possibile rinvenire la presenza dei gamonti nei leucociti circolanti. Il ciclo giunge a compimento quando la zecca compie il pasto di sangue sull'ospite vertebrato assumendo i leucociti infetti del mammifero.



**Figura 8** - Ciclo biologico schematico di *H. canis*.  
(Tratto da "O'Dwyer, 2011)

La singamia si verifica a livello dell'intestino dell'artropode dove si formano oocisti contenenti centinaia di sporocisti, le quali a loro volta contengono migliaia di sporozoi, ovvero le forme infettanti per il cane o il gatto. La zecca del cane (*Rhipicephalus sanguineus*) in Europa rappresenta l'ospite definitivo e il vettore principale di *H. canis*. Il parassita è in grado di mantenersi durante i vari stadi di sviluppo dell'artropode (trasmissione transtadiale). Le infezioni sostenute da *H. canis* nei felidi sono riportate sporadicamente (Giannelli et al., 2017),

tuttavia il suo ciclo biologico è ben caratterizzato e la specie è di fondamentale riferimento all'interno del genere *Hepatozoon*.

#### 4.4 HEPATOZOONOSI FELINA: ASPETTI EPIDEMIOLOGICI

In Europa sono state descritte tre specie di *Hepatozoon* in grado di infettare il gatto domestico; *H. felis*, presente anche in Italia, rappresenta la causa principale di questa malattia (Giannelli et al., 2017). Inoltre, è molto probabile che quest'ultima sia anche a livello globale la specie predominante nei felidi domestici e selvatici. La sua ampia distribuzione geografica potrebbe essere spiegata dalla capacità vettoriale di alcuni artropodi ubiquitari nei vari ambienti o dal successo delle vie di trasmissione alternative finora ipotizzate come il carnivorismo o la trasmissione verticale (Baneth et al., 2013). Nello stato di Israele il parassita ha mostrato una prevalenza del 36% nei gatti presenti in loco, la stessa rilevata in studi risalenti a quattro decenni prima, dimostrando che in questo territorio l'hepatozoonosi è tutt'altro che una malattia recente (Klopfer et al., 1973). In Spagna si riscontra generalmente una prevalenza di *H. felis* nel gatto domestico dello 0,6% (Criado-Fornelio et al., 2006), mentre studi che si sono concentrati sull'area di Barcellona hanno evidenziato tassi di infezione del 16% (Ortuño et al., 2008) nei gatti domestici di colonia e del 4% nei gatti domestici di proprietà (Tabar et al., 2008). In uno studio condotto a Cipro, il 37% dei gatti testati è risultato positivo per *Hepatozoon* spp. e le indagini molecolari hanno rivelato che si trattava di *H. felis* nella totalità dei casi, confermando ancora una volta come tale specie sia la predominante nelle popolazioni feline (Attipa et al., 2017). Lo stesso si può dire del Portogallo dove l'esclusiva prevalenza di *H. felis* segnalata è rispettivamente dell'8,6% nei gatti del sud e del 15,6% nei gatti del nord e del centro del Paese (Vilhena et al., 2013; Maia et al., 2014). In Grecia è stato recentemente dimostrato che *H. felis* risulta enzootico sia nelle regioni insulari che in quelle continentali, mostrando alti tassi di infezione nella maggior parte delle aree e una prevalenza complessiva del 25,5% (Morelli et al., 2021). Uno studio mirato a descrivere la filogenesi di questo parassita ha evidenziato la mancata correlazione tra l'infezione sostenuta da *H. felis* e l'età dei gatti da essa colpiti, supportando l'ipotesi che si realizzi la trasmissione transplacentare, la quale porta alla nascita di una prole già infetta (Baneth et al., 2013). Un'ipotesi per giustificare tale supposizione è che si possa anche verificare un'esposizione intensiva già nelle prime fasi di

vita del gatto (Baneth et al., 2013). Analogamente a quanto detto per la cytauxzoonosi, anche per l'hepatozoonosi felina esiste un'associazione positiva tra l'infezione e lo stile di vita outdoor dei gatti, spiegata dall'aumentata esposizione ai vettori artropodi e, inoltre, dalla possibilità che abbia luogo il carnivorismo (Baneth et al., 2013). L'hepatozoonosi felina sembra avere per lo più una manifestazione subclinica, infatti gran parte della popolazione infetta tende a non manifestare alcun segno clinicamente rilevante. Lo stesso studio sopracitato ha confermato un allineamento tra le basi delle sequenze genetiche di *H. felis* rinvenute nei gatti di Israele, Spagna e Brasile e un'alta omologia con quelle riportate nei carnivori di India, Giappone, Tanzania e Argentina, avanzando l'ipotesi che il patogeno sia responsabile molto probabilmente dell'infezione, oltre che nel gatto domestico, anche nei felidi selvatici e in altri carnivori. Le analisi filogenetiche hanno collocato *H. felis* lontano da *H. canis* e da altre specie di *Hepatozoon* (Baneth et al., 2013). Nonostante le conoscenze relative al ciclo vitale e le modalità di trasmissione di *H. felis* rimangano ad oggi limitate, è opportuno sottolineare che il DNA di questo parassita è stato rinvenuto nella zecca del cane (*Rhipicephalus sanguineus*) isolata sia nel gatto domestico che nel cane in Portogallo (Maia et al., 2014), nella zecca del riccio (*Ixodes hexagonus*) isolata da un gatto domestico in Galles (Duplan et al., 2018), *Rhipicephalus turanicus* isolata dall'uomo (Karasartova et al., 2018), nella zecca dei boschi (*Ixodes ricinus*) e *Haemaphysalis erinacei* isolate da un gatto selvatico (Diakou et al., 2020), *Haemaphysalis sulcata* isolata dall'uomo (Aktas, 2014) e nell'1,9% delle pulci del gatto (*Ctenocephalides felis*) campionate dai gatti domestici in Israele (Kamani et al., 2018). Tutto questo suggerisce il possibile coinvolgimento di questi ectoparassiti nel ciclo biologico di *H. felis*, tuttavia non sono ancora state rinvenute le oocisti del patogeno in nessuno dei vettori artropodi analizzati (Morelli et al., 2021). Altri felidi nel quale è stato rintracciato questo patogeno è il gatto selvatico europeo a Xanthi, nella Grecia settentrionale (Diakou et al., 2020), in Bosnia ed Erzegovina (Hodžić et al., 2017), il gatto di Iriomote (*Prionailurus iriomotensis*) e il gatto leopardo di Tsushima del Giappone (*Prionailurus bengalensis euptilurus*) (Kubo et al., 2006). Altri mammiferi che hanno dimostrato di poter essere infettati da *H. felis* sono la volpe grigia della Pampa (*Lycalopex gymnocercus*), alcuni roditori e la iena maculata (*Crocuta crocuta*), (Williams et al., 2014; Kamani et al., 2018; Millán et al., 2018). L'hepatozoonosi felina è diffusa in diverse tipologie di ambienti, da quelli secchi e caldi di Mykonos, Cipro (Attipa et al., 2017) o Capo Verde (Pereira et al., 2019) a quelli boscosi come Skopelos (Morelli et al., 2021) e Brasile (Braga et al., 2016). La plasticità biologica di *H. felis* sembra essere strettamente correlata alla capacità di adattamento caratteristica della zecca

del cane nei confronti delle più svariate condizioni ambientali (Morelli et al., 2021). La maggior parte dei gatti domestici trovati positivi a Mykonos proveniva da una colonia isolata che risiedeva in un'area ristretta dell'isola e, cosa interessante, nessuno di questi aveva riportato in anamnesi l'infestazione da zecche. È logico dedurre, pertanto, che i gatti in questione perpetuassero la parassitosi per via transplacentare (Morelli et al., 2021). La trasmissione verticale potrebbe quindi contribuire al mantenimento dell'infezione all'interno delle popolazioni feline in misura maggiore rispetto a quelle canine, questo perché tendono ad essere meno colpite dalle infestazioni da zecche. Un altro aspetto importante è che, data la variabilità genetica di *H. felis*, non si può escludere che i vari genotipi presentino un differente grado di patogenicità (Morelli et al., 2021). Sempre in Grecia sono stati rinvenuti infatti due aplotipi: l'H1, compatibile con *H. felis* trovato in Italia e in altri continenti, e l'H2, trovato a Skopelos (Morelli et al., 2021). Come già accennato in precedenza, *H. canis* è solo sporadicamente riportato nei felidi e, nonostante la sua presenza sia stata segnalata nei Paesi principali dell'Europa meridionale e negli altri continenti, rimane la specie meno diffusa in grado di causare l'hepatozoonosi felina. *Hepatozoon silvestris* è invece una specie che dal punto di vista morfologico e genetico è molto simile a *H. felis* ed è stata recentemente scoperta nei gatti selvatici europei che popolano la parte nord-orientale e le aree lungo il confine settentrionale e orientale della Bosnia ed Erzegovina (Hodžić et al., 2017). I gatti domestici e selvatici sono parenti prossimi, condividendo genere e specie, in grado di vivere in simpatria producendo una prole fertile. Per questi motivi, non è da escludere la condivisione dei medesimi patogeni, come infatti è stato dimostrato in Italia, dove *H. silvestris* è stato rinvenuto nel gatto domestico (Giannelli et al., 2017; Grillini et al., 2021), o in Svizzera dove il patogeno è stato associato ad un caso di miocardite fatale (Kegler et al., 2018). L'Italia presenta un quadro epidemiologico caratterizzato dalla presenza di tutte e tre le specie del genere *Hepatozoon* in grado di causare l'hepatozoonosi nei felidi. In tre regioni del Nord-Est Italia, ossia Veneto, Friuli-Venezia Giulia e Trentino-Alto Adige, *H. felis* ed *H. silvestris* sono stati identificati nel 16,5% dei gatti domestici testati (Grillini et al., 2021). In particolare, *H. felis* ha mostrato una prevalenza complessiva del 6,3%, mentre *H. silvestris* del 10,1%. L'alta prevalenza di *H. felis* nei gatti di proprietà che conducono uno stile di vita indoor ha suggerito ancora una volta come probabilmente questo patogeno possa trasmettersi non solo tramite vettore ma anche grazie alla trasmissione verticale o alla predazione da parte dei gatti di ospiti paratenici. *H. silvestris* è stato rinvenuto anche in Veneto, regione dove sia il gatto europeo che la lince eurasiatica sono assenti. Questo fa supporre che anche per questa specie il ruolo

di reservoir esplicito dai felidi selvatici possa non rivelarsi l'unico, optando per altre vie di trasmissione legate ad esempio al carnivorismo di ospiti paratenici. Nell'area comprendente la città di Trieste, caratterizzata dal transito dei felidi selvatici tra il confine sloveno e quello italiano e dalla condivisione di questi ultimi di areali comuni a quelli del gatto domestico, *H. silvestris* ha mostrato una prevalenza del 23,1%. Lo studio ha confermato quanto i gatti positivi all'infezione sostenuta da *Hepatozoon* spp. fossero per lo più subclinici e, inoltre, ha evidenziato la mancata associazione tra la presenza di malattie a carattere immunosoppressivo (FIV, FeLV) e la positività al parassita. È molto probabile che anche nel Nord-Est Italia l'antropizzazione e di conseguenza la continua riduzione degli habitat favorisca in maniera crescente la simpatia tra i gatti domestici e i felidi selvatici, intensificando sempre di più la trasmissione di questi patogeni. Nel Sud Italia, invece, è stata rivelata la presenza, oltre che di *H. felis* e *H. silvestris*, anche di *H. canis* (Giannelli et al., 2017). In particolare, la prevalenza di *Hepatozoon* spp. si è mostrata rispettivamente del 23,5% nella provincia di Matera, dello 0,8% nella provincia di Bari e del 2,6% nella provincia di Lecce. Questo studio ha evidenziato la spiccata variabilità genetica di *H. felis* presente sul suolo italiano, questa specie ha infatti presentato tre omologie di sequenza differenti a livello del gene 18S rRNA rispetto a *H. felis* rinvenuto in Israele e Spagna. La presenza di *H. canis* può essere giustificata dalla bassa specificità d'ospite intrinseca di questo parassita e dal fatto che zecche come *Rhipicephalus sanguineus* sono in grado di nutrirsi sia sul cane che sul gatto (Giannelli et al., 2017). L'hepatozoonosi è una malattia ancora troppo poco conosciuta nel gatto e il suo andamento subclinico sicuramente contribuisce ad una sottostima della sua presenza e diffusione. Le crescenti segnalazioni, dovute ad una diagnostica più accurata, contribuiranno ad ampliare le informazioni inerenti alla distribuzione di questi parassiti.

## 5. PATOGENESI E SEGNI CLINICI

### 5.1 CYTAUXZONOSI

Come già accennato in precedenza, i felidi selvatici (come la lince rossa e il puma) fungono spesso da reservoir asintomatici per *C. felis*, mentre il gatto domestico accusa solitamente una forma molto grave e sovente letale. Quest'ultimo di solito muore, sia in presenza che in assenza di terapia di supporto e regimi terapeutici sperimentali, entro 9-15 giorni post-infezione, mostrando prima i segni clinici di una malattia acuta a carattere febbrile. Tuttavia, recenti studi hanno indicato che può anche verificarsi la situazione inversa, con linci che accusano forme severe e potenzialmente letali e gatti domestici che risultano clinicamente sani o che comunque riescono a riprendersi completamente dopo la fase acuta della malattia, divenendo a loro volta dei reservoir del parassita mantenendo i piroplasmi all'interno degli eritrociti per anni (Meinkoth et al., 2000). Da un punto di vista patogenetico, la maggior parte dei segni clinici è la risultanza dei danni causati dai macrofagi invasi dagli schizonti durante la fase parassitemica, nel corso della quale si verificano fenomeni trombotici a carico di piccole vene e capillari, soprattutto in organi come fegato, milza, polmoni e linfonodi. All'ostruzione segue poi un danno ipossico tissutale che comporta il rilascio di citochine in grado di evocare una risposta infiammatoria sistemica con associati quadri di sepsi, coagulazione intravasale disseminata, anemia emolitica e insufficienza sistemica multiorgano. I gatti domestici infetti tendono a manifestare in tempi rapidi una profonda letargia ed anoressia. A queste manifestazioni se ne possono aggiungere altre come vocalizzazioni, protrusione della terza palpebra, tachipnea, vomito, dolore generalizzato e dispnea. Durante la fase acuta della malattia la febbre rappresenta un reperto costante, con una temperatura corporea che può raggiungere picchi che oltrepassano i 40 °C. Ipotermia, decubito, stato comatoso e tremori, invece, sono segni clinici contemplati quando l'animale si trova in condizioni molto gravi o è prossimo al decesso. All'esame obiettivo il medico veterinario può, mediante l'esame delle mucose esplorabili, evidenziare la presenza di ittero e pallore. Tali segni sono, però, presenti in maniera incostante durante le fasi iniziali della malattia. Altri reperti riscontrabili visitando l'animale sono tachicardia con presenza di soffi (soprattutto nei soggetti anemici), linfadenomegalia, splenomegalia ed epatomegalia e disidratazione. Gli schizonti, una volta maturi, rompono i macrofagi e rilasciano elevati quantitativi di merozoiti, i quali infettano gli

eritrociti determinando la formazione dei caratteristici inclusi “ad anello”. In generale, però, i segni clinici si manifestano già in tempi precedenti, confermando come siano gli schizonti gli stadi parassitari responsabili della patogenesi della malattia. La parassitemia aumenta con il progredire della malattia, con valori che vanno da meno dell’1% ad un massimo del 4% e, in casi straordinari, fino al 50% (Wang et al., 2017). Durante la fase acuta della cytauxzoonosi, la parassitemia rilevata mediante strisci ematici viene comunemente associata agli stadi avanzati della patologia, solitamente da 1 a 3 giorni prima del decesso dell’animale. Lo stato immunitario del felide può influenzare la parassitemia, infatti l’immunosoppressione può favorire la presenza di questi piroplasmici (Wang et al., 2017). Le indagini necroscopiche condotte su una lince rossa (Nietfeld et al., 2002), un leone (Peixoto et al., 2007), una tigre (Garner et al., 1996) e un gatto domestico (Aschenbroich et al., 2012) deceduti a causa di *C. felis* hanno rivelato atelettasia polmonare multifocale, splenomegalia, versamento pericardico, edema polmonare, contenuto intestinale rossastro, polmoni con foci multipli emorragici, fegato giallo-brunastro, milza ingrossata. Gli esami istopatologici, riferiti ai felidi sopra citati, hanno evidenziato la presenza dei merozoiti negli eritrociti, trombosi polmonare e necrosi con marcata vacuolizzazione a livello encefalico come conseguenza dell’occlusione delle arteriole e venule leptomeningee e parenchimali e dei capillari della sostanza grigia e bianca e dei plessi corioidei da parte dei macrofagi abnormi carichi di schizonti. Le infezioni causate da *Cytauxzoon* spp. in Europa nel gatto domestico sono considerate generalmente meno gravi rispetto a quelle provocate da *C. felis* nel continente americano. La maggior parte dei gatti positivi al parassita, infatti, risulta clinicamente sana con bassi livelli di merozoiti intraeritrocitari (Traversa et al., 2019). Nonostante le specie europee siano considerate meno patogene nel gatto domestico, il significato clinico della cytauxzoonosi in Europa rimane ancora un punto da chiarire. In uno studio condotto sui gatti domestici del Nord-Est Italia non è stata trovata alcuna correlazione tra infezione e stato clinico, risultati di laboratorio e mortalità dei soggetti. La maggior parte dei gatti era sana e solo il 7% al momento della diagnosi presentava una condizione anemica (Carli et al., 2012). Sempre in Italia (Antognoni et al., 2022), così come in Europa (Panait et al., 2020; Legroux et al., 2017; Nentwig et al., 2018) sono stati documentati casi sintomatici, non direttamente riferibili al decesso dell’animale, caratterizzati da letargia, anoressia, piressia, perdita di peso, mucose pallide, diarrea, vomito, versamento pleurico o peritoneale. In aggiunta, in alcuni casi sono stati segnalati anche segni clinici apparentemente non riconducibili ad un’infezione da piroplasma come stomatiti, dermatiti ulcerose e vocalizzazioni. È importante ricordare che non in tutti i

casi comunque sono stati esclusi dalla lista delle diagnosi differenziali eventuali malattie concomitanti come neoplasia, disturbi intracranici o Peritonite Infettiva Felina (FIP). Per quanto riguarda *C. manul* non sono stati riportati segni clinici evidenti nei gatti di Pallas risultati positivi (Ketz-Riley et al., 2003; Reichard et al., 2005). La cytauxzoonosi è pertanto una malattia caratterizzata da un pool di segni clinici, quando presenti, fortemente aspecifici. Questo fatto, combinato alla generale scarsa conoscenza della malattia, complica non poco il processo diagnostico.

## 5.2 HEPATOZOONOSI

All'origine dei meccanismi patogenetici dell'hepatozoonosi troviamo gli stadi merogonici i quali, localizzati a livello tissutale, sono responsabili delle lesioni e dei segni clinici riportati negli ospiti vertebrati. Contrariamente ad *H. canis* nel cane, che colpisce primariamente gli organi emolinfatici, l'hepatozoonosi felina sostenuta da *H. felis* si associa principalmente all'infezione dei tessuti muscolari. Nei gatti domestici colpiti da questa malattia, infatti, i meronti si concentrano soprattutto a livello muscolare (Baneth et al., 2013). Uno studio ha evidenziato nella maggior parte dei gatti malati attività elevate dell'enzima muscolare creatinchinasi, evidenziando inoltre come *H. felis* presenti uno spiccato tropismo per il miocardio e la muscolatura scheletrica del gatto (Baneth et al., 1998). I meronti di *H. felis* sono inoltre rintracciabili nella milza, nel midollo osseo, nei linfonodi epatici, nel pancreas, nei reni così come nel liquido amniotico e nei polmoni fetali. Nel gatto domestico solitamente non si sviluppa nessuna risposta infiammatoria sostanziale intorno ai meronti collocati nei vari compartimenti tissutali, e ciò giustifica la natura generalmente subclinica dell'hepatozoonosi felina (Baneth et al., 2013). L'infezione dei tessuti muscolari da parte di *H. felis* è stata segnalata anche nei felidi selvatici, i quali hanno riportato quadri compatibili con miositi e miocarditi (Giannitti et al., 2012; Kubo et al., 2006). L'hepatozoonosi felina causata da *H. felis* nel gatto domestico presenta quindi generalmente un andamento subclinico. Quando presenti, i segni clinici sono aspecifici e comprendono ipertermia, ittero, anoressia, febbre, dolorabilità addominale, letargia, depressione, linfadenomegalia e anemia. Sono stati descritti anche quadri gravi con una severa invasione dei compartimenti muscolo-scheletrici ad opera del parassita e persino casi di co-infezione con retrovirus o micoplasmi (Morelli et al., 2021). I dati sulla patogenicità di *Hepatozoon* spp. nel gatto sono limitati. Considerando una certa variabilità

genetica di *H. felis*, come dimostrato con la scoperta di diversi aplotipi in uno studio condotto in Grecia (Morelli et al., 2021), non è possibile escludere che esistano genotipi caratterizzati da un differente grado di patogenicità. Per quanto riguarda *H. silvestris* è stato segnalato in Svizzera il caso di un gatto domestico che è deceduto poco dopo aver presentato letargia, inappetenza e debolezza. Gli esami istopatologici hanno confermato a livello miocardico la presenza dei meronti e dell'infiammazione linfoplasmocitica e istiocitica ad essi associata, indicando come la causa del decesso fosse attribuibile a miocardite (Kegler et al., 2018). Il fatto che un animale altrimenti sano sia morto a causa di un'infezione sostenuta da *H. silvestris* ha sollevato l'ipotesi che questo parassita, recentemente scoperto nelle popolazioni feline selvatiche, possa rivelarsi altamente patogeno per i gatti domestici. Il ruolo di *Hepatozoon* spp. nel causare malattia nel gatto domestico deve essere ancora in parte compreso. Sebbene la maggior parte dei soggetti sia subclinicamente infetta, non si può comunque trascurare il fatto che quando la malattia si manifesta rischia di compromettere la vita dell'animale. Analogamente alla cytauxzoonosi, anche per l'hepatozoonosi felina la formulazione del sospetto clinico risulta complicata dalla presenza di quadri clinici estremamente aspecifici.

## 6. DIAGNOSI

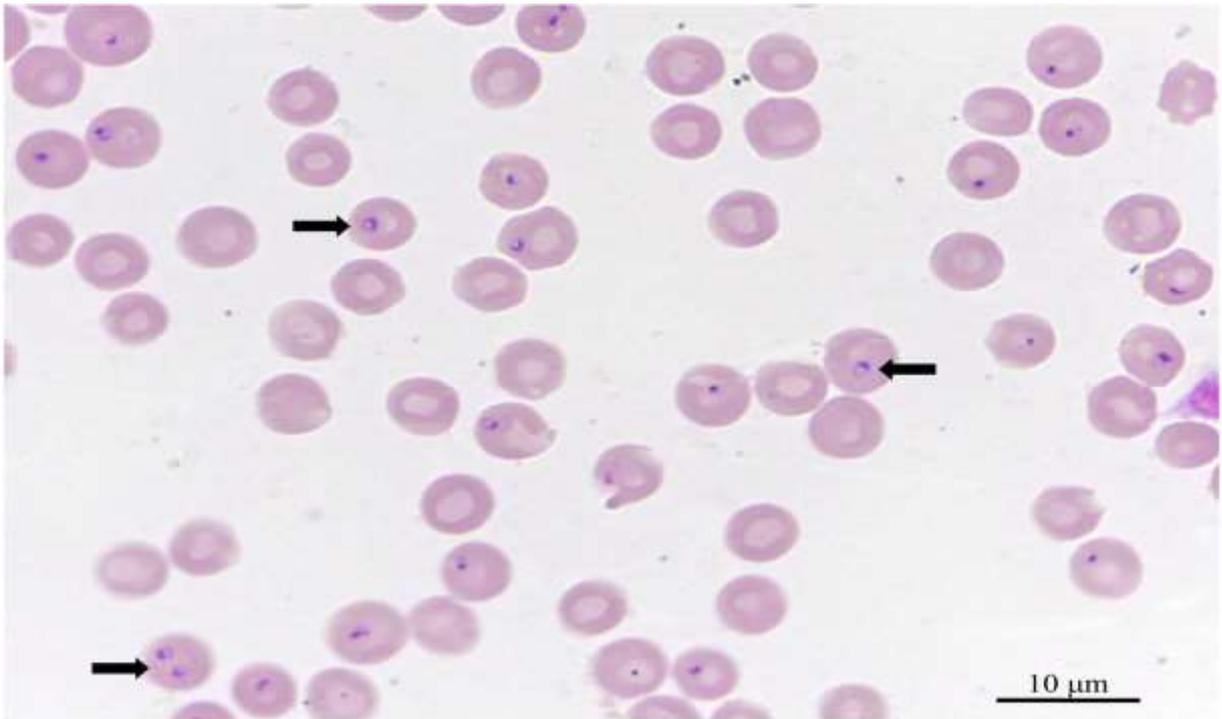
### 6.1 CYTAUXZONOSI: ASPETTI DIAGNOSTICI

L'infezione sostenuta da *Cytauxzoon felis* non determina nei soggetti colpiti la comparsa di segni clinici caratteristici. Tuttavia, ittero, anoressia e letargia rappresentano le manifestazioni più comuni riportate (Wang et al., 2017). I gatti, che solitamente fino a poco tempo prima mostravano condizioni nutrizionali ottimali, tendono a morire entro una settimana dall'insorgenza dei segni clinici. La probabilità di contrarre l'infezione è più alta per quei gatti che conducono uno stile di vita outdoor in aree endemiche, a causa del fatto che possono essere maggiormente esposti al vettore (Wang et al., 2017). La maggior parte dei casi clinici si concentra in primavera, estate e inizio autunno, periodo coincidente con quello di maggiore attività dei vettori (Traversa et al., 2019). Ciononostante, se il clima è particolarmente caldo e secco le condizioni ottimali richieste dalla zecca vengono meno e, di conseguenza, il numero dei casi di cytauxzoonosi si riduce significativamente (Wang et al., 2017). Tutte queste informazioni costituiscono la base per poter formulare il sospetto clinico. Infatti, l'insorgenza acuta di ittero, anoressia e letargia in un gatto domestico che conduce uno stile di vita outdoor, in un'area nota per essere endemica, durante un mese caldo dell'anno, dovrebbe suggerire al medico veterinario che potrebbe trattarsi di un caso di cytauxzoonosi felina. Oltre alle informazioni anamnestiche e ai segni clinici riportati dall'animale, anche le analisi ematobiochimiche, seppur aspecifiche, possono contribuire al raggiungimento della diagnosi (Wang et al., 2017). I rilievi ematologici più frequenti sono anemia normocitica normocromica non rigenerativa, leucopenia e trombocitopenia. Meno frequente è la neutrofilia, correlata all'eventuale infiammazione che si sviluppa in risposta all'infezione. L'anemia è una condizione che potrebbe non manifestarsi durante le fasi iniziali della patologia, infatti è solitamente correlata ad un momento successivo, ovvero quando il parassita diviene osservabile mediante strisci ematici (Traversa et al., 2019). L'anemia emolitica è un reperto frequente durante la fase acuta della malattia (Wang et al., 2017). Altri parametri ematologici anormali che supportano la diagnosi di cytauxzoonosi includono la coagulazione intravasale disseminata (CID), identificabile con l'aumento dei tempi di coagulazione, e pancitopenia (ovvero leucopenia e linfopenia). I rilievi biochimici maggiormente riscontrati includono

invece aumento dei livelli di alanina transaminasi (ALT) e aspartato aminotrasferasi (AST) (Wang et al., 2017), calo della proteina C reattiva, ipoalbuminemia, iperbilirubinemia (dovuta all'occlusione dei vasi epatici e non all'emolisi), iperglicemia, iperazotemia pre-renale, ipoprotidemia, ipocalcemia, alterazioni dell'equilibrio acido-base, iponatremia, lieve ipokaliemia. L'esame delle urine può evidenziare bilirubinuria, mentre l'emoglobinuria non è un reperto riscontrabile a causa del fatto che l'emolisi si realizza a livello extravascolare (Traversa et al., 2019). Necessita far presente che i parametri ematobiochimici anormali sopracitati non si riscontrano in tutti i casi di cytauxzoonosi sostenuta da *C. felis*. La radiografia toracica può essere d'ausilio per evidenziare la presenza di un pattern polmonare interstizio-alveolare. La radiografia e l'ecografia addominale, invece, possono mettere in risalto, se presenti, epatomegalia e splenomegalia (Traversa et al., 2019). Ciononostante, anche i reperti radiografici ed ecografici sono estremamente aspecifici.

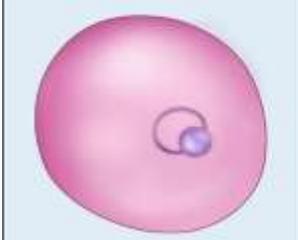
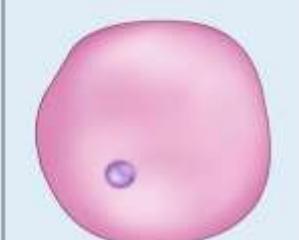
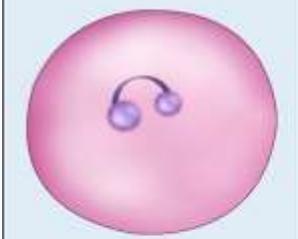
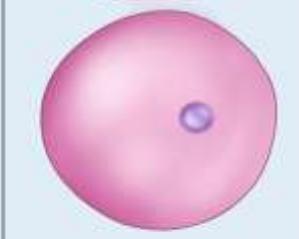
Al contrario, l'infezione sostenuta dalle specie europee *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum* e *Cytauxzoon banethi* raramente comporta la comparsa di segni clinici evidenti e, quando presenti, sono ancora meno indicativi. I gatti colpiti dalle specie europee riportano anch'essi anemia, iperbilirubinemia e iperazotemia. Tuttavia, contrariamente a *C. felis*, si evidenziano leucocitosi, trombocitosi, iperprotidemia e iperglobulinemia (Traversa et al., 2019). Il profilo biochimico di un gatto domestico malato in Germania includeva inoltre dimetilarginina simmetrica (SDMA) marcatamente aumentata, ipercreatinemia e iperfosfatemia, suggerendo quindi un calo della velocità di filtrazione glomerulare dovuto però, probabilmente, ad una disfunzione renale conseguente alla concomitante co-infezione da virus dell'immunodeficienza felina (FIV) (Panait et al., 2020). Un gatto malato nell'Italia Centrale, FIV-FeLV (virus della leucemia felina) negativo e co-infettato da *Candidatus Mycoplasma turicensis*, invece, ha riportato anche un lieve aumento di urea, calcemia e fosfatemia (Antognoni et al., 2022). In Europa non si è ancora in grado di individuare una finestra temporale certa entro la quale il gatto è maggiormente esposto al rischio di infezione, questo perché le conoscenze in merito ai vettori e al loro possibile ruolo nella trasmissione rimangono ancora frammentarie (Traversa et al., 2019). A prescindere dalla specie di *Cytauxzoon*, la diagnosi di certezza si raggiunge mediante l'identificazione microscopica dei merozoiti all'interno degli eritrociti su strisci ematici e/o agoaspirati ottenuti da fegato, milza, linfonodi (Traversa et al., 2019) e polmoni (Wang et al., 2017). Le tecniche di colorazione più comunemente impiegate sono la colorazione Giemsa, con eosina e blu di metilene, oppure quella con Ematossilina-Eosina (EE) (Wang et al., 2017). L'evidenza dei merozoiti all'interno

degli eritrociti conferma la presenza del parassita, tuttavia non necessariamente diagnostica la cytauxzoonosi in fase acuta. Infatti, gli inclusi intraeritrocitari possono rappresentare dei reperti occasionali rinvenuti in gatti clinicamente sani, in gatti con segni clinici compatibili ma riferiti ad altre patologie concomitanti oppure essere presenti nei soggetti che sono sopravvissuti alla fase acuta della malattia, manifestatasi tempo addietro. Il ruolo chiave nella patogenesi della cytauxzoonosi è attribuito agli schizonti che invadono i macrofagi durante la fase schizogonica e, pertanto, i segni clinici possono precedere la comparsa dei merozoiti. È quindi possibile che l'animale presenti un quadro clinico sospetto risultando tuttavia ancora negativo alla microscopia degli strisci ematici. In questi casi può essere utile rivalutare gli strisci ematici nei giorni successivi, al fine di ottenere una conferma diagnostica (Wang et al., 2017). Quando presenti, i merozoiti albergano all'interno dell'eritrocita in un numero da uno a quattro. Sono caratterizzati da una forma ovalare, un diametro di 1-2  $\mu\text{m}$  e un nucleo eccentrico viola scuro immerso in un citoplasma blu pallido. In alcuni casi la forma può apparire più allungata e il nucleo presentarsi bipolare (Traversa et al., 2019). I merozoiti di *C. felis* possono riportare forme differenti. La forma classica è quella denominata "signet ring-shaped" (o "ad anello"), dove il parassita si presenta appunto come un anello di 1-2  $\mu\text{m}$  ed è caratterizzato in un punto preciso da un addensamento di cromatina (Figura 9). Forme alternative includono quella denominata "safety pin", caratterizzata da una forma ovale (che assomiglia analogamente ad una spilla da balia) e un nucleo bipolare, e quella a "dots", perché piccola e puntiforme, avente un diametro inferiore a 0,5  $\mu\text{m}$ . Si possono inoltre riscontrare forme piccole e lineari, a forma di virgola o a tetrade (Wang et al., 2017). In generale, i livelli di questi piroplasmi circolanti sono inizialmente bassi e tendono ad aumentare nel corso della malattia. Nel caso riguardante il gatto malato in Germania, lo studio riporta una parassitemia stimata intorno al 33%, con inclusi intraeritrocitari a forma di anello rotondi o ovalari aventi una lunghezza e una larghezza media rispettivamente di  $1,2 \pm 0,2 \mu\text{m}$  e  $1,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$  (Panait et al., 2020). Nelle infezioni sostenute da *C. felis*, i piroplasmi sono identificabili mediante microscopia solamente in circa metà dei casi acuti della malattia (Wang et al., 2017). Per questo motivo, la mancanza di questi a livello ematico non può pertanto escludere la diagnosi di cytauxzoonosi felina.



**Figura 9** - Colorazione May-Grünwald-Giemsa su striscio di sangue periferico (ingrandimento 1000x). *Cytauxzoon* spp., presente in singolo o a coppie, alberga dentro gli eritrociti mostrando la caratteristica forma "signet ring-shaped". Un elevato livello di parassitemia può essere osservato. (Tratto da: Panait et al., 2020)

Gli inclusi di *C. felis* sono morfologicamente indistinguibili da quelli di *Babesia* spp. e *Theileria* spp., tuttavia è comunque possibile formulare un sospetto diagnostico considerando che i quadri clinici caratterizzati da febbre ed ittero non sono frequenti nelle infezioni sostenute da questi altri due generi (Wang et al., 2017). Gli inclusi piccoli e pleomorfi potrebbero essere fraintesi con dei corpi di Howell-Jolly, precipitati a macchia, artefatti dati dalle gocce d'acqua o anche *Mycoplasma haemofelis* (Figura 10) (Wang et al., 2017).

<i>Cytauxzoon felis</i>	<i>Babesia</i> spp. <i>Theileria</i> spp.	<i>Mycoplasma haemofelis</i> ( <i>Haemobartonella felis</i> )	Howell-Jolly particle
			
			
1–2 µm Often signet shape; occasionally safety pin form	Indistinguishable from <i>C. felis</i> . Not endemic in USA; Fever & icterus uncommon	Usually on the edge or across the surface of RBC; Rarely in a ring form. Younger age; male sex	1–2 µm with only chromatin stain, no cytoplasm around it

**Figura 10** - Differenziazione microscopica di *C. felis* da altri patogeni o particelle intraeritrocitarie rinvenibili negli strisci ematici dei felidi.

(Tratto da: Wang et al., 2017)

I corpi di Howell-Jolly, dati da residui di cromatina nel citoplasma degli eritrociti, a differenza dei merozoiti di *C. felis* non presentano la tipica forma ad anello, né possiedono citoplasma. I precipitati a macchia, indicativi dell'uso di un colorante invecchiato o di un inadeguato risciacquo del vetrino durante il processo di colorazione, possono imitare efficacemente batteri o parassiti rendendo così complicata la diagnosi microscopica (Wang et al., 2017).

*Mycoplasma haemofelis* è un batterio che tipicamente si localizza alla periferia dell'eritrocita infetto, determinando la formazione di punti e catene. Quest'ultimo però, a differenza di *C. felis*, non presenta un'area nucleare e raramente si manifesta all'interno dell'eritrocita sotto forma di anello.

Di notevole aiuto per il raggiungimento della diagnosi può essere l'identificazione microscopica di cellule della linea mieloide (cellule dendritiche, monociti, macrofagi, cellule di Langerhans) infettate dagli schizonti che possono essere osservati negli strisci ematici o tissutali. Gli schizonti si presentano come cellule di grandi dimensioni con un nucleo eccentrico contenente un singolo nucleolo prominente e un citoplasma all'interno del quale sono contenute particelle basofile in numero variabile (Traversa et al., 2019). Le cellule mieloidi infettate da questo stadio del parassita sono il reperto più frequentemente riscontrabile

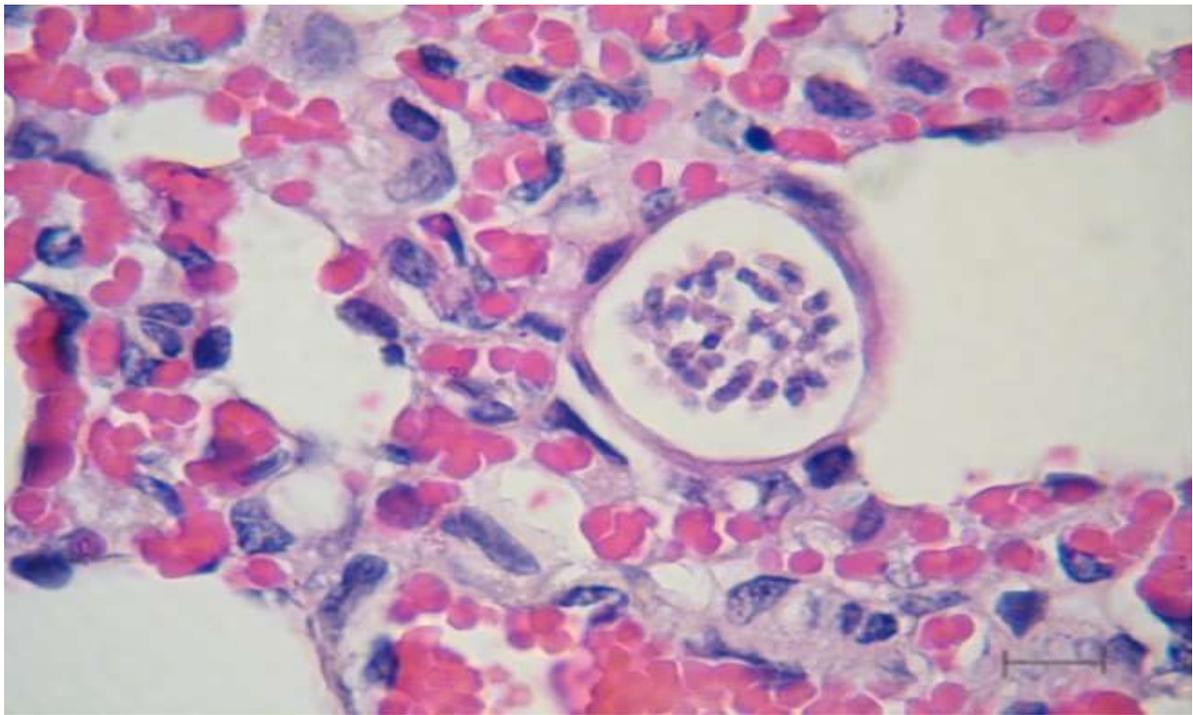
analizzando gli strisci tissutali ottenuti da agoaspirati di fegato, linfonodi, milza o polmoni piuttosto che quelli ematici (Traversa et al., 2019). Quindi, quando il parassita non è rinvenibile a livello di circolo periferico, una buona soluzione per confermare in tempi rapidi la diagnosi potrebbe essere quella di effettuare agoaspirati tissutali. Il test diagnostico d'elezione per diagnosticare la cytauxzoonosi è la PCR (dall'inglese "Polymerase Chain Reaction"). Si tratta di una tecnica molecolare seguita presso laboratori specializzati e che permette l'amplificazione del DNA del patogeno. Il grande vantaggio della PCR è quello di riuscire a rintracciare il parassita anche quando l'animale presenta scarsa parassitemia ed è in grado, utilizzando primer che targano geni più o meno conservati, di identificare il protozoo a livello di specie. La PCR è considerata mille volte più sensibile rispetto alla microscopia eseguita su striscio ematico (Wang et al., 2017). Per quanto riguarda *C. felis*, i target molecolari ricercati e analizzati tramite PCR sono il gene 18S rRNA, i geni spaziatori non codificanti ITS-1 e ITS-2 e il gene mitocondriale multicopia COX-3 (Wang et al., 2017). In generale, nelle ricerche biomolecolari condotte in Europa su *Cytauxzoon* spp. il gene maggiormente targato è il 18s rRNA, che non permette però il riconoscimento a livello di specie. Recentemente lo studio di Panait et al (2021) ha permesso l'identificazione a livello di specie grazie all'utilizzo di protocolli PCR che targano geni mitocondriali come il citocromo B e il citocromo ossidasi subunità I (COI).

Nonostante siano morfologicamente indistinguibili, la biologia molecolare e il successivo sequenziamento permettono di differenziare i protozoi del genere *Cytauxzoon* da quelli appartenenti a *Theileria* e *Babesia*. Seppur rappresenti il gold standard, anche la PCR non è esente da alcune limitazioni. Questa tecnica non è infatti in grado di differenziare la malattia acuta dall'infezione cronica. Inoltre, necessita di un periodo di tempo che va dai 50 minuti alle due ore, a seconda del protocollo, per permettere alla reazione di avvenire all'interno di un termociclatore, così come di diversi giorni per un sequenziamento compiuto in laboratori specializzati. Oltre al fatto che rappresenta una metodica costosa. Questi aspetti rappresentano gli svantaggi di questa tecnica. Soprattutto nei casi di cytauxzoonosi sostenuta da *C. felis*, un ritardo nella diagnosi può rivelarsi fatale per l'animale e il medico veterinario spesso non può permettersi di aspettare del tempo quando ha in cura un paziente in fase acuta.

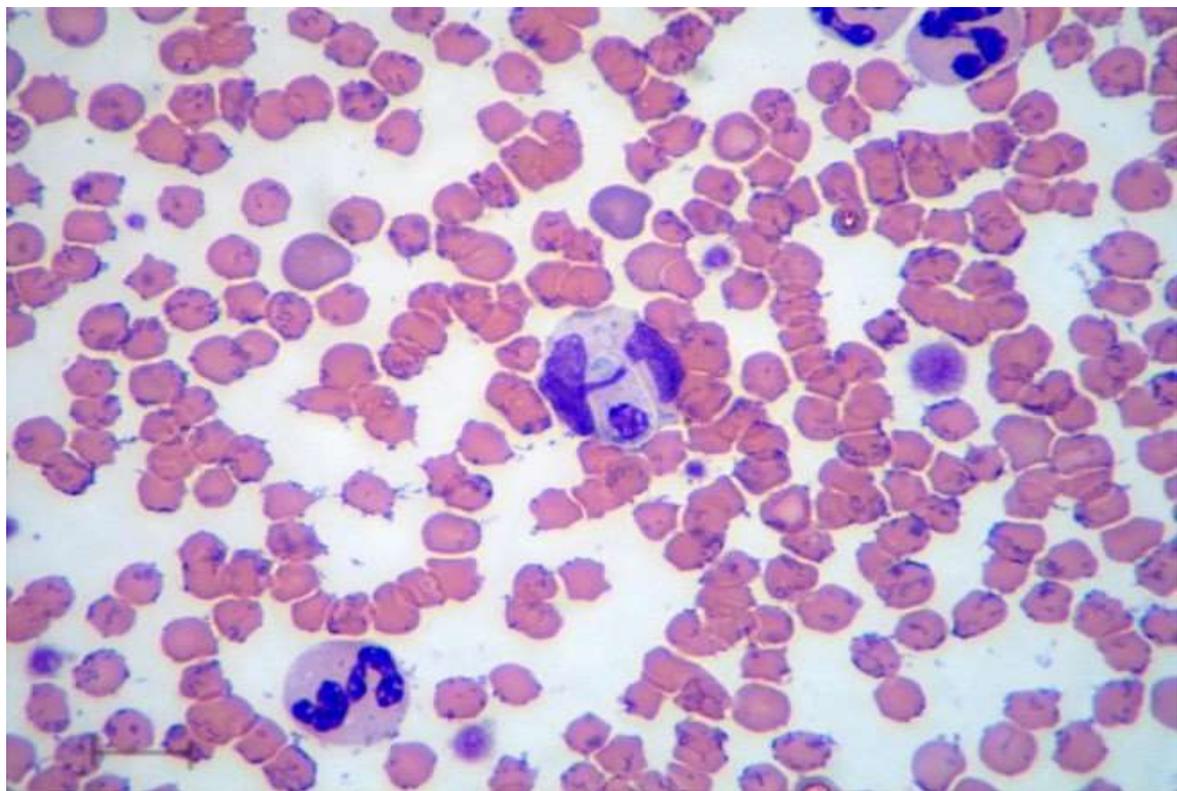
## 6.2 HEPATOZOONOSI: ASPETTI DIAGNOSTICI

L'infezione sostenuta da *Hepatozoon* spp. decorre principalmente in forma subclinica, al punto che la maggior parte dei soggetti colpiti non riporta alcuna sintomatologia evidente. Se presenti, i segni clinici risultano estremamente aspecifici. *Hepatozoon canis*, negli sporadici casi in cui coinvolge i felidi al punto da causare malattia, determina un quadro principalmente rappresentato dalla comparsa di letargia, febbre, depressione e linfadenomegalia, al quale si associa un profilo ematobiochimico caratterizzato da anemia e trombocitopenia (Traversa et al., 2019). La sintomatologia nei gatti infetti è in buona parte correlata all'eventuale presenza di infezioni concomitanti, come quelle sostenute dai virus immunosoppressori della FIV o della FeLV, il virus della panleucopenia felina (FPV), *Leishmania* spp., *Babesia* spp., *Cytauxzoon* spp., *Dirofilaria immitis* o micoplasmi. È possibile che l'infezione sostenuta da *Hepatozoon* spp. possa sfuggire al controllo del sistema immunitario nei soggetti immunodepressi, consentendo così una magnificazione della parassitemia e incrementando le possibilità di essere rilevata mediante microscopia degli strisci ematici (Baneth et al., 2013). Tuttavia, sono riportati casi di malattia conclamata esenti da coinfezioni con altri patogeni (Basso et al., 2019). *Hepatozoon felis* è caratterizzato da uno spiccato tropismo per i tessuti muscolari e tipicamente si localizza in forma di meronte nel miocardio e nella muscolatura scheletrica (Figura 11).

Di conseguenza, il danno muscolare che scaturisce può essere confermato da un innalzamento della concentrazione dell'enzima creatinasi (CPK) (Traversa et al., 2019). Anche altri organi possono comunque essere infettati dai meronti; il DNA del parassita è stato isolato anche da campioni tissutali provenienti da milza, midollo osseo, linfonodi epatici, pancreas, reni e, inoltre, polmoni fetali e liquido amniotico (Baneth et al., 2013). L'hepatozoonosi nel gatto determina livelli di parassitemia molto bassi. I gamonti, infatti, tendono a parassitare meno dell'1% dei neutrofili circolanti (Baneth et al., 2013) (Figura 12).



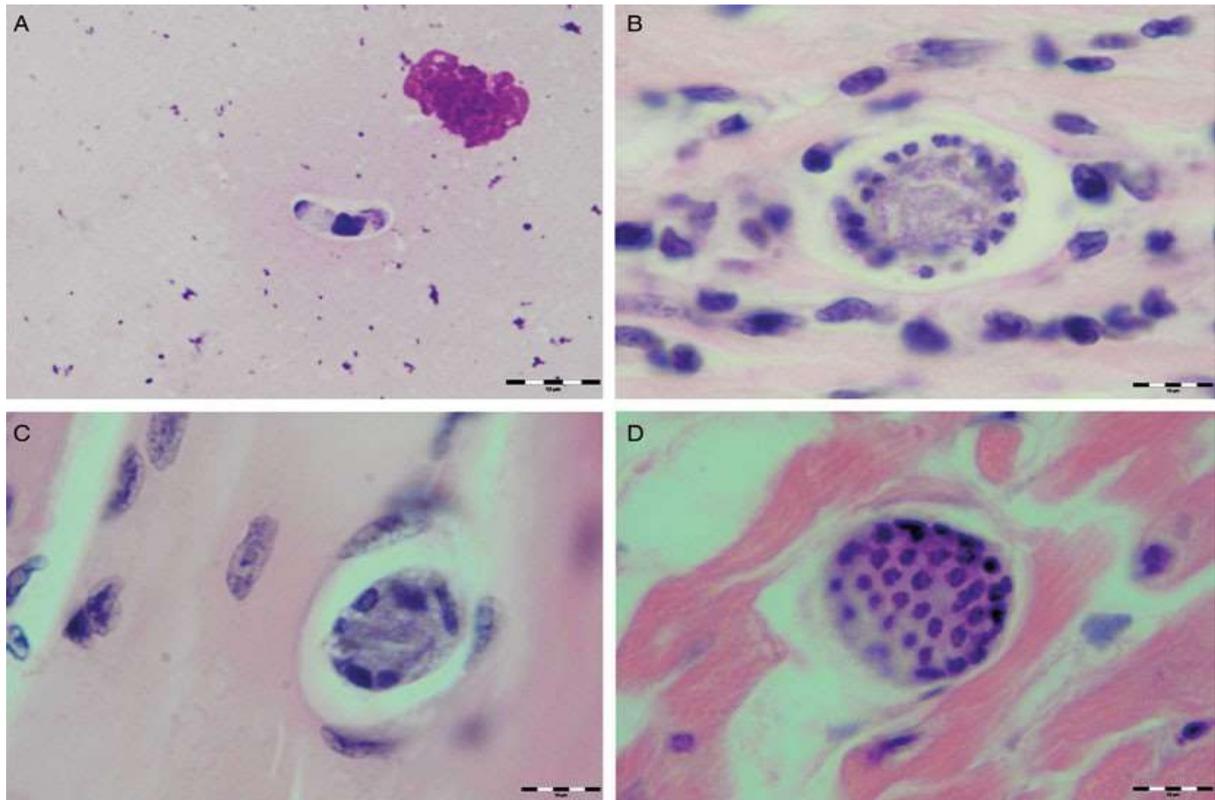
**Figura 11** - Meronte maturo di *Hepatozoon felis* nel tessuto polmonare. Un meronte maturo di *H. felis* nel tessuto polmonare di un gatto con polmonite e panleucopenia. Da notare i singoli merozoiti nucleati separati tra di loro e la spessa capsula esterna.  
(Tratto da: Baneth et al., 2013)



**Figura 12** - Gamonte di *Hepatozoon felis*. Un gamonte di *H. felis* all'interno di un monocita in uno striscio ematico di un gatto co-infettato con *Mycoplasma haemofelis*. Colorazione May-Grünwald-Giemsa.  
(Tratto da: Baneth et al., 2013)

La ricerca microscopica di *Hepatozoon* spp. su striscio ematico, pertanto, perde parzialmente di significato a causa della sua scarsa sensibilità. In accordo con quanto detto, un'indagine in Thailandia ha rilevato la parassitemia mediante microscopia ottica degli strisci ematici solamente nello 0,7% dei gatti testati, nonostante il 32% degli animali risultasse positivo all'analisi molecolare (Jittapalapong et al., 2006). In uno studio condotto in Israele, addirittura, nessuno striscio di sangue mostrava gamonti, nonostante i soggetti positivi rappresentassero il 36% dei gatti testati (Klopfer et al., 1973). Qualora il gatto riportasse un quadro clinico compatibile con polimiosite o dolorabilità muscolare, una valida opzione diagnostica potrebbe essere quella di ricercare i meronti del parassita tramite biopsia muscolare. Il test diagnostico d'elezione, finalizzato alla ricerca del DNA del parassita su campioni di sangue periferico, è la PCR. Quest'ultima è ampiamente utilizzata anche per condurre indagini epidemiologiche e screening delle popolazioni feline. Il primo caso segnalato in Austria di un'infezione clinica sostenuta da *H. felis* descrive un gatto portato in clinica in cattive condizioni generali, che mostrava segni clinici di anoressia, ittero, addome dolorante, febbre, pelo arruffato e, inoltre, un'infestazione da zecche. L'analisi ematobiochimica ha rivelato leucopenia caratterizzata da linfopenia, neutropenia e trombocitopenia lieve, anisocitosi, SDMA e bilirubina aumentati, calcio lievemente ridotto e magnesio aumentato. La conta dei globuli rossi (RBC), così come gli altri parametri biochimici standard, sono risultati normali. L'osservazione microscopica degli strisci ematici, colorati utilizzando la tecnica May-Grünwald-Giemsa, ha riscontrato all'interno dei granulociti neutrofili delle strutture ovoidali di dimensioni 11,2 x 5,1 µm, con un nucleo altrettanto ovoidale, morfologicamente riconducibili ai gamonti di *Hepatozoon*. Il livello di parassitemia mostrato dal paziente era comunque molto basso, infatti in tutto il campo osservato sono stati individuati solo tre gamonti. La diagnosi è stata raggiunta grazie all'impiego della PCR, utilizzando come target molecolare il gene 18S rRNA (Basso et al., 2019). Patton, quando nel 1908 scoprì *H. felis* per la prima volta nel sangue proveniente da gatti domestici originari dell'India, descrisse i gamonti presenti nei neutrofili circolanti come dei microrganismi con un corpo allungato e le estremità arrotondate, aventi dimensioni di circa 10 x 5 µm. Il nucleo e il citoplasma colorati con la tecnica Giemsa evidenziano, rispettivamente, un colore rosso scuro e uno azzurro (Bowman et al., 2001). Riguardo l'identificazione macroscopica, qualche decennio dopo sono state descritte all'interno delle sezioni istologiche del miocardio due tipologie di meronti: la prima contenente i singoli merozoiti, la seconda caratterizzata invece dalla presenza dei merozoiti in fase di sviluppo ubicati nella periferia

(Klopfer et al., 1973). Per quanto riguarda la specie più recentemente scoperta, *Hepatozoon silvestris*, le analisi microscopiche condotte da Hodžić et al., (2016) rivelano che i meronti sono stati osservati nel tessuto miocardico, polmonare, splenico e muscolare scheletrico nel 44% dei gatti selvatici europei testati. Questi si sono presentati, compatibilmente con le varie fasi di sviluppo del parassita, con aspetti differenti (Figura 13). Sono stati infatti osservati meronti piccoli con o senza nuclei o contenenti micromerozoiti allineati in maniera circolare lungo la parete, ma anche grandi con macromerozoiti disposti alla periferia o distribuiti casualmente, maturi con numerosi merozoiti sparsi irregolarmente o giunti alla rottura e al rilascio degli stessi. I meronti in via di sviluppo e quelli maturi sono state le forme maggiormente riscontrate e il miocardio, tra tutti i tessuti analizzati, è risultato essere quello più frequentemente parassitato. *H. silvestris* non è stato rinvenuto nelle sezioni tissutali prelevate da lingua, massetere, diaframma e midollo osseo. Nel miocardio e nella milza sono state osservate inoltre delle forme extracellulari riconducibili a dei gamonti (Figura 13). Lo stadio di meronte di *H. silvestris* presenta una forma da rotonda a ovale, una lunghezza media di  $31,7 \pm 4,2 \mu\text{m}$  ( $22,1\text{--}38,7 \mu\text{m}$ ) e una larghezza media di  $22,0 \pm 4,6 \mu\text{m}$  ( $11,9\text{--}28,3 \mu\text{m}$ ) e un indice di forma (rapporto lunghezza/larghezza) di 1,4. Sono avvolti da una capsula relativamente spessa avente una larghezza media di  $1,1 \pm 0,3 \mu\text{m}$  che li separa dal tessuto circostante. I meronti più piccoli e immaturi sono caratterizzati dalla presenza di materiale amorfo da basofilo ad anfofilo comprendente talvolta nuclei e vacuoli disposti perifericamente. I meronti in via di sviluppo presentano due morfologie caratteristiche simili a quelle descritte per *H. canis*: la prima denominata “wheel spoke”, contenente circa 20-30 micromerozoiti piccoli da tondi ad ovali disposti a cerchio, la seconda contenente 2-8 macromerozoiti grandi e allungati dispersi o disposti circolarmente appoggiati con il lato più lungo contro la parete. I meronti maturi mostrano al loro interno numerosi merozoiti sparsi irregolarmente nella matrice amorfa basofila (Hodžić et al., 2016).



**Figura 13** - Stadi evolutivi di *Hepatozoon silvestris* nei tessuti miocardico e muscolare scheletrico di un gatto selvatico europeo. (A) Stadio di gamonte extracellulare da un'impronta cardiaca. Colorazione di May-Grünwald-Giemsa. (B) Meronte "wheel spoke" con micromerozoiti disposti in cerchio attorno alla massa di materiale basale. Da notare la lieve infiltrazione cellulare attorno al meronte in questa sezione di tessuto cardiaco. (C) Meronte in sviluppo con macromerozoiti allungati e allineati circolarmente nel tessuto muscolare scheletrico. (D) Meronte maturo contenente numerosi merozoiti. Colorazione EE (B-D).  
(Tratto da: Hodžić et al., 2016)

I micromerozoiti hanno una lunghezza media di  $4,2 \pm 1,1 \mu\text{m}$  ( $2,6 - 6,3 \mu\text{m}$ ) e una larghezza media di  $2,5 \pm 0,4 \mu\text{m}$  ( $1,9 - 3,3 \mu\text{m}$ ), con un indice di forma di 1,9; mentre i macromerozoiti riportano una lunghezza media di  $6,0 \pm 1,0 \mu\text{m}$  ( $4,3 - 7,8 \mu\text{m}$ ) e una larghezza media di  $3,2 \pm 0,7 \mu\text{m}$  ( $2,5 - 4,7 \mu\text{m}$ ), con un indice di forma di 1,9. I nuclei dei micromerozoiti appaiono scuri, da rotondi a ovali con una lunghezza di  $2,6 \pm 0,3 \mu\text{m}$  ( $2,0 - 3,5 \mu\text{m}$ ); mentre quelli dei macromerozoiti sono da ellissoidali a rettangolari con una lunghezza di  $4,0 \pm 0,3 \mu\text{m}$  ( $3,5 - 4,4 \mu\text{m}$ ). Gli stadi riconducibili ai gamonti sono invece allungati, leggermente piegati alle estremità e circondati da una delicata capsula, con una lunghezza media di  $11,7 \pm 0,5 \mu\text{m}$  ( $11,0 - 12,7 \mu\text{m}$ ) e una larghezza di  $5,2 \pm 0,7 \mu\text{m}$  ( $4,1 - 6,6 \mu\text{m}$ ). Il citoplasma è basofilo, chiaro, con granuli scuri posti anteriormente e posteriormente al nucleo. Quest'ultimo si presenta a forma di rene, situato centralmente, compatto, con una colorazione da porpora a scuro e con una lunghezza media di  $6,3 \pm 1,3 \mu\text{m}$  ( $4,1 - 7,8 \mu\text{m}$ ) e una larghezza di  $3,0 \pm 0,8 \mu\text{m}$  ( $2,0 - 4,7 \mu\text{m}$ ).

Gli indici di forma dello stadio di gamonte e del suo nucleo sono rispettivamente di 2,3 e 2,1 (Hodžić et al., 2016).

I meronti di *H. silvestris* osservati nelle sezioni tissutali differiscono per dimensioni, forma e disposizione dei merozoiti rispetto a quelli di *H. felis* riportati nel gatto domestico e in quello selvatico (Tabella 1). In generale, i meronti di *H. silvestris* presentano dimensioni inferiori rispetto a quelli di *H. felis* trovati nel gatto selvatico ( $36,4 \pm 5,1 \mu\text{m} \times 31,3 \pm 5,1 \mu\text{m}$ ) dallo stesso Hodžić et al., (-2016) e nel gatto domestico ( $39,0 \pm 5,0 \mu\text{m} \times 34,5 \pm 3,8 \mu\text{m}$ ) (Baneth et al., 2013). Tuttavia, le dimensioni dei meronti di *H. silvestris* sono maggiori di quelli di altre specie non identificate appartenenti al genere *Hepatozoon* riscontrati nel gatto di Iriomote (*Prionailurus iriomotensis*), nel gatto leopardo (*Prionailurus bengalensis*) e nel gatto domestico ( $22,3 \pm 3,1 \mu\text{m} \times 15,3 \pm 2,2 \mu\text{m}$ ) (Kubo et al., 2006) e simili a quelle riscontrate sempre nel gatto leopardo ( $31,0 \pm 4,0 \mu\text{m} \times 19,0 \pm 3,0 \mu\text{m}$ ) (Kubo et al., 2010) e nel leone (*Panthera leo*) ( $30,0 \times 23,0 \mu\text{m}$ ) (Averbeck et al., 1990). La capsula che circonda i meronti di *H. silvestris* è più sottile rispetto a quella di *H. felis* ( $1,4 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ). Lo stadio di gamonte di *H. silvestris* presenta dimensioni maggiori rispetto a quello di *H. felis* ( $10,5 \pm 0,4 \mu\text{m} \times 4,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ) e un nucleo più compatto, lungo e stretto rispetto a quest'ultimo ( $4,7 \pm 0,3 \mu\text{m} \times 4,4 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ). Da lievi a moderati infiltrati linfocitici, macrofagici, raramente neutrofilici ed eosinofilici, sono stati riscontrati nel miocardio e nel tessuto muscolare scheletrico, tuttavia non è stata segnalata alcuna risposta infiammatoria intorno ai meronti.

È bene ricordare che le differenze morfometriche dei meronti descritte nei vari studi potrebbero essere dovute alle diverse tecniche di preparazione dei campioni, errori nelle misurazioni o alla presenza di specie differenti di *Hepatozoon* spp.

Reperto microscopico	<i>Hepatozoon silvestris</i>	<i>Hepatozoon felis</i>
Gamonte (µm)	(11,7 ± 0,5) x (5,2 ± 0,7)	(10,5 ± 0,4) x (4,4 ± 0,4)
Nucleo gamonte (µm)	(6,3 ± 1,3) x (3,0 ± 0,8)	(4,7 ± 0,3) x (4,4 ± 0,3)
Meronte (µm)	(31,7 ± 4,2) x (22,0 ± 4,6)	(36,4 ± 5,1) x (31,3 ± 5,1)

**Tabella 1** – Comparazione morfometrica tra *Hepatozoon silvestris* ed *Hepatozoon felis*, entrambi isolati nel gatto selvatico (*Felis silvestris silvestris*).

(Tratto da Hodžić et al., 2016).

## 7. TERAPIA E CONTROLLO

### 7.1 CYTAUXZONOSI

Attualmente non esiste nessuna formulazione farmaceutica appositamente registrata per la terapia della cytauxzoonosi. Negli anni l'approccio terapeutico per la gestione dei casi clinici si è basato sull'applicazione di protocolli differenti. Varie molecole sono state impiegate, ma con risultati incostanti. L'efficacia terapeutica finora raggiunta è caratterizzata da una notevole variabilità. Per quanto riguarda i quadri clinici causati da *Cytauxzoon felis*, il trattamento considerato d'elezione prevede l'associazione tra atovaquone (15 mg/kg *per os tid*) e azitromicina (10 mg/kg *per os sid*) da somministrare per 10 giorni (Traversa et al., 2019). Atovaquone è un principio attivo antiprotozoario impiegato anche nella terapia antimalarica che si sta affermando in maniera sempre crescente nel trattamento di questa parassitosi, sebbene la sua efficacia non sia sempre pienamente dimostrata. Il suo meccanismo d'azione non è ancora particolarmente noto, tuttavia pare che sia in grado di interferire con il metabolismo del parassita agendo a livello del gene citocromo b (Wang et al., 2017). Al trattamento è consigliato accostare un'adeguata fluidoterapia endovenosa con cristalloidi al fine di preservare nei soggetti malati il volume ematico, correggere la disidratazione e mantenere un'adeguata perfusione tissutale. Qualora la malattia giungesse nella sua fase emolitica, risulta indicato effettuare ossigenoterapia e trasfusioni ematiche. La somministrazione di plasma si può rivelare utile se l'animale presenta CID; al contrario, l'impiego dell'eparina (200 UI/Kg *per sc tid*) a scopo antitrombotico è tuttora considerato controverso (Traversa et al., 2019). Antipiretici e antinfiammatori, quali meloxicam o robenacoxib, possono essere somministrati in caso di febbre alta. L'uso dei glucocorticoidi rimane controverso; non è ancora chiaro se possa comportare o meno un reale vantaggio terapeutico. L'anoressia è un segno clinico estremamente comune nei quadri clinici determinati da *C. felis*, pertanto viene consigliata l'applicazione di sondini naso-faringei o esofago-stomici nei pazienti malati per poterli assistere mediante alimentazione enterale, reidratazione e una più agevole somministrazione dei farmaci che richiedono la via orale. La terapia in soggetti sintomatici va opportunamente modulata a seconda delle evidenze cliniche, delle complicanze e delle necessità riscontrate nel singolo caso. Oltre ad azitromicina,

sono stati utilizzati come componenti antibiotici anche clindamicina ed enrofloxacin. Parvovaquone e buparvaquone, antiprotozoari noti per il loro impiego contro la theileriosi bovina, si sono rivelati inefficaci contro la cytauxzoonosi in condizioni sperimentali (Motzel, Wagner, 1990). Secondo quanto riportato in uno studio, diminazene aceturato (2 mg/kg *per im*), principio attivo antitripanosomico utilizzato nel trattamento della babesiosi e altre malattie protozoarie negli Stati Uniti, ha avuto successo nel trattamento di cinque gatti malati (Greene et al. 1999). Tuttavia, la stessa molecola in un altro studio non è riuscita a ridurre la parassitemia in soggetti clinicamente sani con infezione cronica anche ad un dosaggio superiore (4 mg/kg *per im*) e, al contrario, ha determinato la comparsa di molteplici effetti collaterali negativi (Lewis et al., 2014). Diminazene aceturato è, pertanto, sconsigliato nel trattamento di gatti domestici portatori cronici dell'infezione. Diversi casi di cytauxzoonosi sono stati trattati con successo grazie all'impiego di imidocarb dipropionato (3,5 mg/kg *per im*), un principio attivo antiprotozoario impiegato negli Stati Uniti contro la babesiosi canina (Wang et al., 2017). Al contrario, uno studio rivela che tale principio attivo ha avuto successo nel trattamento solamente del 25,9% dei gatti testati (Cohn et al., 2011). Lo stesso studio evidenzia, invece, come l'associazione tra atovaquone e azitromicina abbia trattato con successo il 60,4 % dei gatti testati. I gatti malati di solito manifestano quadri compatibili con dolore, sofferenza e malessere ed è, pertanto, raccomandata una copertura analgesica che preveda ad esempio l'impiego di buprenorfina (0,01 mg/kg *per ev tid*). In caso di vomito si può intraprendere una terapia antiemetica con maropitant citrato (1 mg/kg *per sc/os sid*) (Wang et al., 2017). Al contrario, l'associazione piperacillina-tazobactam e clindamicina (11 mg/kg *per os bid*) si è dimostrata essere non efficace; infatti, in Iran, un gatto selvatico con un'infezione clinica sostenuta da *C. felis* è deceduto dopo 4 giorni dal trattamento (Zaeemi et al., 2015). La somministrazione dell'associazione tra atovaquone e azitromicina risulta essere ad oggi il trattamento più efficace per le infezioni acute, tuttavia non si rivela efficace ad eliminare la parassitemia cronica (Wang et al., 2017). I gatti domestici in grado sopravvivere alla cytauxzoonosi sostenuta da *C. felis* sono quasi un'eccezione, complice di ciò, oltre alla gravità della malattia, la mancanza di esami di routine o terapie ufficialmente riconosciute. Tuttavia, i recenti progressi nei trattamenti empirici e/o la possibilità dell'esistenza di un ceppo meno patogeno di *C. felis* potrebbero giustificare il recente incremento degli indici di sopravvivenza registrati nel gatto domestico (Wang et al., 2017). L'unica prevenzione per limitare la trasmissione di *C. felis* si basa sulla riduzione al minimo dell'esposizione del gatto al vettore zecca, in particolar modo nelle aree considerate endemiche. La profilassi della malattia è

quindi realizzabile nel gatto domestico tramite l'adozione di uno stile di vita indoor o mediante l'impiego di ectocidi. L'applicazione di un collare contenente imidacloprid al 10,0% e flumetrina al 4,5% è efficace per prevenire la trasmissione di *C. felis* impedendo alle zecche di attaccarsi al gatto (Reichard et al., 2013). Attualmente nessun vaccino è disponibile in commercio, sebbene esista un candidato, noto come "cf76" (Tarigo et al., 2013). In Europa l'approccio terapeutico dei singoli casi clinici di cytauxzoonosi nel gatto domestico si è basato su protocolli differenti, con un'efficacia che si è rivelata variabile. Nonostante nei casi di infezione da *C. felis* sia stato individuato un protocollo terapeutico raccomandato, la terapia ottimale per le infezioni sostenute dalle specie europee rimane sconosciuta a causa della carenza di studi clinici controllati. I farmaci antiprotozoari noti per essere stati impiegati in quei pochi casi in cui la malattia si manifesta clinicamente sono imidocarb dipropionato, doxiciclina e l'associazione tra atovaquone e azitromicina. Studi rivelano che una singola somministrazione di imidocarb dipropionato non ha successo nel trattamento della cytauxzoonosi, tuttavia, grazie all'aggiunta di doxiciclina, questa associazione ha contribuito ad eliminare la parassitemia in un paziente (Carli et al., 2014; Legroux et al., 2017). Un'altra associazione farmacologica, quella tra atovaquone e azitromicina pare essere risultata efficace nell'eliminare l'eritroparassitemia in tre gatti di appena due mesi d'età, sebbene il DNA del parassita continuasse ad essere rilevato tramite PCR (Nentwig et al., 2018). In un caso clinico nell'Italia Centrale, dopo la conferma diagnostica dell'infezione da *Cytauxzoon* spp. a seguito di un'indagine molecolare, è stato somministrato al paziente imidocarb dipropionato (5 mg/kg *per im*) due volte a distanza di due settimane, portando ad un miglioramento delle condizioni cliniche (Antognoni et al., 2022). Ai farmaci antiprotozoari/antibiotici in Svizzera è stato accostato anche un trattamento immunosoppressivo con prednisolone (2 mg/kg/die) e ciclosporina (5 mg/kg/die), con riduzione dei dosaggi nell'arco di due mesi (Nentwig et al., 2018). Dato che i vettori di *Cytauxzoon* spp. in Europa non sono ancora del tutto noti, è fondamentale prevenire tutte le ectoparassitosi sostenute da quegli artropodi che sono potenzialmente in grado di compiere il pasto di sangue sul gatto.

## 7.2 HEPATOZOONOSI

Il farmaco d'elezione per il trattamento dell'hepatozoonosi sostenuta da *Hepatozoon canis* nel cane è imidocarb dipropionato (5-6 mg/kg ogni due settimane fino alla negativizzazione degli strisci ematici), al quale si può associare anche toltrazuril (5-10 mg/kg *per os sid* per 10 giorni) o doxiciclina (10 mg/kg *per os sid* per 3 settimane) (Traversa et al., 2019). La completa eliminazione del parassita richiede comunque tempi lunghi e, talvolta, non si riesce a realizzare. Nel gatto, invece, mancano ad oggi i dati necessari per poter delineare un protocollo terapeutico specifico. Viene riportato in alcuni casi clinici l'impiego di doxiciclina (10 mg/kg *per os sid*), senza però alcuna evidenza di un reale successo terapeutico. Tuttavia, l'associazione di doxiciclina con oxitetraciclina e primachina sembra determinare l'apparente guarigione dei pazienti (Traversa et al., 2019). In un caso clinico in Austria un gatto affetto da *Hepatozoon felis* è stato trattato con imidocarb dipropionato (6 mg/kg *per sc* in due somministrazioni con un intervallo di 14 giorni) in combinazione con doxiciclina (5 mg/kg *per os bid* per 4 settimane). Alla visita di controllo, due settimane dopo l'inizio del trattamento, il gatto ha mostrato segni di ripresa, mentre dopo un mese i segni clinici sono del tutto scomparsi. Dopo sei mesi, gli strisci ematici hanno confermato l'assenza del parassita suggerendo così che il trattamento combinato con imidocarb dipropionato e doxiciclina può rappresentare una valida opzione terapeutica (Basso et al., 2019). È stato messo anche in evidenza, però, che imidocarb dipropionato da solo, imidocarb con doxiciclina e clindamicina con toltrazuril o emodepside spesso non comportano l'eliminazione del parassita fornendo dei risultati contrastanti (Sasanelli et al., 2010; De Tommasi et al., 2014). La sintomatologia dei gatti malati può essere controllata mediante la somministrazione di antinfiammatori non steroidei (Urquhart et al., 1998). Essendo una malattia veicolata da zecche, l'hepatozoonosi felina si può prevenire controllando le infestazioni causate dalle stesse mediante l'impiego opportuno di antiparassitari. In generale, le informazioni disponibili sul trattamento dell'hepatozoonosi felina sono estremamente limitate e, ad eccezione dei pochi casi clinici riportati, l'efficacia reale dei protocolli terapeutici applicati solleva ancora molti interrogativi.

## 8. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Cytauxzoonosi ed hepatozoonosi sono patologie ancora poco esplorate nei felidi. Le scarse conoscenze disponibili e l'andamento prevalentemente subclinico fanno sì che queste parassitosi passino gran parte delle volte inosservate agli occhi del medico veterinario. I segni clinici, se presenti, sono estremamente aspecifici complicando la formulazione del sospetto clinico. Non si possono comunque escludere eventuali malattie concomitanti che possono esitare in segni clinici sovrapponibili (Carli et al., 2012; Alho et al., 2016). Inoltre, occorre valutare il ruolo che potrebbero avere le possibili coinfezioni con altri patogeni nell'esacerbare i segni clinici (Antognoni et al., 2022). Il laborioso percorso diagnostico determina un'inevitabile sottostima della presenza e diffusione di queste parassitosi.

Mentre la riduzione degli habitat ad opera dell'urbanizzazione sta avendo un grande impatto sugli spostamenti della fauna selvatica verso ambienti antropizzati, il gatto domestico si espande nella maggior parte degli ecosistemi mondiali aumentando demograficamente (Panait et al., 2021). Inevitabile è quindi una crescente condivisione spaziale che determina una simpatia tra i felidi selvatici e il gatto domestico (Grillini et al., 2021). Per di più, l'intensificarsi della globalizzazione favorisce il movimento degli animali da compagnia, che sempre più spesso viaggiano insieme ai loro proprietari comportando l'introduzione di nuovi agenti patogeni enzootici nel loro paese d'origine o, allo stesso tempo, l'importazione al loro rientro di quelli presenti nelle aree endemiche.

Tutto ciò si traduce, da un punto di vista epidemiologico, in una più alta probabilità di interscambio di agenti patogeni. In particolare, i patogeni trasmessi da artropodi vettori nelle popolazioni selvatiche possono entrare in contatto con quelle domestiche (Panait et al., 2021). È fondamentale, pertanto, che si incrementi l'attenzione nei confronti delle *Vector-Borne diseases*, come appunto cytauxzoonosi ed hepatozoonosi.

Ci si riferisce a queste parassitosi come a delle patologie emergenti, eppure nella Francia Orientale è stato dimostrato che la cytauxzoonosi circola da almeno più di vent'anni (Willi et al., 2022). È necessario quindi fare chiarezza su quale sia stata la diffusione nel tempo di queste malattie, al fine di comprenderne l'evoluzione e lo sviluppo di possibili scenari futuri.

Gli studi inerenti alla distribuzione geografica di queste patologie possono promuoverne l'inclusione nella lista delle diagnosi differenziali anche in quelle aree ritenute fino a poco tempo prima non endemiche.

Lo striscio ematico può rappresentare un aiuto nella diagnosi perché permette l'osservazione diretta degli inclusi parassitari, ma purtroppo non può essere considerato sufficiente in quanto la cytauxzoonosi è caratterizzata da un basso carico di merozoiti circolanti nel sangue (Brown, 2008) e l'hepatozoonosi felina da una bassa parassitemia (Baneth, 2011).

La PCR è quindi raccomandata e rappresenta ad oggi il gold standard per la diagnosi di entrambe le patologie, pur non essendo comunque esente da limitazioni. L'esecuzione di questa tecnica risulta dispendiosa in termini di costi e di tempo richiedendo diverse ore per l'esecuzione (anche giorni per il sequenziamento, che viene commissionato a laboratori specializzati), oltre a non essere in grado, di distinguere l'infezione acuta da quella cronica. Ciononostante, le metodiche molecolari rimangono il metodo d'elezione ed è per questo che è importante affidarsi ad un laboratorio specializzato, in grado di supportare il sospetto clinico. Le crescenti segnalazioni dei casi di malattia manifesta, e i casi studio oggetto di pubblicazione, sono necessari per coadiuvare una raccolta sempre più dettagliata del repertorio dei quadri clinici, e permettere di affinare e mettere a punto nuove tecniche diagnostiche. Più casi clinici verranno analizzati e più la Medicina Veterinaria potrà fare passi in avanti sia dal punto di vista diagnostico che terapeutico.

Sebbene la profilassi antiparassitaria rappresenti ormai una pratica diffusa nel cane, lo stesso non si può dire per il gatto, dove la prevenzione nei confronti degli ectoparassiti viene spesso trascurata. La negligenza da parte dei proprietari comporta una maggiore probabilità di contatto tra ospite e vettore e, quindi, favorisce la trasmissione di questi patogeni. È fondamentale che il medico veterinario si occupi anche di questi aspetti di prevenzione ed educazione dei proprietari di gatti, al fine di limitare la diffusione delle parassitosi e, al contempo, proteggere la salute dell'animale. Ulteriori approfondimenti sono necessari per mettere in evidenza anche le eventuali correlazioni esistenti tra i nuovi genotipi scoperti e il grado di patogenicità da questi presentati. Studi condotti in Grecia hanno infatti dimostrato l'esistenza di diversi aplotipi di *Hepatozoon felis* (Morelli et al., 2021), e non si può non tenere conto anche della identificazione di nuove specie compiute negli ultimi anni, come *Hepatozoon silvestris* (Hodžić et al., 2017) o *Cytauxzoon europaeus*, *Cytauxzoon otrantorum* e *Cytauxzoon banethi* (Panait et al., 2021). La rivelazione di una tale diversità solleva nuovi spunti di ricerca, ad esempio per comprendere se tali specie o genotipi stiano ampliando il loro spettro d'ospite o stiano coinvolgendo nuovi artropodi vettori, oppure se entrano in gioco eventuali nuovi meccanismi patogenetici. Ulteriori chiarimenti sono necessari anche per quanto riguarda il ciclo biologico di questi parassiti e sull'identità e il ruolo dei vettori coinvolti.

Mentre in America è stato dimostrato che la “lone star tick” veicola efficacemente *Cytauxzoon felis* (Reichard et al., 2010), in Europa occorre ancora identificare con certezza gli artropodi responsabili della diffusione di queste malattie. Migliorando le conoscenze sui vettori si potrà quindi descrivere più nel dettaglio la possibile stagionalità per queste parassitosi. Inoltre, per quanto riguarda *Hepatozoon* nei felidi., sono richieste ulteriori indagini al fine di comprendere il ruolo che ricoprono la trasmissione verticale e la predazione di ospiti paratenici nel mantenimento del parassita all'interno delle popolazioni feline, anche in assenza o carenza di infestazioni di artropodi ematofagi, come dimostrato per i canidi (Baneth et al., 2013).

In conclusione, con il presente elaborato si è cercato, in base alla bibliografia disponibile, di fornire un quadro il più possibile completo delle attuali conoscenze riguardanti l'epidemiologia, la diagnosi e la terapia delle infezioni da *Cytauxzoon* spp. ed *Hepatozoon* spp., mettendo in evidenza quegli aspetti ancora poco conosciuti e che senza dubbio rappresentano una sfida per ricerche future atte a fornire al Medico Veterinario quel bagaglio di informazioni e di strumenti indispensabili per affrontare al meglio queste patologie.

## BIBLIOGRAFIA

- Aktas M. (2014). A survey of ixodid tick species and molecular identification of tickborne pathogens. *Vet Parasitol*, 200 (3-4), 276–283.
- Alho A.M., Silva J., Fonseca M.J., Santos F., Nunes C., de Carvalho L.M., Rodrigues M., Cardoso L. (2016). First Report of *Cytauxzoon* Sp. Infection in a Domestic Cat from Portugal. *Parasites Vectors* 9, 220.
- André M.R., Adania C.H., Machado R.Z., Allegretti S.M., Felipe P.A.N., Silva K.F., Nakaghi A.C.H., Dagnone A.S. (2009). Molecular Detection of *Cytauxzoon* spp. In Asymptomatic Brazilian Wild Captive Felids. *J Wildl Dis*, 45(1), 234-237.
- André M.R., Herrera H.M., Fernandes S.J., de Sousa K.C., Gonçalves L.R., Domingos I.H., de Macedo G.C., Machado R.Z. (2015). Tick-borne agents in domesticated and stray cats from the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, midwestern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*, 6(6), 779 –786.
- Antognoni M.T., Rocconi F., Ravagnan S., Vascellari M., Capelli G., Miglio A., Di Tommaso M. (2022). *Cytauxzoon* sp. Infection and Coinfections in Three Domestic Cats in Central Italy. *Vet Sci*, 9(2), 50.
- Aschenbroich S.A., Rech R.R., Sousa R.S., Carmichael K.P., Sakamoto K. (2012). Pathology in practice. *Cytauxzoon felis* infection. *J Am Vet Med Assoc*, 240 (2), 159 – 161.
- Attipa C., Pappasoulotis K., Solano-Gallego L., Baneth G., Nachum-Biala Y., Sarvani E., Knowles T.G., Mengi S., Morris D., Helps C., Tasker S. (2017). Prevalence study and risk factor analysis of selected bacterial, protozoal and viral, including vector-borne, pathogens in cats from Cyprus. *Parasit. Vectors* 10, 130.

- Averbeck G.A., Bjork K.E., Packer C., Herbst L. (1990). Prevalence of hematozoans in lions (*Panthera leo*) and cheetah (*Acinonyx jubatus*) in Serengeti National Park and Ngorongoro Crater, Tanzania. *Journal of Wildlife Diseases*, 26, 392–394.
- Baneth G. (2011). Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Vet. Parasitol*, 181, 3–11.
- Baneth G., Aroch I., Tal N., Harrus S. (1998). *Hepatozoon* species infection in domestic cats: a retrospective study. *Vet Parasitol*, 79, 123–133.
- Baneth G., Sheiner A., Eyal O., Hahn S., Beaufils J.P., Anug Y., Talmi-Frank D. (2013). Redescription of *Hepatozoon felis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) based on phylogenetic analysis, tissue and blood form morphology, and possible transplacental transmission. *Parasit Vectors* 6, 102.
- Barandika J.F., Espí A., Oporto B., del Cerro A., Barral M., Povedano I., García-Pérez L., Hurtado A. (2016). Occurrence and genetic diversity of piroplasms and other apicomplexa in wild carnivores. *Parasitol Open* 2, e6.
- Basso W., Görner D., Globokar M., Keidel A., Pantchev N. (2019). First autochthonous case of clinical *Hepatozoon felis* infection in a domestic cat in Central Europe. *Parasitol Int*, 72, 101945.
- Birkenheuer A.J., Le J.A., Valenzisi A.M, Tucker M.D., Levy M.G. Breitschwerdt E.B. (2006). *Cytauxzoon felis* infection in cats in the mid-Atlantic states: 34 cases (1998-2004). *J Am Vet Med Assoc*, 228(4), 568-571.
- Blouin E.F., Kocan A.A., Glenn B.L., Kocan K.M., Hair J.A. (1984). Transmission of *Cytauxzoon felis* Kier, 1979 from bobcats, *Felis rufus* (Schreber), to domestic cats by *Dermacentor variabilis* (Say). *J Wildl Dis*, 20(3), 241–242.
- Blouin E.F., Kocan A.A., Kocan K.M., Hair J. (1987). Evidence of a limited schizogonous cycle for *Cytauxzoon felis* in bobcats following exposure to infected ticks. *J Wildl Dis*, 23(3), 499 –501.

- Bondy P.J., Jr, Cohn L.A., Tyler J.W., Marsh A.E. (2005). Polymerase chain reaction detection of *Cytauxzoon felis* from field-collected ticks and sequence analysis of the small subunit and internal transcribed spacer 1 region of the ribosomal RNA gene. *J Parasitol*, 91(2), 458–461.
- Bowman D.D., Hendrix C.M., Lindsay D.S., Barr S.C. (2001). *The Protozoa, Feline Clinical Parasitology*, edito da Iowa State University Press, 41.
- Braga Í.A., de Souza Ramos D.G., Marcili A., Melo A.L.T., Taques I.I.G.G., Amude A. M., Chitarra C.S., Nakazato L., Dutra V., de Campos Pacheco R., Aguiar D.M. (2016). Molecular detection of tick-borne protozoan parasites in a population of domestic cats in midwestern Brazil. *Ticks Tick Dis*, 7(5), 1004–1009.
- Brown H., Modaresi S., Cook J., Latimer K., Peterson D. (2009). Genetic variability of archived *Cytauxzoon felis* histologic specimens from domestic cats in Georgia, 1995-2007. *J Vet Diagn Invest*, 21(1), 493-498.
- Brown H.M., Latimer K.S., Erikson L.E., Cashwell M.E., Britt J.O., Peterson D.S. (2008). Detection of persistent *Cytauxzoon felis* infection by polymerase chain reaction in three asymptomatic domestic cats. *J Vet Diagn Invest*, 20(4), 485-488.
- Brown H.M., Lockhart J.M., Latimer K.S., Peterson D.S. (2010). Identification and genetic characterization of *Cytauxzoon felis* in asymptomatic domestic cats and bobcats. *Vet Parasitol*, 172(3-4), 311–3.
- Carli E., Trotta M., Bianchi E., Furlanello T., Caldin M., Pietrobelli M., Solano-Gallego. (2014). *Cytauxzoon* sp. Infection in Two Free Ranging Young Cats: Clinicopathological Findings, Therapy and Follow Up. *Turkiye Parazitoloj Derg*, 38, 185-189.
- Carli E., Trotta M., Chinelli R., Drigo M., Sinigoi L., Tosolini P., Furlanello T., Millotti A., Caldin M., Solano-Gallego L. (2012). *Cytauxzoon* sp. infection in the first endemic focus described in domestic cats in Europe. *Vet Parasitol*, 183(3-4), 343-352.

- Cohn L.A., Birkenheuer A.J., Brunker J.D., Ratcliff E.R., Craig A.W. (2011). Efficacy of atovaquone and azithromycin or imidocarb dipropionate in cats with acute cytauxzoonosis. *J Vet Intern Med*, 25 (1), 55– 60.
- Criado-Fornelio A., Buling A., Pingret J.L., Etievant M., Boucraut-Baralon C., Alongi A., Agnone A., Torina A., (2009). Hemoprotozoa of domestic animals in France: prevalence and molecular characterization. *Vet Parasitol*, 159, 73–76.
- Criado-Fornelio A., Ruas J.L., Casado N., Farias N.A., Soares M.P., Müller G., Brunt J.G., Berne M.E., Buling-Saraña A., Barba-Carretero J.C. (2006). New molecular data on mammalian *Hepatozoon* species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. *J Parasitol*, 92, 93–99.
- De Bortoli C.P., André M.R., Braga M.S.C., Machado R.Z. (2011). Molecular characterization of *Hepatozoon* sp. in cats from São Luís Island, Maranhão, Northeastern Brazil. *Parasitol Res*, 109, 1189–1192.
- De Tommasi A.S., Giannelli A., de Caprariis D., Ramos R.A., Di Paola G., Crescenzo G., Dantas-Torres F., Baneth G., Otranto D. (2014). Failure of imidocarb dipropionate and toltrazuril/emodepside plus clindamycin in treating *Hepatozoon canis* infection. *Vet Parasitol*, 200, 242-245.
- Diakou A., Dimzas D., Astaras C., Savvas I., Di Cesare A., Morelli S., Neofitos K., Migli D., Traversa D. (2020). Clinical investigations and treatment outcome in a European wildcat (*Felis silvestris silvestris*) infected by cardio-pulmonary nematodes. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*, 19, 100357.
- Díaz-Regañón D., Villaescusa A., Ayllón T., Rodríguez-Franco F., Baneth G., Calleja-Bueno L., Garcia-Sancho M., Agulla B., Sainz A. (2017). Molecular Detection of *Hepatozoon* Spp. And *Cytauxzoon* Sp. In Domestic and Stray Cats from Madrid, Spain. *Parasites Vectors*, 10, 112.

- Duplan F., Davies S., Filler S., Abdullah S., Keyte S., Newbury H., Helps C.R., Wall R., Tasker S. (2018). *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp., haemoplasma species and *Hepatozoon* spp. in ticks infesting cats: a large-scale survey. *Parasit Vectors*, 11, 201.
- East M.L., Wibbelt G., Lieckfeldt D., Ludwig A., Goller K., Wilhelm K., Schares G., Thierer D., Hofer H. (2008). A *Hepatozoon* species genetically distinct from *H. canis* infecting spotted hyenas in the Serengeti ecosystem, Tanzania. *J Wildl Dis*, 44, 45–52.
- Ebani V.V., Guardone L., Marra F., Altomonte I., Nardoni S., Mancianti F. Arthropod-Borne Pathogens in Stray Cats from Northern Italy: A Serological and Molecular Survey. *Animals*, 10 (12), 2334.
- Furtado M.M., Taniwaki S.A., Metzger B., Dos Santos Paduan K., O’Dwyer H.L., de Almeida Jácomo A.T., Porfírio G.E., Silveira L., Sollmann R., Tôrres N.M., Ferreira Neto J.S. (2017). Is the free-ranging jaguar (*Panthera onca*) a reservoir for *Cytauxzoon felis* in Brazil? *Ticks Tick Borne Dis*, 8 (4), 470–476.
- Gallusová M., Jirsová D., Mihalca A. D., Gherman C.M., D’Amico G., Qablan M.A., Modrý D. (2016). *Cytauxzoon* Infections in Wild Felids from Carpathian-Danubian-Pontic Space: Further Evidence for a Different *Cytauxzoon* Species in European Felids. *J. of Parasitology*, 102(3), 377-380.
- Garner M.M., Lung N.P., Citino S., Greiner E.C., Harvey J.W., Homer B.L. (1996). Fatal *Cytauxzoonosis* in a Captive-reared White Tiger (*Panthera tigris*). *Veterinary Pathol*, 33(1), 82-86.
- Giannelli A., Latrofa M.S., Nachum-Biala Y., Hodžić A., Greco G., Attanasi A., Annoscia G., Otranto, D., Baneth, G. (2017). Three different *Hepatozoon* species in domestic cats from southern Italy. *Ticks Tick Borne Dis*, 8, 721–724.
- Giannitti F., Diab S.S., Uzal F.A., Fresneda K., Rossi D., Talmi-Frank D., Baneth G. (2012). Infection with a *Hepatozoon* sp. closely related to *Hepatozoon felis* in a wild Pampas gray fox (*Lycalopex - Pseudalopex - gymnocercus*) co-infected with canine distemper

- Glenn B.L., Kocan A.A., Blouin E.F. (1983). Cytauxzoonosis in bobcats. J Am Vet Med Assoc, 183, 1155-1158.
- Glenn B.L., Rolley R.E., Kocan A.A. (1982). *Cytauxzoon*-like piroplasms in erythrocytes of wild-trapped bobcats in Oklahoma. J Am Vet Med Assoc, 181, 1251–1253.
- Greene C.E., Latimer K., Hopper E., Shoemaker G., Lower K., Cullens F. (1999). Administration of diminazene aceturate or imidocarb dipropionate for treatment of cytauxzoonosis in cats. J Am Vet Med Assoc, 215, 497–500.
- Grillini M., Simonato G., Tessarin C., Dotto G., Traversa D., Cassini R., Marchiori E., Frangipane di Regalbono A. *Cytauxzoon* Sp. and *Hepatozoon* Spp. in Domestic Cats: A Preliminary Study in North-Eastern Italy. Pathogens, 10(9), 1214.
- Hodžić A., Alić A., Duscher G.G. (2018). High diversity of blood-associated parasites and bacteria in European wild cats in Bosnia and Herzegovina: a molecular study. Ticks Tick Borne Dis, 9. 589–93.
- Hodžić A., Alić A., Prašovic S., Otranto D., Baneth G., Duscher G. (2017). *Hepatozoon silvestris* sp. Nov.: Morphological and molecular characterization of a new species of *Hepatozoon* (Adeleorina: Hepatozoidae) from the European wild cat (*Felis silvestris silvestris*). Parasitology, 144(5), 650-661.
- Jakob W., Wesemeier H.H. (1996). A fatal infection in a Bengal tiger resembling cytauxzoonosis in domestic cats. J Comp Pathol, 114(4), 439-444.
- Jittapalapong S., Rungphisutthipongse O., Maruyama S., Schaefer J.J., Stich R.W. (2006). Detection of *Hepatozoon canis* in stray dogs and cats in Bangkok, Thailand. Ann NY Acad Sci, 1081, 479–488.

- Kamani J., Harrus S., Nachum-Biala Y., Gutiérrez R., Mumcuoglu K.Y., Baneth G. (2018). Prevalence of *Hepatozoon* and *Sarcocystis* spp. in rodents and their ectoparasites in Nigeria. *Acta Trop*, 187, 124–128.
- Karaca M., Akkan H.A., Tutuncu M., Ozdal N., Deger S., Agaoglu Z.T. (2007). Cytauxzoonosis in Van cats. *YYÜ Vet Fak Derg*, 18, 37-39.
- Karasartova D., Gureser A.S., Gokce T., Celebi B., Yapar D., Keskin A., Celik S., Ece Y., Erenler A.K., Usluca S., Mumcuoglu K.Y., Taylan-Ozkan A. (2018). Bacterial and protozoal pathogens found in ticks collected from humans in Corum province of Turkey. *PLoS Negl Trop Dis*, 12, e0006395.
- Kegler K., Nufer U., Alic A., Posthaus H., Olias P., Basso W. (2018). Fatal infection with emerging apicomplexan parasite *Hepatozoon silvestris* in a domestic cat. *Parasit Vectors*, 11, 428.
- Ketz-Riley C.J., Reichard M.V., Van Der Bussche R.A., Hoover J.P. Meinkoth J., Kocan A.A. (2003). An Intraerythrocytic Small Piroplasm In Wild-caught Pallas's Cats (*Otocolobus manul*) from Mongolia. *J Wildl Dis*, 39(2), 424-430.
- Kier A.B., Wightman S.R., Wagner J.E. (1982). Interspecies transmission of *Cytauxzoon felis*. *Am J Vet Res*, 43, 102–105.
- Klopfer U., Nobel T.A., Neuman F. (1973). *Hepatozoon*-like parasite (schizonts) in the myocardium of the domestic cat. *Vet Pathol*, 10, 185–190.
- Kocan A.A., Kocan K.M., Blouin E.F., Mukolwe S.W. (1992). A redescription of schizogony of *Cytauxzoon felis* in the domestic cat. *Ann N Y Acad Sci*, 653(1), 161–167.
- Kubo M., Jeong A., Kim S.I., Kim Y.J., Lee H., Kimura J., Agatsuma T., Sakai H., Yanai T. (2010). The first report of *Hepatozoon* species infection in leopard cats (*Prionailurus bengalensis*) in Korea. *J Parasitol*, 96, 437–439.

- Kubo M., Miyoshi N., Yasuda N. (2006). Hepatozoonosis in two species of Japanese wild cat. *J Vet Med Sci*, 68, 833–837.
- Leclaire S., Menard S., Berry A. (2015) Molecular characterization of *Babesia* and *Cytauxzoon* species in wild South-African meerkats. *Parasitology*, 142(4), 543-548.
- Legroux J., Halos L., René-Martellet M., Servonnet M., Pingret J., Bourdoiseau G., Baneth G., Chabanne L. (2017). First clinical case report of *Cytauxzoon* sp. Infection in a domestic cat in France. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 81.
- León C.I., García-Bocanegra I., McCain E., Rodríguez E., Zorrilla I., Gómez A.M., Ruiz C., Molina I., Gómez-Guillamón F. (2017). Prevalence of selected pathogens in small carnivores in reintroduction areas of the Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Vet Rec*, 180(10), 252.
- Lewis K.M., Cohn L.A., Birkenheuer A.J. (2012). Lack of evidence for perinatal transmission of *Cytauxzoon felis* in domestic cats. *Vet Parasitol*, 188 (1-2), 172–174.
- Lewis K.M., Cohn L.A., Marr H.S., Birkenheuer A.J. (2014). Failure of efficacy and adverse events associated with dose-intense diminazene diaceturate treatment of chronic *Cytauxzoon felis* infection in five cats. *J Feline Med Surg*, 16 (2), 157–163.
- Maia C., Ferreira A., Nunes M., Vieira M.L., Campino L., Cardoso L. (2014). Molecular detection of bacterial and parasitic pathogens in hard ticks from Portugal. *Ticks Tick Borne Dis*, 5, 409–414.
- Maia L.M., Cerqueira A.M., de Barros Macieira D., de Souza A.M., Moreira N.S., da Silva A.V., Messick J.B., Ferreira R.F., Almosny N.R. (2013). *Cytauxzoon felis* and ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum*’ coinfection in a Brazilian domestic cat (*Felis catus*). *Rev Bras Parasitol Vet*, 22(2), 289-291.
- Meinkoth J., Kocan A.A., Whitworth L., Murphy G., Fox J.C., Woods J.P. (2000). Cats surviving natural infection with *Cytauxzoon felis*: 18 cases (1997–1998). *J Vet Intern Med*, 14, 521–525.

- Millán J., Naranjo V., Rodríguez A., De La Lastra J.M.P., Mangold A.J., De La Fuente J. (2007). Prevalence of infection and 18S rRNA gene sequences of *Cytauxzoon* species in Iberian lynx (*Lynx pardinus*) in Spain. *Parassitology*, 134(7), 995-1001.
- Millán J., Travaini A., Cevidanes A., Sacristán I., Rodríguez A. (2018). Assessing the natural circulation of canine vector-borne pathogens in foxes, ticks, and fleas in protected areas of Argentine Patagonia with negligible dog participation. *Int J Parasitol Parasites Wildl*, 8, 63–70.
- Miller J., Davis C.D. (2013). Increasing frequency of feline cytauxzoonosis cases diagnosed in western Kentucky from 2001 to 2011. *Vet Parasitol*, 198(1-2), 205-208.
- Morelli S., Diakou A., Traversa D., Di Gennaro E., Simonato G., Colombo M., Dimzas D., Grillini M., Frangipane di Regalbono A., Beugnet F., Halos L., Paoletti B., Di Cesare A. (2021). First record of *Hepatozoon* spp. in domestic cats in Greece. *Ticks Tick Borne Dis*, 12, 101580.
- Morelli S., Grillini M., Simonato G., Colombo M., Di Cesare A., Traversa D., Frangipane di Regalbono A. (2021). VBDs da protozoi emergenti in medicina felina: biologia, epidemiologia e importanza clinica. *Summa animali da compagnia*, 7, 4-8.
- Morganti G., Veronesi F., Stefanetti V., Di Muccio T., Fiorentino E., Diaferia M., Santoro A., Passamonti F., Gramiccia M. (2019). Emerging Feline Vector-Borne Pathogens in Italy. *Parasites Vectors*, 12, 193.
- Motzel S.L., Wagner J.E. (1990). Treatment of experimentally induced cytauxzoonosis in cats with parvaquone and buparvaquone. *Vet Parasitol*, 35 (1-2), 131-138.
- Mueller E.K., Baum K.A., Papeş M., Cohn L.A., Cowell A.K., Reichard M.V. (2013). Potential ecological distribution of *Cytauxzoon felis* in domestic cats in Oklahoma, Missouri, and Arkansas. *Vet Parasitol*, 192(1-3), 104-110.
- Nentwig A., Meli M.L., Schrack J., Reichler I.M., Riond B., Gloor C., Howard J., Hofmann-Lehmann R., Willi B. (2018). First Report of *Cytauxzoon* Sp. Infection in Domestic Cats

- in Switzerland: Natural and Transfusion-Transmitted Infections. *Parasites Vectors*, 11, 292.
- Nietfeld J.C., Pollock C. (2002). Fatal Cytosporidiosis in a Free-ranging Bobcat (*Lynx rufus*). *J Wildl Dis*, 38(3), 607-610.
  - O'Dwyer L.H. (2011). Brazilian canine hepatosporidiosis. *Rev Bras Parasitol Vet*, 20(3), 181-193.
  - Ortuño A., Castellà J., Criado-Fornelio A., Buling A., Barba-Carretero J.C. (2008). Molecular detection of a *Hepatozoon* species in stray cats from a feline colony in North-eastern Spain. *Vet J* 2008, 177, 134–135.
  - Panait L.C., Mihalca A.D., Modrý D., Juránková J., Ionică A.M., Deak G., Gherman C.M., Heddergott M., Hodžić A., Veronesi F., Reichard M., Ziemann E.A. Nielsen C.K., Jiménez-Ruiz F.A., Hrazdilová K. (2021). Three new species of *Cytosporidion* in European wild felids. *Vet Parasitol*, 290, 109344.
  - Panait L.C., Stock G., Globokar M., Balzer J., Growth B., Mihalca A.D. Pantchev N. (2020) First Report of *Cytosporidion* Sp. Infection in Germany: Organism Description and Molecular Confirmation in a Domestic Cat. *Parasitol. Res.* 119, 3005-3011.
  - Patton W.S. (1908). The haemogregarines of mammals and reptiles. *Parasitology*, 1, 318–321.
  - Peixoto P.V., Soares C.O., Scofield A., Santiago C.D., França T.N., Barros S.S. (2007). Fatal cytosporidiosis in captive-reared lions in Brazil. *Vet Parasitol*, 145(3-4), 383-387.
  - Pereira C., Maia J.P., Marcos R., Luzzago C., Puente-Payo, P., Dall'Ara P., Faustino, A., Lauzi, S. (2019). Molecular detection of *Hepatozoon felis* in cats from Maio Island, Republic of Cape Verde and global distribution of feline hepatosporidiosis. *Parasites Vectors*, 12, 294.

- Rassouli M., Sabouri S., Goudarzi A., Parsa M. (2015). *Cytauxzoon felis* in a stray cat in Iran. *Comp Clin Pathol*, 24, 75-77.
- Reichard M.V., Edwards A.C., Meinkoth J.H., Snider T.A., Meinkoth K.R., Heinz R.E., Little S.E. (2010). Confirmation of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) as a vector for *Cytauxzoon felis* (Piroplasmorida: Theileriidae) to domestic cats. *J Med Entomol*, 47, 890–896.
- Reichard M.V., Meinkoth J.H., Edwards A.C., Snider T.A., Kocan K.M., Blouin EF., Little S.E. (2009). Transmission of *Cytauxzoon felis* to a domestic cat by *Amblyomma americanum*. *Vet Parasitol*, 161(1-2), 110–115.
- Reichard M.V., Thomas J.E., Arther R.G., Hostetler J.A., Raetzl K.L., Meinkoth J.H., Little S.E. (2013). Efficacy of an imidacloprid 10%/flumethrin 4.5% collar (Seresto®, Bayer) for preventing the transmission of *Cytauxzoon felis* to domestic cats by *Amblyomma americanum*. *Parasitol Res*, 112 (Suppl 1), S11–S20.
- Reichard M.V., Van Den Bussche R.A., Meinkoth J.H., Hoover J.P., Kocan A.A. (2005). A new species of *Cytauxzoon* from Pallas' cats caught in Mongolia and comments on the systematics and taxonomy of piroplasmids. *J Parasitol*, 91(2), 420–426.
- Rotstein D.S., Taylor S.K., Harvey J.W., Bean J. (1999) Hematologic Effects of *Cytauxzoonosis* in Florida Panthers and Texas Cougars in Florida. *J Wildl Dis*, 35(3), 613-617.
- Sasanelli M., Paradies P., Greco B., Eyal O., Zaza V., Baneth G. (2010). Failure of imidocarb dipropionate to eliminate *Hepatozoon canis* in naturally infected dogs based on parasitological and molecular evaluation methods. *Vet Parasitol*, 171, 194-199.
- Shock B., Moncayo A., Cohen S., Mitchell E., Williamson P., Lopez G., Garrison L., Yabsley M. (2014). Diversity of piroplasms detected in blood-fed and questing ticks from several states in the United States. *Ticks Tick Borne Dis*, 5(4), 373-380.

- Shock B.C., Murphy S.M., Patton L.L., Shock P.M., Olfenbuttel C., Beringer J., Prange S., Grove D.M., Peek M., Butfiloski J.W., Hughes D.W., Lockhart J.M., Bevins S.N., VandeWoude S., Crooks K.R., Nettles V.F., Brown H.M., Peterson D.S., Yabsley M.J. (2011). Distribution and prevalence of *Cytauxzoon felis* in bobcats (*Lynx rufus*), the natural reservoir, and other wild felids in thirteen states. *Vet Parasitol*, 175(3-4), 325–330.
- Tabar M.D., Altet L., Francino O., Sánchez A., Ferrer L., Roura X. (2008). Vector-borne infections in cats: Molecular study in Barcelona area (Spain). *Vet Parasitol*, 151, 332–336.
- Tarigo J.L., Scholl E.H., McK Bird D., Brown C.C., Cohn L.A., Dean G.A., Levy M.G., Doolan D.L., Trieu A., Nordone S.K., Felgner P.L., Vigil A., Birkenheuer A.J. (2013). A novel candidate vaccine for cytauxzoonosis inferred from comparative apicomplexan genomics. *PLOS One*, 8 (10), 0071233.
- Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L. (2010). *Principi di morfologia e biologia, Parassitologia e Malattie Parassitarie degli Animali*, edito da E.M.S.I. Edizioni Mediche Scientifiche Internazionali – Roma, 50.
- Thomas J.E., Ohmes C.M., Payton M.E., Hostetler J.A., Reichard M.V. (2017). Minimum transmission time of *Cytauxzoon felis* by *Amblyomma americanum* to domestic cats in relation to duration of infestation, and investigation of ingestion of infected ticks as a potential route of transmission. *J Feline Med Surg*, 20(2), 67-72.
- Traversa D., Venco L. (2019). *Cytauxzoonosi*, *Parassitologia clinica del cane e del gatto*, edito da Le Point Veterinarie, 41-46.
- Traversa D., Venco L. (2019). *Hepatozoonosi*, *Parassitologia clinica del cane e del gatto*, edito da Le Point Veterinarie, 55-59.
- Uilenberg G., Franssen F.F., Perié N.M. (1987). Relationships between *Cytauxzoon felis* and African piroplasmids. *Vet Parasitol*, 26 (1-2), 21–28.

- Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M., Jennings F.W. (1996). Veterinary Protozoology, Veterinary Parasitology, edito da Blackweel Science Ltd, 241-242.
- Varshney J.P., Deshmukh V.V., Chaudhary P.S. (2009). Fatal cytauxzoonosis in a kitten. *Intas Polivet*, 10, 392-393.
- Veronesi F., Ravagnan S., Cerquetella M., Carli E., Olivieri E., Santoro A., Pesaro S., Berardi S., Rossi G., Ragni B., Beraldo P., Capelli G. (2016). First detection of *Cytauxzoon* spp. infection in European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) of Italy. *Ticks Tick Borne Dis*, 7(5), 853-858.
- Vilhena H., Martinez-Díaz V.L., Cardoso L., Vieira L., Altet L., Francino O., Pastor J., Silvestre-Ferreira A.C. (2013). Feline vector-borne pathogens in the north and centre of Portugal. *Parasit Vectors*, 6, 99.
- Wagner J.E. (1976). A fatal cytauxzoonosis-like disease in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 168(7), 585-588.
- Wang J-L., Li T-T., Liu G-H., Zhu X-Q., Yao C. (2017). Two Tales of *Cytauxzoon felis* Infections in Domestic Cats. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(4), 861-885.
- Willi B., Meli M.L., Cafarelli C., Gilli U.O., Kipar A., Hubbuch A., Riond B., Howard J., Schaarschmidt D., Regli W., Hofmann-Lehmann R. (2022). *Cytauxzoon europaeus* infections in domestic cats in Switzerland and in European wildcats in France: a tale that started more than two decades ago. *Parasites & Vectors*, 15(1), 19.
- Williams B.M., Berentsen A., Shock B.C., Teixeira M., Dunbar M.R., Becker M.S., Yabsley M.J., 2014. Prevalence and diversity of *Babesia*, *Hepatozoon*, *Ehrlichia*, and *Bartonella* in wild and domestic carnivores from Zambia, Africa. *Parasitol Res*, 113 (March (3)), 911–918.
- Zaemi M., Razmi G.R., Khoshnegah J. (2015). The first detection of *Cytauxzoon felis* in a wild cat (*Felis silvestris*) in Iran. *Comp Clin Pathol*, 24, 181-184.

- Zou F-C., Li Z., Yang J-F., Chang J-Y., Liu G-H., Lv Y., Zhu X-Q. (2019). *Cytauxzoon Felis* Infection in Domestic Cats, Yunnan Province, China, 2016. *Emerg Infect Dis.*, 25, 353-354.

## RINGRAZIAMENTI

Al Prof. Antonio Frangipane di Regalbano per la sua straordinaria capacità di trasmettere la sua innata passione per la parassitologia. Lei è stato, con la sua solarità, un riferimento fondamentale durante il mio percorso di studi. Un buon insegnante non si dimentica.

Alla Dott.ssa Marika Grillini per avermi seguito durante lo svolgimento della tesi con pazienza e disponibilità.

A Mamma e Papà, per non aver mai smesso di credere in me, sempre e comunque. Il vostro supporto solido e incondizionato mi ha permesso di non arrendermi mai, neanche nelle situazioni più avverse. Mi avete dato la possibilità, nonché la completa libertà, di tracciare il mio percorso. Non esiste regalo più prezioso che dei genitori possano fare ad un figlio.

Ai miei amati Zii e Cugini, per aver sempre fatto il tifo per me durante questi anni. La grande considerazione che avete nei miei confronti è stata indispensabile per infondermi il coraggio necessario per andare avanti. Siete semplicemente meravigliosi.

A Davide e Daniele che ormai, dopo decenni, chiamarli “migliori amici” mi sembra riduttivo. Siete miei fratelli, non di nome ma di fatto. La vostra presenza è una costante nella mia vita di cui non posso fare assolutamente a meno.

Ai miei amici veneti e lombardi, perché nel biscotto della vita siete come le gocce di cioccolato. Ognuno di voi è stato una preziosa fonte di arricchimento per la mia persona. Grazie di cuore a tutti quanti.

Ad Alessandra Colnaghi, per avermi guidato a far emergere la persona che sono oggi. Un vero e proprio mentore nella mia vita.

A tutti gli animali che mi hanno accompagnato in questi anni, per avermi insegnato ad osservare e comprendere il mondo sotto una prospettiva differente. In particolare, ringrazio

il mio cane Harley, perché dal giorno in cui ti ho raccolta ferita dalla strada la mia vita non è stata più la stessa.

Infine, nonostante non sia più tra di noi, ringrazio la persona che continua ad occupare il primo posto del podio nella mia vita. Cara Nonna, spero di averti reso orgogliosa di me.