



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in
MEDICINA VETERINARIA

Indagine sulle infestazioni da strongili
broncopolmonari nella colonia
di stambecchi (*Capra ibex*)
della Marmolada

Relatore
Dott. Rudi Cassini
Correlatore
Dott. Enrico Sturaro

Laureanda
Camilla Filippini
Matricola n.
575105

ANNO ACCADEMICO

2013-2014

A mio nonno Angelo

RIASSUNTO

Gli strongili broncopolmonari sono parassiti frequenti negli ungulati domestici e selvatici, tuttavia gli studi disponibili in letteratura che si sono occupati di questa malattia parassitaria nello stambecco alpino (*Capra ibex*) sono scarsi.

La ricerca delle forme larvali di questi parassiti nelle feci rappresenta un metodo alternativo non-invasivo, utile per studiare la relazione ospite-parassita nelle popolazioni selvatiche.

L'infestazione è generalmente asintomatica, ma occasionalmente può causare gravi polmoniti che possono risultare fatali se associate a infezioni batteriche secondarie.

Durante un'indagine multidisciplinare condotta sulla colonia di stambecchi della Marmolada, è stata ricercata la presenza di questi parassiti.

Tra luglio e novembre 2013 sono stati raccolti 179 campioni di feci di stambecco, provenienti da quattro gruppi distinti, che sono stati in seguito analizzati per la ricerca e la stima quantitativa delle larve di primo stadio degli strongili broncopolmonari. L'esame coprologico ha permesso di identificare le larve solo fino a livello di genere; la tecnica utilizzata non ha altri riscontri in letteratura in quanto non esiste un protocollo standardizzato per l'analisi coprologica quantitativa delle larve di primo stadio, ma la somiglianza tra i nostri risultati e quelli di studi precedenti, suggerisce la validità della metodica utilizzata per stimare l'entità delle infestazioni broncopolmonari.

Questi parassiti sono stati trovati nell'87% dei campioni esaminati e i generi riscontrati sono: *Muellerius*, *Protostrongylus*, *Neostrongylus* e *Cystocaulus*. Non sono state invece riscontrate larve del genere *Dictyocaulus*.

L'obiettivo di questo studio è stato anche quello di valutare se e come alcuni fattori (mese di campionamento, sesso, classe d'età e appartenenza ad un gruppo) fossero in grado di influenzare il grado di infestazione.

La presenza di questa infestazione nella colonia di stambecchi oggetto di studio non sembra rappresentare un rischio per la salute della popolazione, ma la conoscenza delle sue caratteristiche basilari è fondamentale nell'ambito di un progetto di sorveglianza che abbia come scopo quello di garantire la sopravvivenza e l'incremento demografico di questa colonia.

ABSTRACT

Bronchopulmonary nematode parasites are frequently found in domestic and wild ungulates, nevertheless, only few studies are available in literature about this parasitic disease in alpine ibex (*Capra ibex*).

The study of infective larval stages in feces represents a non-invasive alternative method to investigate host-parasite relationship in wild populations.

Infection is usually asymptomatic but may occasionally result in serious case of pneumonia that can be fatal if associated with secondary bacterial infection.

During a multidisciplinary survey on the ibex colony of the Marmolada massif (North Eastern Italian Alps), we try to assess the presence of these parasites.

Fecal samples from 179 ibex were collected between July and November 2013 from four different groups, and then analyzed for the presence of first stage larvae for quantitative estimation of parasitism. Coprological examination allowed us to identify larvae just up to the genus level; there is no evidence in literature for the procedure used and a standardized protocol for quantitative analysis of larvae is missing, but the similarity between our results and previous ones, suggests that our method is useful to estimate infection rate.

Lungworms were identified in 87% of samples and the genera observed were: *Muellerius*, *Protostrongylus*, *Neostrongylus* and *Cystocaulus*. No larvae of *Dictyocaulus* were found.

The aim of this study was also to assess the importance of various factors as month of sampling, sex, age class and group.

Lungworm infection of alpine ibex from Marmolada massif seems not to represent a health risk for this population but the knowledge of its basic characteristics may be useful in a surveillance plan to ensure survival and demographic growth of this colony.

INDICE

| | |
|--|----|
| PARTE GENERALE..... | 13 |
| 1. Lo Stambecco delle Alpi (<i>Capra ibex</i>)..... | 15 |
| 1.1 Classificazione | 15 |
| 1.2 Storia naturale | 16 |
| 1.3 Distribuzione..... | 20 |
| 1.4 Habitat | 23 |
| 1.5 Cenni di Anatomia e Fisiologia | 24 |
| 1.6 Alimentazione | 27 |
| 1.7 Socialità e ciclo di vita | 28 |
| 1.8 Attività giornaliera | 31 |
| 1.9 Principali patologie | 31 |
| 1.9.1 Starvation o morte per fame. | 32 |
| 1.9.2 Diarrea primaverile. | 32 |
| 1.9.3 Strongilosi gastrointestinali. | 32 |
| 1.9.4 Ectima contagioso..... | 33 |
| 1.9.5 Cheratocongiuntivite infettiva. | 33 |
| 1.9.6 Rogna Sarcoptica. | 34 |
| 1.9.7 Patologie respiratorie..... | 34 |
| 1.9.8 Altre patologie | 35 |
| 2. Le strongilosi broncopolmonari | 37 |
| 2.1 Phylum Nematoda: morfologia e funzioni | 37 |
| 2.2 Biologia degli strongili broncopolmonari | 42 |
| 2.2.1 Inquadramento tassonomico | 42 |
| 2.2.2 Descrizione dei principali strongili broncopolmonari | 47 |

| | | |
|-------------------------|---|-----|
| - | Grossi strongili..... | 48 |
| - | Piccoli vermi polmonari | 48 |
| 2.2.3 | Specie ospite..... | 50 |
| 2.2.4 | Ciclo biologico | 55 |
| - | Grossi strongili..... | 55 |
| - | Piccoli vermi polmonari | 57 |
| 2.3 | Epidemiologia..... | 59 |
| 2.4 | Sintomatologia e Lesioni Anatomico-Patologiche..... | 63 |
| 2.5 | Diagnosi | 68 |
| 2.6 | Terapia e Profilassi | 70 |
| 3. | Relazione ospite-parassita | 73 |
| 3.1 | Distribuzione dei parassiti..... | 74 |
| 3.2 | Ruolo dei parassiti nella dinamica della popolazione ospite | 78 |
| PARTE SPERIMENTALE..... | | 81 |
| 4. | Obiettivi | 83 |
| 5. | Materiali e Metodi..... | 85 |
| 5.1 | Area di studio | 85 |
| 5.2 | La colonia di stambecchi della Marmolada | 87 |
| 5.3 | Campionamento..... | 89 |
| 5.4 | Analisi di laboratorio | 91 |
| 5.4.1 | Tecnica di Baermann modificata (mini-Baermann) | 91 |
| 5.4.2 | Descrizione e identificazione morfologica delle larve L1 | 95 |
| 5.5 | Analisi Statistica | 99 |
| 6. | Risultati..... | 101 |
| 6.1 | Aspetti descrittivi dell'infestazione | 101 |
| 6.2 | Analisi delle differenze tra gruppi | 103 |

| | | |
|-------------------|-------------------|-----|
| 7. | Discussione | 109 |
| 8. | Conclusioni | 115 |
| BIBLIOGRAFIA..... | | 117 |

**PARTE
GENERALE**

1. Lo Stambecco delle Alpi (*Capra ibex*)

1.1 Classificazione

Inquadramento tassonomico dello Stambecco delle Alpi:

| | |
|----------------|-----------------------------------|
| SUPERORDINE | <i>Ungulati</i> |
| ORDINE: | <i>Artiodattili</i> |
| SOTTORDINE: | <i>Ruminanti</i> |
| FAMIGLIA: | <i>Bovidi</i> |
| SOTTOFAMIGLIA: | <i>Caprini</i> |
| TRIBÙ: | <i>Caprini propriamente detti</i> |
| GENERE: | <i>Capra</i> |
| SPECIE: | <i>C. ibex</i> |
| SOTTOSPECIE: | <i>C. ibex ibex</i> |

La sistematica del genere *Capra* è caratterizzata da numerose controversie secondo i criteri di classificazione utilizzati.

Per quanto riguarda la specie *Capra ibex* erano riconosciute cinque sottospecie distribuite tra Eurasia e Africa:

| | |
|------------------------------------|--|
| Stambecco delle Alpi: | <i>C. ibex ibex</i> (Linneo, 1758) |
| Stambecco della Nubia: | <i>C. ibex nubiana</i> (Cuvier, 1825) |
| Stambecco dell'Abissinia: | <i>C. ibex walie</i> (Ruppel, 1835) |
| Stambecco del Caucaso occidentale: | <i>C. ibex severtzowi</i> (Menzbier, 1888) |
| Stambecco della Siberia: | <i>C. ibex sibirica</i> (Pallas, 1776) |

Erano invece considerate specie distinte: *C. falconeri* (Markhor), *C. hircus* (Capra domestica) e *C. pyrenaica* (Stambecco dei Pirenei).

Oggi invece viene proposta l'elevazione delle sottospecie di *C. Ibex* a cinque specie distinte, quindi il genere *Capra* si compone di un totale di otto specie che sono riportate di seguito con le relative sottospecie:

SPECIE *caucasica*
SUBSPECIE *caucasica*
SUBSPECIE *cylindricornis*
SUBSPECIE *severtzovi*
SPECIE *falconeri*
SUBSPECIE *falconeri*
SUBSPECIE *heptneri*
SUBSPECIE *megaceros*
SPECIE *hircus*
SUBSPECIE *hircus*
SUBSPECIE *aegagrus*
SUBSPECIE *chialtanensis*
SUBSPECIE *cretica*
SUBSPECIE *jourensis*
SUBSPECIE *picta*
SPECIE *ibex*
SPECIE *nubiana*
SPECIE *pyrenaica*
SPECIE *sibirica*
SPECIE *walie*

Tab. 1.1: Suddivisione del Genere *Capra* (WILSON & REEDER, 2005)

Tuttavia SPAGNESI et al., 2002 riportano che recenti indagini, basate su analisi elettroforetiche, hanno dimostrato che la distanza genetica tra *C. ibex* e *C. pyrenaica* non sarebbe tale da giustificare la distinzione in due specie diverse.

L'esatta classificazione dello Stambecco rimane quindi poco chiara soprattutto per quanto riguarda la suddivisione in specie e sottospecie, ulteriori studi sarebbero perciò utili per avere maggiore chiarezza.

1.2 Storia naturale

I dati offerti dalla paleontologia sulla storia remota dello Stambecco sono incerti e frammentari; si pensa che gli antenati del genere *Capra* apparvero fra la fine del Miocene e l'inizio del Pliocene nell'Asia centro-occidentale. Da questi territori

furono costretti a migrare a causa di un'imponente glaciazione (glaciazione di Günz circa 600.000 anni fa), che li portò ad occupare tutta l'Europa meridionale. I progenitori asiatici, appartenenti al genere *Tossunoria* o *Hemitragus*, colonizzarono in quattro radiazioni successive le montagne dell'Asia, dell'Europa, del Medio Oriente e dell'Africa evolvendosi in maniera differente in base all'habitat occupato e dando origine alle specie attuali del genere *Capra*.

Gli studiosi sembrano essere concordi nell'affermare che la differenziazione dell'*Ibex*, la più recente tra le specie, cominciò a cavallo tra il Pleistocene medio (periodo nel quale lo stambecco era rarissimo) e il Pleistocene superiore (dove divenne abbondante) fino a raggiungere la massima diffusione nel corso dell'ultima grande glaciazione (glaciazione di Riss, 250.000-120.000 anni fa).

Tale glaciazione portò all'enorme espansione dei ghiacciai e delle nevi perenni e questo favorì anche la migrazione di alcune forme vegetali e di associazioni erbose pre-glaciali; tutto ciò portò quindi alla dilatazione dell'habitat ideale dello stambecco creando un ponte di comunicazione tra la zona carpatica e le altre zone montane dell'Europa centro occidentale.

Gruppi di Stambecchi si sarebbero così irradiati dai Carpazi verso le Alpi e i Pirenei. In tal epoca questi animali raggiunsero la massima espansione con un areale che comprendeva oltre all'Italia, la Francia, il Belgio, il Lussemburgo, la Svizzera, l'Austria, la Germania, la Slovenia, i Balcani fino al Montenegro e l'Europa centrale fino ai Carpazi. In Italia resti di stambecco sono stati rinvenuti in tutta la penisola in particolare nelle Grotte Grimaldi ai Balzi Rossi di Ventimiglia, nelle regioni sub-Alpine e poi in Toscana, Lazio, Umbria, Campania, Puglia e infine in Abruzzo, presso Villetta Barrea.

Nei millenni successivi al periodo glaciale i ghiacciai iniziarono la ritirata, che è ancora in corso ai giorni nostri, e le associazioni erbose seguirono il ritiro dei ghiacciai e con queste gli Stambecchi, che dalle regioni pedemontane si spostarono verso la sommità delle creste montane, scomparendo dai territori circostanti le Alpi. Con la diminuzione dell'habitat legata all'aumento calorico, sembra coincidere anche la diminuzione di statura dello stambecco che era inizialmente simile a quello attuale dal punto di vista morfologico, ma più alto e più robusto.

Numerose incisioni parietali risalenti al Paleolitico mostrano raffigurazioni di stambecchi colpiti da lance o frecce e nei resti d'insediamenti umani di quell'epoca, si ritrova una notevole quantità di ossa di stambecco. Ciò ci porta a pensare che la caccia di questa selvaggina fosse un'importante fonte di sostentamento per i primitivi. In epoca più prossima a noi invece, nel Neolitico, non si trovano più tracce dello stambecco e ciò fa supporre che, a causa dei cambiamenti climatici sopra riportati, avesse raggiunto zone montane troppo impervie per essere ancora cacciato con vantaggio.

La vera e propria persecuzione degli stambecchi, che portò la specie sull'orlo dell'estinzione, concise con la conquista dei monti da parte dell'uomo. Nel Medioevo, a parte il valore intrinseco della carne, del trofeo e della pelle, lo Stambecco era attivamente ricercato ed abbattuto in tutta Europa per gli effetti taumaturgici che gli si attribuivano. Il capro o becco, fin dai miti arcaici dell'uomo primitivo veniva simbolizzato con il Male; quando gli uomini scoprirono la montagna trovarono anche gli stambecchi, caproni robusti, agili nello scalare le pareti più ripide e a sparire tra creste ritenute inaccessibili. Sommando quindi l'atavica superstizione per il capro, le sue straordinarie doti, le corna enormi e la credenza che le montagne fossero dimora di esseri malvagi e mostruosi si spiega lo sterminio della specie.

Entrare in possesso del suo sangue, delle sue corna o di altri organi significava diventare come lui: forte, coraggioso, insensibile al freddo e incurante delle vertigini, nonché al riparo dal malocchio. Il suo sangue era raccomandato per tutte le malattie da raffreddamento grazie al suo eccezionale calore che si riteneva permettesse all'animale di sopravvivere in climi decisamente rigidi; anche le corna erano molto richieste: dopo essere state tritate venivano incorporate in preparati farmaceutici utilizzati per le più svariate affezioni; particolarmente pregiato era anche l'osso che si trova alla base del cuore con una caratteristica forma a croce, che veniva considerato un potente talismano in grado di proteggere il possessore da qualunque "morte violenta". E così anche ossa, testicoli, midollo e benzoari erano premi molto ambiti.

Sottoposto a massicci abbattimenti, lo stambecco cominciò quindi a scomparire dalle regioni alpine tra il XVI, XVII e XVIII secolo. Agli inizi del XIX secolo, si pensava

che questo animale fosse ormai estinto in tutta Europa, ma si scoprì che negli impervi e scoscesi valloni della Valsavarenche (Valle d'Aosta) ne sopravviveva una colonia di cento esemplari.

Per quanto possa sembrare un controsenso, le ragioni che portarono alla protezione dello stambecco alpino sul Gran Paradiso non furono né etiche né scientifiche ma venatorie.

Come riportato da BOCCAZZI-VAROTTO, (1977), la sopravvivenza dello stambecco in Italia si deve, almeno in parte, al valdostano Giuseppe de la Pierre (o Zumstein) forestale e naturalista appassionato a cui dobbiamo le Regie Patenti del 1821 che sanciscono:

«L'utilità della scienza de' naturali, ed in particolare della zoologia, esige che con ogni maggior cura si conservino le specie di quegli animali, che trovandosi ridotte a piccol numero d'individui, corrono rischio d'annientarsi. Tale appunto ne' regii Stati è la specie dello stambecco detto da' francesi bouquetin des Alpes, e dai naturalisti Capra Ibex, e conosciuto sotto il nome vernacolo di Bouc-castagn dagli abitanti d'Aosta; ed è perciò che di nostra certa scienza, valendoci del potere da S.M. conferitoci, abbiamo ordinato, ed ordiniamo quanto segue: I. Rimane fin d'ora proibita in qualsivoglia parte de' regii dominii la caccia degli Stambecchi...».

Nonostante la bella affermazione di principio della legge sopra citata, le Regie Parenti furono istituite per riservare ai soli membri di Casa Savoia il diritto di caccia. Fu quindi l'interesse venatorio di re Vittorio Emanuele II che portò all'istituzione di riserve reali di caccia effettivamente sorvegliate da valide guardie, fra cui appunto quella del Gran Paradiso. In queste riserve lo Stambecco delle Alpi ritrovò quella sicurezza che, pur concessagli a scopo venatorio, lo mise al sicuro (come specie) dall'estinzione.

Era il 21 settembre 1821 e gli stambecchi del Gran Paradiso ammontavano a 35 maschi, 35 femmine e 30 capretti; da questo momento il numero degli animali cominciò a crescere, lentamente ma con costanza.

In realtà Vittorio Emanuele II cacciò con parsimonia camosci e stambecchi, ma costruì strade, organizzò un corpo di guardie reali e pose, probabilmente in maniera involontaria, le basi di quello che sarebbe diventato il Parco Nazionale del Gran

Paradiso. Il figlio Umberto I si dedicò alla caccia solo per perpetuare la tradizione paterna e Vittorio Emanuele III, non appena gli fu possibile, si disfece della riserva e nel 1922 la donò allo Stato per la costituzione dell'attuale Parco Nazionale.

Nei primi dodici anni l'effettivo degli stambecchi salì dai 2.370 capi del 1924 ai 3.865 del 1934. Sfortunatamente, nel 1934, il governo fascista volle accentrare la gestione del parco, sciolse la commissione apposita che lo curava e ne fece una dipendenza del ministero dell'agricoltura e foreste; tutte le guardie del parco furono congedate e sostituite da guardie forestali inesperte e questo fu per i bracconieri un periodo d'oro che portò il numero di capi a 419 nel 1945 (SILVESTRI, 1983).

1.3 Distribuzione

Attualmente lo stambecco alpino è diffuso in tutto l'arco Alpino (grazie alla reintroduzione di soggetti e all'ampliamento naturale degli areali) dalle Alpi Marittime occidentali (Argentiera) alle Alpi tra Carinzia e Slovenia ad oriente, sebbene in maniera ancora molto frammentata (Figura 1.1).

Negli ultimi cento anni le reintroduzioni hanno rappresentato lo strumento indispensabile alla ricolonizzazione dell'arco alpino da parte dello stambecco; grazie all'intervento dell'uomo, infatti, è aumentato sia il numero di colonie sia il numero di individui presenti. La reintroduzione consiste nell'immettere animali di una data specie in un'area dove la specie stessa si era estinta. Prima di effettuare ciò è importante però verificare che siano rispettate alcune importanti condizioni quali: la presenza della specie sul territorio in tempi storici, idoneità dell'ambiente ad ospitarla, rimozione delle cause alla base dell'estinzione.

I motivi che hanno portato al ritorno dello stambecco sulle Alpi sono diversi:

- Motivi ecologici: la reintroduzione di una specie può favorire il ripristino dell'originaria biodiversità dell'ecosistema in oggetto;
- Motivi economici: sviluppo del turismo;
- Motivi etici: tentativo di recuperare gli errori commessi in precedenza;
- Motivi sociali.

Tutte le attuali popolazioni sono quindi il frutto di diverse reintroduzioni avvenute nel corso degli anni (Austria, Bulgaria, Francia, Germania, Slovenia e Svizzera), eccetto quella del massiccio del Gran Paradiso.

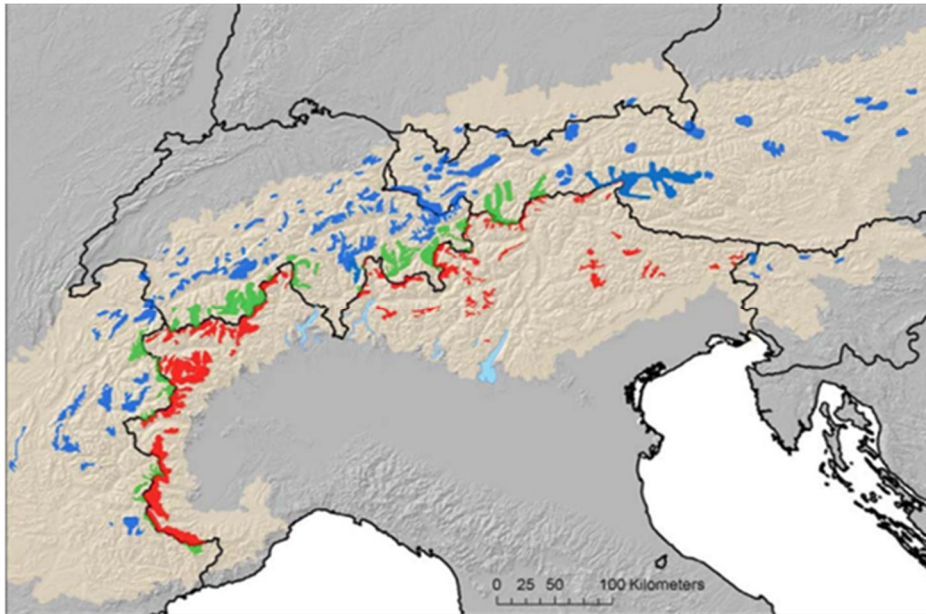


Fig. 1.1: Distribuzione dello stambecco sull'arco alpino nel periodo 2006-2008: in rosso le colonie presenti in territorio italiano; in azzurro le colonie presenti nei restanti paesi alpini; in verde le colonie di altri paesi, ma in contatto diretto con colonie italiane. (APOLLONIO et al., 2009)

In Italia, ad oggi (dati più recenti aggiornati al 2006) è possibile identificare 53 colonie distribuite su un areale di circa 5.000 km² che rappresenta il 14% dell'area potenzialmente idonea per la specie. Sull'intero arco alpino italiano attualmente si stima una consistenza di stambecchi pari a 15.000 capi, con un tasso di incremento annuo attorno al 3% (CARNEVALI et al., 2009).

Considerando il numero di colonie nelle varie parti dell'arco alpino italiano (29 per l'arco alpino centro-occidentale e 24 per quello orientale) si può pensare che lo Stambecco sia equamente distribuito; in realtà valutando nello specifico il numero di capi ci accorgiamo che non è così. L'85% dei soggetti (12.707 capi) è distribuito nelle regioni centro-occidentali (con il 60% nelle sole province di Aosta e Torino) e solo il 15% (2.158 capi) si trova sull'arco alpino centro-orientale (Tabella 1.2). Da ciò si evince un'importante disomogeneità della distribuzione di *C. ibex ibex* in Italia.

| Regione | Consistenza 1999-2000 | Consistenza 2004-2005 |
|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Piemonte | 3.700 | 4.082 |
| Val d'Aosta | 5.640 | 6.443 |
| Lombardia | 2.140 | 2.182 |
| <i>ARCO ALPINO CENTRO-OCCIDENTALE</i> | <i>11.480</i> | <i>12.707</i> |
| Trentino-Alto Adige | 970 | 1.150 |
| Veneto | 330 | 300 |
| Friuli-Venezia Giulia | 450 | 735 |
| <i>ARCO ALPINO CENTRO-ORIENTALE</i> | <i>1.750</i> | <i>2.185</i> |
| Totale | 13.230 | 14.892 |

Tab 1.2: Consistenze dello Stambecco nelle diverse regioni italiane, riferite agli anni 2000 e 2005 (CARNEVALI et al., 2009)

Secondo la lista rossa dell'IUCN (International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources) lo stambecco rientra nella classe LC (rischio minimo), e quindi non è più considerata una specie in via di estinzione. In alcuni Paesi è previsto anche un piano di abbattimenti selettivi come in Svizzera, Austria, Slovenia e recentemente anche in Italia, seppure in maniera molto limitata. Infatti a partire dal 1991 la provincia autonoma di Bolzano (con la L.P. del 17 luglio 1987, n. 14 "Norme per la protezione della selvaggina e per l'esercizio della caccia" e con la L.P. 28 novembre 1996, n.23 "Modifiche di leggi vigenti sulla sperimentazione agricola, sulle foreste e sulla caccia") consente all'assessore provinciale competente in materia di caccia la possibilità di autorizzare l'abbattimento di capi adulti, nonché deboli e malati, in quelle riserve in cui viene accertata una consistenza soddisfacente. Tra il 1995 e il 2000 sono stati prelevati in media 45-50 capi all'anno e nel periodo 2001-2004 circa 65-75. Il prelievo corrisponde all'8% circa della popolazione e sono stati abbattuti soprattutto maschi (rapporto m:f di 3,3) di età superiore ai 6 anni (APOLLONIO et al., 2009).

Nonostante negli ultimi 50 anni il numero di colonie sia notevolmente aumentato, lo stambecco continua ad avere una distribuzione molto inferiore rispetto al territorio potenzialmente in grado di ospitarlo.

I motivi sono da ricercare in primis nella lenta capacità di occupare nuovi territori: lo stambecco infatti tende ad utilizzare le stesse zone di svernamento. Non possiede una strategia d'espansione a "macchia d'olio" come camoscio e capriolo, ma dimostra una stabilità dello spazio vitale occupato. Solo dopo il raggiungimento di una certa

densità di popolazione qualche soggetto giovane tenta di occupare nuovi spazi, ma questi soggetti fanno regolare ritorno ai luoghi d'origine, realizzando vere e proprie migrazioni. L'occupazione dei nuovi territori diviene permanente solo alla generazione successiva da parte della prole di femmine colonizzatrici; tale processo può durare anche 10-15 anni (APOLLONIO et al., 2009).

Per la conservazione della specie, l'obiettivo a lungo termine consiste nella genesi di una metapopolazione.

Con il termine metapopolazione si intende una popolazione animale composta da più gruppi separati geograficamente ma in grado di interagire tra loro, anche solo saltuariamente, mediante reciproci scambi di individui che permettano di mantenere una certa variabilità genetica (PEDROTTI et al., 2008). Questa specie ha infatti attraversato almeno due "colli di bottiglia" negli ultimi duecento anni riducendo notevolmente la variabilità del patrimonio genetico (tra le più basse registrate), soprattutto se consideriamo che la maggior parte delle colonie oggi esistenti derivano dai pochi individui sopravvissuti nel Parco del Gran Paradiso.

La creazione di una metapopolazione permetterebbe di avere dei collegamenti tra colonie, oggi separate, con buone possibilità di occupazione dell'areale storico tra Austria, Francia, Italia, Slovenia e Svizzera.

1.4 Habitat

Lo stambecco delle Alpi fa parte dei cosiddetti *glacier-followers*, cioè quelle specie che hanno seguito le modificazioni ambientali legate alle grandi glaciazioni e si sono stabilite in zone montuose, aride e non forestali. Si trova quindi ad alte quote, sopra il limite del bosco, dove si trovano le pareti rocciose e le praterie d'altitudine. I principali fattori ambientali che influenzano la scelta dell'habitat sono l'altitudine e il tipo di vegetazione; esso vive a quote comprese tra i 1600 ed i 2800 m s.l.m. durante l'inverno e tra i 2300 e i 3200 m in estate (CARNEVALI et al., 2009). Necessita inoltre di una certa diversificazione ambientale che garantisca una buona disponibilità alimentare soprattutto durante l'inverno. Compie quindi vere e proprie migrazioni stagionali cambiando la propria nicchia ecologica a seconda delle

condizioni climatiche. I maschi frequentano preferibilmente zone aperte come praterie e macereti di alta quota mentre le femmine si trovano più frequentemente in zone impervie come creste e anfratti rocciosi che garantiscono una maggiore protezione dai predatori per i capretti (PARRINI et al., 2009).

In questo habitat i principali antagonisti degli stambecchi erano un tempo rappresentati dai grandi predatori come il lupo, l'avvoltoio, la lince e l'orso che però oggi sono ormai pochissimi sulle Alpi. Attualmente il principale nemico degli stambecchi è costituito dalle valanghe che rappresenta un sistema di selezione naturale perché gli animali sani, nella maggior parte dei casi, avvertono il pericolo e si mettono in salvo.

In questa specie l'occupazione di nuovi territori avviene molto lentamente perché per natura lo stambecco tende a frequentare le stesse zone di svernamento di anno in anno; questo spiega, almeno in parte, perché nel nostro paese troviamo aree densamente popolate alternate ad aree che, seppur favorevoli, ospitano pochi individui. A ciò si aggiunge il fatto che i ghiacciai e i vasti complessi forestali (all'interno dei quali lo stambecco generalmente non si spinge) rappresentano delle vere e proprie barriere ecologiche insormontabili, che limitano ulteriormente gli spostamenti. L'habitat perciò condiziona anche questo importante aspetto della vita dello stambecco, rendendo più difficile la sua espansione territoriale.

1.5 Cenni di Anatomia e Fisiologia

Lo stambecco delle Alpi è un bovide selvatico di medie dimensioni con aspetto simile alla capra domestica ma caratterizzato da forme robuste e pesanti, in contrasto con la sua notevole agilità. L'altezza al garrese raggiunge 85-92 cm nei maschi e 70-78 cm nelle femmine. Il peso varia tra i 75 e i 120 kg per il maschio e tra i 40 e i 55 kg per la femmina.

Notevole è il dimorfismo sessuale che permette una distinzione tra i sessi relativamente semplice.

Il primo carattere distintivo è rappresentato dalle **corna**, a sezione quadrangolare e ricurve all'indietro; nel maschio sono molto sviluppate, possono raggiungere i 98 cm e formano nodosità ornamentali ben evidenti sul lato anteriore. Nelle femmine sono più piccole di 18-35 cm, meno incurvate e prive di nodi ornamentali ma con una serie di escrescenze orizzontali che corrono lungo tutta la circonferenza del corno (PARRINI et al., 2009).

Sono costituite da un astuccio corneo che riveste un osso (l'osso del corno) che origina dell'osso frontale; la loro crescita avviene soprattutto in primavera e in estate mentre da novembre in poi la crescita si arresta. La pausa invernale lascia quindi un caratteristico "anello" sul corno che ci permette di stimare l'età dell'animale. L'accrescimento delle corna è continuo, risulta massimo nei primi anni di vita (fino a 8-9 cm per anno nei maschi), dopo i 5 anni invece la crescita rallenta e gli anelli sono più ravvicinati, separati solo da pochi millimetri. Come in altri ruminanti, le corna hanno una funzione rituale, legata alla determinazione delle gerarchie sociali (Figure 1.2 e 1.3).



Fig. 1.2: Aspetto delle corna nella femmina di stambecco. (Foto di Matteo Mosconi)



Fig. 1.3: Aspetto delle corna nel maschio di stambecco. (Foto di Matteo Mosconi)

Il **mantello** ha una colorazione variabile in funzione del momento stagionale; è tendenzialmente più scuro in inverno (bruno scuro, quasi nero) mentre in estate è di colore bruno chiaro o beige (soprattutto nei giovani). La femmina è tendenzialmente più chiara rispetto al maschio che si riconosce anche per la caratteristica “barbetta” che si trova sotto il mento e diviene particolarmente lunga e folta in inverno. A differenza di altri ungulati selvatici, nello stambecco la muta avviene solo una volta all’anno, in primavera, quando perde il fitto sottopelo invernale; in autunno al pelo estivo di rivestimento (giarra) si aggiunge quello invernale, fitto e lanoso (borra), che si sovrappone al primo, quindi non abbiamo una vera muta ma una crescita aggiuntiva di pelo, interpretabile come un adattamento della specie alle condizioni climatiche (PARRINI et al., 2009).

Il **pie** dello stambecco merita una descrizione particolare in quanto rappresenta la struttura anatomica più spiccatamente adattata alla vita ad alta quota. Le dita sono provviste di due unghie che, a differenza di altri ungulati, sono completamente indipendenti tra loro e notevolmente divaricabili (per la mancanza della membrana interdigitale) in modo da garantire due appoggi separati per ogni zampa. La parete cornea della faccia esterna, interna e del bordo anteriore di ogni unghia è estremamente dura mentre la parte del tallone e della suola è caratterizzata da un’estrema elasticità e morbidezza che permette un’aderenza perfetta su qualsiasi tipo di roccia.

Questo piede, mirabilmente adattato alla vita sulla roccia, è invece inadeguato per la neve: infatti la mancanza della membrana interdigitale crea una superficie di appoggio piccola e impedisce la distribuzione del peso, perciò l’animale sprofonda eccessivamente e procedere diventa molto difficoltoso. Questo è il motivo per cui lo stambecco evita i campi di neve, le pareti ghiacciate e i nevai molto inclinati.

Formula dentaria: I 0/3, C 0/1, P 3/3, M 3/3 per un totale di 32 denti; la dentatura è adattata ad una alimentazione vegetariana e lo sviluppo definitivo viene raggiunto attorno ai 3 anni e mezzo. La determinazione dell’età è comunque più precisa se basata sulla crescita delle corna.

I maschi vengono distinti in:

- Capretti < 1 anno;
- Giovani 1-2 (3) anni;
- Subadulti (3) 4-6 anni;
- Adulti 7-11 anni;
- Vecchi \geq 12 anni

Le femmine vengono distinti in:

- Capretti < 1 anno;
- Giovani 1 anno compiuto;
- Subadulte 2-3 anni che non hanno ancora partorito;
- Adulte 4-13 anni;
- Vecchie \geq 14 anni

L'aspettativa di vita in natura è attorno ai 15 anni, in cattività possono arrivare anche ai 20 anni.

1.6 Alimentazione

Lo stambecco è un ruminante, ed è quindi in grado di ottenere energia da una dieta esclusivamente vegetariana. Il vantaggio fornito dalla ruminazione consiste nella possibilità di ingerire molto cibo in poco tempo (il rumine ha un volume di circa 30 litri) potendo poi proseguire la ruminazione al sicuro dai predatori (PEDROTTI et al., 2008).

Esso viene considerato un pascolatore selettivo specializzato perché è in grado di nutrirsi di diverse specie vegetali secondo la disponibilità stagionale; si ciba di erbe, muschi, licheni, rami, cortecce, germogli e foglie di arbusti e alberi, felci, funghi, frutti e semi; in inverno, quando l'alimento scarseggia può anche dissotterrare con gli zoccoli le radici delle graminacee per cibarsene. In media ingerisce 15 kg di materia vegetale al giorno.

Il maschio ha bisogno di maggiori quantità di alimento, quindi è meno selezionatore e trascorre più tempo ad alimentarsi; la femmina invece seleziona alimenti con un maggiore contenuto energetico perché deve dedicare più tempo alla cura della prole.

Necessitano anche di una certa quantità di sali minerali che ricavano dal lambimento delle rocce; l'assunzione di acqua è limitata in quanto può essere assunta già con l'alimento o mediante l'ingestione della neve.

1.7 Socialità e ciclo di vita

Lo stambecco è un animale gregario che vive in branchi.

Generalmente i maschi costituiscono dei branchi separati dalle femmine e composti per la maggior parte da soggetti adulti, solo raramente si possono ritrovare alcuni soggetti giovani che si aggiungono al branco di maschi, di solito questo accade in primavera quando lasciano la madre. Le femmine invece formano gruppi con la loro prole e molto frequentemente in essi si trovano soggetti giovani di entrambi i sessi, nati nell'anno precedente ma che continuano a seguire la madre.

Variazioni di questa struttura sociale sono spesso legate alla stagione: ad esempio in primavera spesso si formano gruppi numerosi perché sia i maschi, sia le femmine si riuniscono in quei luoghi ove la neve si scioglie prima e quindi ci sono maggiori possibilità di alimentarsi; da maggio ad ottobre invece possono pascolare anche sparsi, non necessariamente riuniti.

Altro fattore che influenza la composizione dei gruppi è la densità di popolazione: se in una determinata area la densità è molto ridotta, maschi e femmine si riuniscono in un unico branco per costituire un gruppo più numeroso e quindi meno a rischio.

Il momento per eccellenza in cui si ritrovano branchi misti è comunque durante il periodo del calore e delle parate amorose, cioè tra i primi di dicembre e la metà di gennaio. In questo caso però i gruppi sono caratterizzati da frenetici spostamenti, eseguiti soprattutto dai maschi che si spostano da un gruppo di femmine all'altro. Solo raramente si possono osservare stambecchi che vivono isolati e di solito si tratta di soggetti maschi di età superiore ai 12 anni; questi partecipano comunque all'attività riproduttiva, ma alla fine del periodo dei calori si ritirano a vita solitaria. In alternativa un soggetto isolato dal branco può essere un soggetto malato o molto anziano (16-17 anni) (MIGNATTI et al., 2012).

Lo stambecco è quindi un animale gregario che vive in branchi a sessi separati in cui la gerarchia viene determinata principalmente prima della stagione riproduttiva con i cosiddetti tornei amorosi; nella maggior parte dei casi non si tratta di scontri violenti ma di interazioni ritualizzate in cui gli animali si fronteggiano e si spingono testa contro testa, talvolta anche affiancandosi e spingendosi l'uno contro l'altro. Di fatto però è uno scontro più rumoroso che violento, e il rumore del cozzare delle corna è udibile anche a notevole distanza, talvolta anche di notte.

Nella maggior parte dei casi il più debole si sottomette al più forte; se invece i due contendenti si equivalgono come forza e peso, i tornei possono durare anche molte ore e gli animali si possono procurare gravi ferite o fratture del corno, delle ossa facciali o degli arti.

Il vincitore, definito *sultano*, sceglie un gruppo di 6-8 femmine giovani che coprirà durante il calore; è quindi il soggetto migliore che si accoppia col maggior numero di femmine garantendo la trasmissione del proprio patrimonio genetico e influenzando quindi i caratteri della progenie (PARRINI et al., 2009).

La maturità sessuale viene raggiunta all'età di 1 anno e mezzo sia per i maschi sia per le femmine (che quindi potrebbero partorire già a 2 anni), ma in realtà la maggior parte delle femmine non figlia prima dei 3-4 anni di vita. Il periodo dei calori va dal 15 dicembre al 15 gennaio ma la singola femmina è fecondabile solo per 48 ore.



Fig. 1.4: Tipico atteggiamento dello stambecco durante la parata amorosa. Immagine dal sito: http://www.icponte.it/ipertesti/ambiente_alpino/mstambec.htm

Durante il corteggiamento, definito *parata* in questa specie, il maschio segue la femmina in calore: caratteristico è il portamento della coda ripiegata sulla groppa, il collo proteso in avanti e il sollevamento del labbro superiore nel tipico atteggiamento di *flehmen* (Figura 1.4). La femmina invece mantiene un atteggiamento di accondiscendenza, agita energicamente la coda e resta immobile aumentando la base di appoggio in modo da sostenere il peso del maschio.

La copula è breve, in genere non supera i 15-20 secondi.

La gravidanza ha una durata di circa 165-170 giorni, circa un mese prima del parto la femmina allontana il figlio partorito l'anno precedente e qualche giorno prima si isola in posti impervi e molto difficili da raggiungere dove dà alla luce un capretto (raramente può darne alla luce anche due). I parti avvengono quindi in giugno-luglio, quando abbiamo le migliori condizioni climatiche e abbondanza di cibo.

I capretti alla nascita pesano dai 2 ai 3,5 kg e nell'arco di poche ore sono già in grado di reggersi perfettamente in piedi; dopo un paio di giorni si muovono agilmente sui terreni rocciosi seguendo assiduamente la madre. In questo periodo un pericolo particolare è rappresentato dall'aquila che può catturare qualche piccolo, anche se ciò avviene molto raramente.

L'allattamento viene gradualmente integrato e sostituito con alimenti vegetali già a partire dal secondo mese di vita, ma si può dire che il latte rappresenti la principale fonte di sostentamento per il capretto fino alla fine del terzo mese di vita. Dal quarto mese in poi le poppate hanno un significato più che altro psicologico, legato a momenti di paura o ricerca del contatto fisico con la madre (PEDROTTI et al., 2008). L'allattamento comunque può protrarsi per un anno e a volte anche per due anni dopo il parto finché la madre non scaccia il figlio che a questo punto può costituire dei branchi insieme a giovani della sua stessa età o rimanere nel branco della madre. Verso i tre anni i maschi si aggregano ai gruppi maschili più vicini mentre le femmine spesso rimangono nel gruppo femminile di provenienza.

Il tasso di mortalità dei neonati è comunque notevole e dipende in primis dalle condizioni climatiche. Nei primi tre mesi di vita il 15% dei capretti nati va incontro a morte (SILVESTRI, 1983).

1.8 Attività giornaliera

Lo stambecco è attivo soprattutto nelle ore diurne: in estate ama pascolare soprattutto la mattina presto e la sera; nelle ore intermedie della giornata si sposta a quote maggiori, dove la temperatura è più bassa, e qui rimane a riposarsi e ruminare. In inverno invece la sua attività non presenta un ritmo regolare perché dipende molto dalle condizioni meteorologiche; in genere comunque l'attività di pascolamento inizia più tardi e si protrae fino al tardo pomeriggio dopodiché lo stambecco cerca un riparo, dove trascorrere le ore notturne (PARRINI et al., 2009).

1.9 Principali patologie

Molti agenti patogeni sono in grado di causare malattia negli animali selvatici, talvolta influenzando anche la dinamica di popolazione. Lo stambecco, in particolare modo, si è dimostrato recettibile a molte malattie infettive che colpiscono i ruminanti domestici e selvatici.

In generale un animale sofferente può avere atteggiamenti e segni particolari che permettono di riconoscerne lo stato di malattia; ad esempio, per lo stambecco (animale gregario), l'isolamento dal gruppo molto spesso è indice di patologia in corso. Altri segni possono essere l'eccessiva perdita di peso, mantello arruffato e sporco, presenza di scolo oculare/nasale, diminuzione o assenza del riflesso di fuga nei confronti dell'uomo e in generale qualunque comportamento anomalo rispetto allo standard della specie (OBBER, 2013).

Di solito esiste un equilibrio tra popolazione ospite, agente patogeno e ambiente e questo vale soprattutto negli animali selvatici, dove l'interferenza umana è meno importante; questo equilibrio permette la sopravvivenza di entrambe le specie coinvolte e quindi non è di norma necessario l'intervento dell'uomo per arginare un'epidemia. Questo vale se anche l'equilibrio con l'ambiente viene rispettato.

Le principali patologie che colpiscono lo stambecco sono:

1.9.1 Starvation o morte per fame.

Lo stambecco è una delle specie più adattate alla vita in alta quota e lo dimostrano il folto mantello che lo protegge dalle basse temperature, la riduzione del ritmo metabolico e dell'attività quotidiana per diminuire il consumo di energia, nonché la capacità di trarre nutrimento anche da vegetali molto scadenti; tuttavia durante inverni molto rigidi e lunghi l'animale può andare incontro a stati carenziali o a vere e proprie morti per inanizione a causa della scarsità di alimento reperibile in tali condizioni climatiche. Di solito questo avviene soprattutto in animali giovani e dipende dalla loro minore capacità di accumulo delle riserve corporee che sono fondamentali per il superamento della stagione invernale.

1.9.2 Diarrea primaverile.

È dovuta primariamente ai drastici cambi di alimentazione che avvengono in questa stagione per la ripresa vegetativa; questo può portare ad anomale fermentazioni ruminali ma soprattutto del grosso intestino con conseguente diarrea. Si tratta comunque di forme autolimitanti nella gran parte dei casi che però possono predisporre l'animale a infezioni o infestazioni secondarie, ad esempio sostenute dai nematodi gastrointestinali.

1.9.3 Strongilosi gastrointestinali.

Si tratta di malattie parassitarie estremamente diffuse in questa specie e causate da nematodi quali *Trichostrongylus*, *Trichuris*, *Ostertagia*, *Oesophagostomum*, *Capillaria*, *Cooperia*, *Bunostomum*, *Chabertia*, *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Marshallagia*, *Teladorsagia* e *Strongyloides* (SILVESTRI, 1983). Il ciclo biologico è diretto (senza ospiti intermedi) con una fase endogena (nel tratto g.i.) e una fase esogena (nell'ambiente esterno). Le larve infestanti (L3) vengono ingerite dall'ospite

con l'erba e si localizzano nell'abomaso o nell'intestino, dove poi evolvono in parassiti adulti a sessi separati. Le femmine depongono uova che sono poi eliminate nell'ambiente con le feci. La quantità di uova emesse aumenta notevolmente in prossimità del parto in modo che il pascolo sia fortemente contaminato quando i capretti inizieranno a brucare l'erba. Tra le azioni patogene più importanti ricordiamo la riduzione della capacità di assorbimento con possibile perdita di peso e nelle infestazioni massive una diarrea profusa.

Oltre ai nematodi altri parassiti gastrointestinali frequenti nello stambecco sono anche i protozoi (*coccidi*) e i cestodi delle famiglie *Taeniide* e *Anoplocephalidae*. I trematodi (come *Fasciola hepatica* e *Dicrocoelium dendriticum*) sono invece molto rari.

1.9.4 Ectima contagioso.

Malattia infettiva ad eziologia virale causata da un *Parapoxvirus* che colpisce oltre allo stambecco anche il camoscio, la capra e la pecora. Si manifesta soprattutto nei soggetti giovani con la comparsa di proliferazioni papillomatose e verrucose ricoperte da croste grigio-brunastre a livello peri-labiale, peri-oculare, a livello anale e talvolta anche a livello della mammella. La malattia ha un decorso simile a quello negli ovi-caprini domestici, ma presenta aspetti caratteristici nello stambecco e nel camoscio: in queste specie, infatti, la malattia si presenta soprattutto in inverno (anziché in estate/autunno come nei domestici, probabilmente a causa delle microlesioni che si procurano scavando nella neve per cercare risorse alimentari) e molto spesso predispone l'animale a infezioni batteriche secondarie (SILVESTRI, 1983). A seconda della localizzazione causano: difficoltà di prensione dell'alimento, mancato allattamento dei piccoli o zoppia.

1.9.5 Cheratocongiuntivite infettiva.

Malattia infettiva altamente contagiosa causata da *Mycoplasma conjunctivae*. Le lesioni sono caratterizzate da uno scolo oculare che nelle fasi avanzate diviene

mucopurulento, associato a ulcerazioni e opacità della cornea che portano a cecità con conseguenti turbe del comportamento (talvolta causate anche da un interessamento encefalico). Nella maggior parte dei casi la malattia evolve verso una guarigione spontanea con mortalità inferiori al 5% (OBBER, 2013).

1.9.6 Rogna Sarcoptica.

Questa malattia rappresenta la più grave infestazione parassitaria che colpisce le popolazioni selvatiche di bovidi alpini, in particolare camoscio e stambecco (OBBER, 2013). È sostenuta dall'acaro *Sarcoptes scabiei*, agente zoonosico che causa una grave dermatite con erosioni prima squamose e poi crostose su testa, collo, addome e zampe. Le lesioni sono caratterizzate da notevole prurito che spesso porta l'animale ad autotraumatismi con conseguenti infezioni secondarie. Sono colpiti animali di qualunque età, indipendentemente dal sesso e la malattia ha un andamento progressivo e debilitante che porta l'animale a morte entro 2-4 mesi.

Una recente epidemia ha colpito pesantemente la popolazione di stambecchi delle dolomiti con gravi danni soprattutto per la colonia della Marmolada, dove la malattia ha portato a morte l'80% dei soggetti nel triennio 2004-2006 (GUERRA, 2010).

1.9.7 Patologie respiratorie.

Si tratta di sindromi multifattoriali ad eziologia variabile, batterica, virale o parassitaria che colpiscono frequentemente tutti i ruminanti. Nello stambecco rivestono particolare importanza le infestazioni sostenute da nematodi broncopolmonari appartenenti alle famiglie *Dictyocaulidae*, *Protostrongylidae* e *Metastrongylidae*. I parassiti adulti si localizzano nei bronchi e negli alveoli e le uova vengono portate in faringe con l'espettorato e successivamente deglutite; con le feci vengono quindi emesse larve di primo stadio (L1). Si tratta di una patologia con bassa mortalità, ma anche le patologie con andamento subclinico possono interferire con lo stato di salute dell'animale e, se associate ad altri fattori debilitanti come le difficili condizioni ambientali, le scarse disponibilità trofiche e il disturbo antropico,

possono portare a episodi di mortalità o comunque compromettere la biologia riproduttiva della specie in oggetto.

1.9.8 Altre patologie

Positività, a volte solo sierologiche, sono state segnalate anche per *pasteurellosi*, *clamidiosi*, *febbre Q*, *tubercolosi*, *paratubercolosi*, *pseudotubercolosi*, *afta epizootica*, *brucellosi*, *rinotracheite infettiva* e *pedaina*, a testimonianza del vasto spettro d'infezioni cui lo stambecco è potenzialmente suscettibile (APOLLONIO et al., 2009).

2. Le strongilosi broncopolmonari

Le strongilosi broncopolmonari sono malattie parassitarie sostenute da nematodi appartenenti a due superfamiglie: *Trichostrongylidae* e *Metastrongylidae*, che colpiscono soprattutto ruminanti domestici e selvatici (ma anche canidi, felini, equini, suini e lagomorfi). Il termine “broncopolmonari” indica la particolare localizzazione di questi parassiti che, allo stadio adulto, si trovano a livello di bronchi, bronchioli, dotti alveolari, alveoli e vasi ematici adiacenti al polmone.

2.1 Phylum Nematoda: morfologia e funzioni

I nematodi sono parassiti indicati anche con il nome di vermi tondi per il loro aspetto tipicamente rotondeggiante in sezione trasversale, essi infatti hanno un corpo cilindrico assottigliato alle estremità.

La cavità celomatica (pseudoceloma) è relativamente ampia e contiene organi tubulari che sono sospesi nel liquido che riempie la cavità; questo liquido viene mantenuto ad una pressione variabile che consente di modificare forma e rigidità del corpo (URQUHART et al., 2007).

Esternamente invece sono circondati da una cuticola trasparente pluristratificata, costituita da fibre collagene anelastiche, perciò quando la pressione del liquido celomatico aumenta, si ottiene un aumento della lunghezza ma solo un minimo cambiamento del diametro dei parassiti (BOWMAN, 2009).

Al di sotto della cuticola troviamo l'ipoderma che circonda i canali escretori (formando le due corde laterali) e i nervi (formando la corda dorsale e ventrale).

Tra ipoderma e cavità celomatica si collocano le cellule muscolari che sono orientate in senso longitudinale e collegate, tramite un prolungamento citoplasmatico, al nervo mediano corrispondente (dorsale o ventrale); perciò il movimento del parassita avviene grazie alla contrazione indipendente di gruppi di cellule muscolari (Figura 2.1).

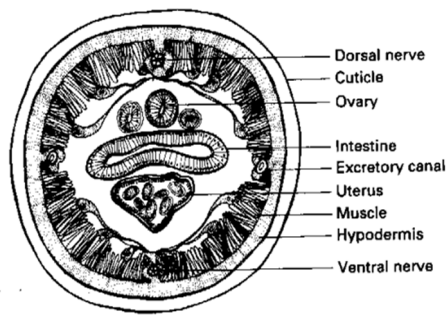


Fig. 2.1: Nematode in sezione trasversale. (URQUHART et al., 2007)

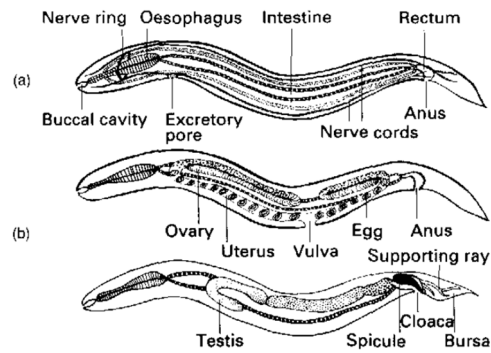


Fig. 2.2: Struttura longitudinale di un nematode: (a) sistema digerente, (b) sistema riproduttivo femminile e maschile. (URQUHART et al., 2007)

Il sistema escretore è costituito da ghiandole unicellulari pari con un poro escretore comune, situato medio-ventralmente nella regione del collo. In aggiunta ci sono due canali escretori che corrono lungo tutto il corpo del parassita all'interno delle corde laterali costituite da ipoderma (Figura 2.2). In alcuni nematodi (superfamiglia *Ascaridoidea*) il sistema escretore può presentare alcune differenze come la presenza di un'unica cellula molto grande con un nucleo di dimensioni elevate che sbocca più cranialmente rispetto a quanto avviene per gli altri nematodi.

Anche il sistema digerente è tubolare ed è costituito da:

- apparato buccale ed esofago (stomodeo);
- intestino (mesenteron);
- retto e apertura anale o cloaca (proctodeo).

L'apparato buccale presenta morfologia variabile in base alla specie parassita, in alcuni casi è costituito da una semplice apertura circondata da due o tre labbra, in altri casi si forma invece una vera e propria capsula buccale, fornita di denti con i quali il parassita ingloba parte della mucosa dell'organo parassitato; altre volte invece, la capsula buccale è ridotta (come nei tricostrongilidi) e in questi casi i parassiti si alimentano di fluidi mucosali, detriti cellulari e materiale già digerito dall'ospite (URQUHART et al., 2007).

L'esofago rappresenta il primo tratto del tubo digerente, è di natura muscolare e agisce come una pompa spingendo l'alimento all'interno del corpo. Dal punto di vista morfologico, l'esofago cambia notevolmente da specie a specie e ciò ci permette di identificare parassiti diversi (Figura 2.3). Può essere:

- **Rabbitiforme**, cioè con un ingrossamento prossimale e uno distale, tipico dei nematodi a vita libera e delle forme larvali a vita libera;
- **Filiforme**, cioè semplice e rettilineo, come nei nematodi bursati;
- **A bulbo**, con un ingrossamento posteriore, come negli ascaridi;
- **A doppio bulbo** come negli ossiuridi;
- **Muscolo-ghiandolare**, cioè formato da una parte anteriore di natura muscolare e da una parte posteriore di tipo ghiandolare, come nei filaroidi e negli spiruridi;
- **Tricuroide**, esofago filiforme formato da una singola colonna di cellule come nei trichuridi (URQUHART et al., 2007).

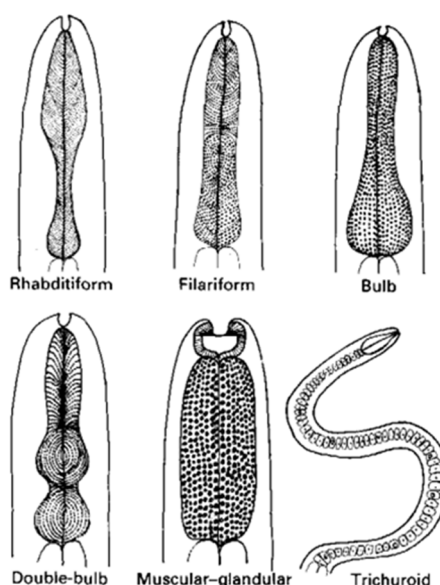


Fig. 2.3: Morfologia dell'esofago nei nematodi (URQUHART et al., 2007).

L'intestino invece è un tubo formato da un singolo strato di cellule che sul versante luminale formano numerosi microvilli per aumentare la superficie di assorbimento; essendo privo di muscolatura non c'è peristalsi, ma la progressione dell'alimento è garantita dalla pressione del liquido che riempie la cavità corporea.

Essendo sprovvisti di un apparato circolatorio, le sostanze assimilate attraverso le cellule intestinali passano direttamente nel liquido pseudocelomatico e grazie a esso vengono distribuite in tutto il corpo.

Il tratto terminale dell'intestino viene definito retto o proctodeo ed è separato dall'intestino vero e proprio (mesenteron) mediante uno sfintere muscolare chiamato piloro; questo normalmente è chiuso per prevenire la perdita del materiale intestinale, ma viene rilasciato per permettere l'espulsione del materiale non digerito.

Infine il tratto alimentare termina con un'apertura denominata ano solo nella femmina; nel maschio invece si parla di cloaca perché il tratto intestinale e quello genitale terminano insieme.

I nematodi sono a sessi separati, caratterizzati da un marcato dimorfismo sessuale. In primis le femmine hanno dimensioni maggiori rispetto ai maschi della stessa specie, inoltre nel maschio la cuticola esterna da origine ad una struttura particolare chiamata bursa copulatoria, che serve per afferrare la femmina durante la copula; questa è presente solo nei nematodi che appartengono all'ordine *Strongylida* e che sono perciò detti "nematodi bursati". La bursa copulatoria origina da un'espansione delle ali caudali ed è costituita da due lobi ventrali e uno dorsale più piccolo sostenuti da organi di sostegno chiamati coste.

Per quanto riguarda l'apparato genitale maschile, questo è costituito da un singolo dotto convoluto con varie regioni strutturalmente e funzionalmente differenziate in testicolo, vescicole seminali e dotto deferente. La parte terminale del dotto deferente è chiamata dotto eiaculatorio e sbocca nella cloaca insieme al tratto alimentare.

Gli organi accessori (Figura 2.4) sono invece gli spicoli e il gubernaculum. Gli spicoli copulatori, usati dal maschio per dilatare la vulva della femmina, sono strutture chitinose che si originano dalla sclerotizzazione di pieghe dorsali della cloaca; spesso sono pari, anche se alcune specie possono esserne prive o averne uno solo. Le loro dimensioni e la forma variano notevolmente da specie a specie, perciò possono rappresentare importanti caratteri identificativi. Inoltre, in molti nematodi, dalla parete dorsale della cloaca origina un'altra struttura chitinosa importante, il gubernaculum, che serve da "guida" per l'inserimento degli spicoli nella vulva; a

seconda della specie possiamo trovare anche un'ulteriore guida chiamata telamon che origina dalla parte ventrale della cloaca (BOWMAN, 2009).

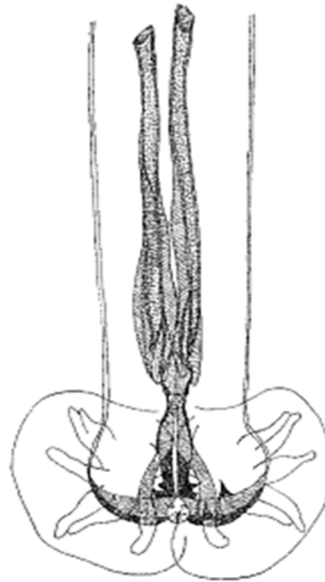


Fig 2.4: Estremità caudale di un maschio. Borsa e spicoli di *Protostrongylus rufescens* (ANDERSON et al., 2009).

Anche l'apparato riproduttore femminile è tubulare, nella maggior parte dei casi è formato da un doppio tubulo, ciascuno dei quali presenta tre regioni funzionalmente distinte in ovaio, ovidutto e utero. Questi due tubuli confluiscono in una vagina comune che si apre nella vulva, situata in posizione ventrale (a livello orale, caudale o mediano) e, in alcune specie, dotata di un'espansione cuticolare chiamata flap.

Durante la copula il maschio avvolge con l'estremità caudale la porzione mediana della femmina realizzando la tipica copula a T e in questa fase, con i due sessi strettamente connessi, lo sperma ameboide viene trasferito dalla cloaca del maschio all'utero della femmina (URQUHART et al., 2007).

I nematodi inoltre sono dotati di un sistema nervoso rudimentale, il cui centro principale è costituito da un anello nervoso periesofageo e dai relativi gangli. Inoltre ci sono quattro cordoni nervosi principali: due laterali con funzione esclusivamente

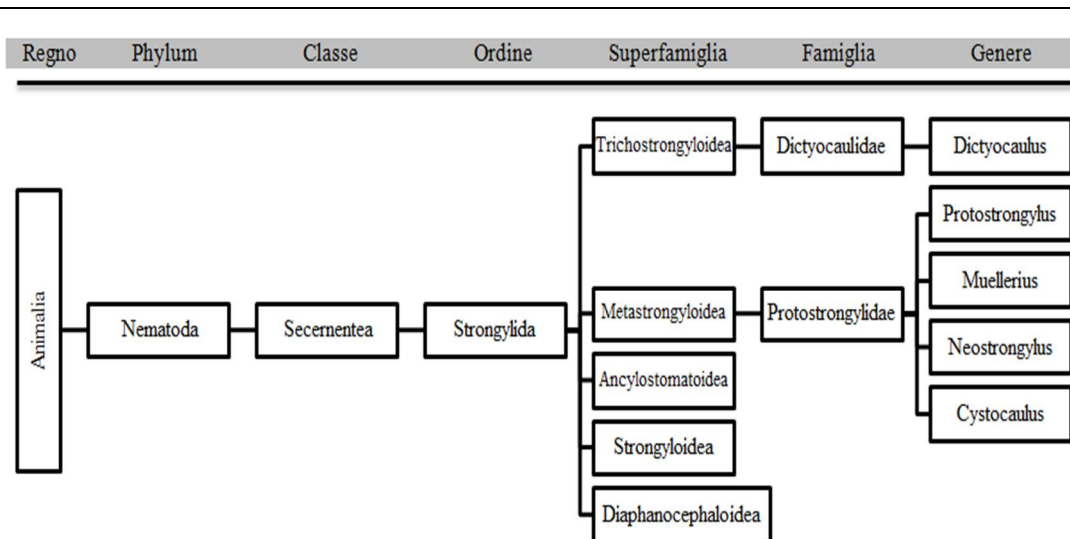
sensitiva e altri due (quello dorsale e quello ventrale) con funzione sia motoria che sensitiva.

Tra i numerosi recettori sensitivi, rivestono particolare importanza i *fasmidi*, strutture ghiandolari con funzione sia secernente sia sensoriale (chemocettori) che si trovano a livello dell'estremità caudale; questi sono particolarmente sviluppati nei nematodi parassiti che invece sono privi degli *anfidi* (chemocettori localizzati all'estremità craniale) che al contrario sono molto sviluppati nei nematodi a vita libera.

2.2 Biologia degli strongili broncopolmonari

2.2.1 Inquadramento tassonomico

Gli strongili broncopolmonari dei ruminanti sono divisibili in: **grossi strongili**, a cui appartengono i parassiti del genere *Dictyocaulus* e **piccoli strongili** che appartengono alla famiglia *Protostrongylidae* e ai generi *Protostrongylus*, *Muellerius*, *Neostrongylus* e *Cystocaulus*.



Tab. 2.1: Inquadramento tassonomico dei principali strongili broncopolmonari dei ruminanti (semplificato), tratto da ANDERSON et al., 2009 e CHILTON et al., 2006.

Il phylum *Nematoda* comprende diversi organismi, inclusi batterivori a vita libera, entomopatogeni e parassiti di piante e animali. Nel corso degli ultimi anni, molti

autori hanno formulato diverse ipotesi per quanto riguarda la sistematica e la relazione filogenetica tra questi nematodi, ipotesi che molto spesso sono discordanti tra loro. La classificazione dei vari gruppi inizialmente era basata sulle caratteristiche morfologiche dei parassiti, ma recentemente studi basati sulla biologia molecolare hanno fornito nuovi dati per valutare la relazione evolutiva tra diversi gruppi di nematodi e l'origine del parassitismo all'interno del phylum.

L'ordine *Strongylida* rappresenta uno dei gruppi principali tra i nematodi parassiti e comprende organismi con una distribuzione mondiale che possono parassitare tutte le classi di vertebrati terrestri e alcuni mammiferi marini. Inoltre è ampiamente accettata la tesi secondo cui l'ordine *Strongylida* si sarebbe evoluto da progenitori a vita libera nel tardo Devoniano, quando apparvero i primi ospiti vertebrati, cioè gli anfibi (CHILTON et al., 2006).

Secondo ANDERSON et al. (2009), l'ordine *Strongylida* comprende cinque superfamiglie ben distinte tra loro:

- ***Trichostrongyloidea***, che comprende parassiti del tratto gastrointestinale di anfibi, rettili, monotremi, marsupiali e mammiferi placentati (con un'unica eccezione rappresentata da *Dictyocaulus* spp. che si localizza nella trachea e nei bronchi degli ungulati);
- ***Metastrongyloidea***, che comprende parassiti dell'apparato respiratorio, vascolare e nervoso dei mammiferi;
- ***Ancylostomatoidea***, che comprende gli anchilostomi del piccolo intestino dei mammiferi;
- ***Strongyloidea***, che comprende parassiti del tratto gastrointestinale e occasionalmente della trachea o dei tessuti perirenali di mammiferi e uccelli;
- ***Diaphanocephaloidea***, che comprende parassiti del tratto intestinale dei serpenti.

DURETTE-DESSET et al. (1993) propongono invece un'altra classificazione tassonomica che prevede la divisione dell'ordine *Strongylida* in sette superfamiglie all'interno di quattro sottordini:

SOTTORDINE: *Ancylostomatina*

- *Ancylostomatoidea*
- *Diaphanocephaloidea*

SOTTORDINE: *Strongylina*

- *Strongyloidea*

SOTTORDINE: *Metastrongylina*

- *Metastrongyloidea*

SOTTORDINE: *Trichostrongylina*

- *Trichostrongyloidea*
- *Molineoidea*
- *Heligmosomoidea*

A parte la dibattuta classificazione dei nematodi di questo ordine, ciò che merita un ulteriore approfondimento è la posizione tassonomica del genere *Dictyocaulus*; la sua collocazione è infatti controversa perché questo parassita presenta caratteristiche morfologiche e biologiche intermedie tra le specie appartenenti al sottordine *Trichostrongylina* e quelle appartenenti al sottordine *Metastrongylina*.

Secondo la classificazione di DURETTE-DESSET et al., (1993), il genere *Dictyocaulus* è compreso nella superfamiglia *Molineoidea* (sottordine: *Trichostrongylina*). Molti tassonomisti sono in accordo con questa classificazione, eccetto DOUGHERTY (1951) che ammette una somiglianza con i trichostrongili, ma ritiene che *Dictyocaulus* sia strettamente correlato con i metastrongiloidi e che rappresenti un “metastrongilide primitivo” che si è separato precocemente durante l’evoluzione degli strongili broncopolmonari. Secondo altri autori invece, questo genere, rappresenterebbe una forma di transizione tra *Trichostrongylina* e *Metastrongylina*.

Ci sono perciò molti riscontri che suggeriscono la separazione dell’ordine *Strongylida* in due principali cladi (gruppo di organismi con un antenato singolo comune), in accordo con il tipo di ospite e la localizzazione degli adulti. Il primo clade comprende i dictiocaulidi degli ungulati e il sottordine *Metastrongylina*, un’insieme di specie che si localizzano a livello respiratorio, vascolare e nervoso di marsupiali e mammiferi placentati.

Il secondo clade invece include i generi riscontrati nella trachea degli uccelli (*Syngamus*), nel tessuto perirenale del suino (*Stephanurus*) e nel tratto gastrointestinale di anfibi, rettili (*Kalicephalus* e *Herpetostrongylus*), uccelli (*Amidostomum* e *Deletocephalus*), monotremi (*Nicollina*), marsupiali (es. *Labiostrongylus*, *Tetrabothriostrongylus* e *Filarinema*) e mammiferi (es. *Cylicocyclus*, *Chabertia*, *Necator* ed *Haemonchus*) (CHILTON et al., 2006).

La superfamiglia *Metastrongyloidea* è costituita da nematodi che presentano come caratteristiche distintive: una borsa copulatoria di dimensioni ridotte, un ciclo biologico generalmente indiretto e la localizzazione elettiva in sedi extra-intestinali, in primis nell'apparato respiratorio.

In questa superfamiglia sono quindi incluse molte specie che provocano patologie a carico di bronchi, bronchioli e polmoni dei loro ospiti.

La superfamiglia *Metastrongyloidea* è divisa in sette famiglie principali:

- Famiglia *Angiostrongylidae*
- Famiglia *Crenosomatidae*
- Famiglia *Filaroididae*
- Famiglia *Metastrongylidae*
- Famiglia *Protostrongylidae*
- Famiglia *Pseudaliidae*
- Famiglia *Skrjabinylidae*

Nonostante la maggior parte dei Metastrongiloidi siano parassiti dell'apparato respiratorio, alcuni di questi si sono evoluti con altre sedi elettive di localizzazione come il sistema nervoso centrale e la muscolatura nei cervidi (*Elaphostrongylinae*; famiglia *Protostrongylidae*), i seni frontali nei mustelidi (famiglia *Skrjabinylidae*) e l'apparato circolatorio (famiglie *Angiostrongylidae* e *Pseudaliidae*) (CARRENO & NADLER, 2003).

I nematodi della famiglia *Protostrongylidae* comprendono principalmente parassiti localizzati nell'apparato respiratorio, molti dei quali sono importanti patogeni nei ruminanti domestici e selvatici (oltre che nei lagomorfi).

Secondo CARRENO & HOBORG (1999) i generi della famiglia *Protostrongylidae* si distinguono dagli altri Metastrongiloidi per la presenza di un gubernaculum e un

telamon ben sviluppati. Inoltre, per tutte quelle specie in cui si conosce il ciclo biologico, l'ospite intermedio è rappresentato da un gasteropode. La differenziazione degli adulti è basata primariamente sulla morfologia degli spicoli, del gubernaculum, del telamon e della vulva, o in generale sulla morfologia della borsa copulatoria (in particolare forma e numero di lobi). Queste caratteristiche vennero usate da Boev nel 1975 per differenziare le varie sottofamiglie secondo lo schema seguente (Tabella 2.2):

SOTTOFAMIGLIA: *Elaphostrongylinae*

GENERI: *Elaphostrongylus*, *Parelaphostrongylus*

SOTTOFAMIGLIA: *Muellerinae*

GENERI: *Muellerius*, *Cystocaulus*, *Umingmakstrongylus*

SOTTOFAMIGLIA: *Neostrongylinae*

GENERI: *Neostrongylus*, *Orthostrongylus*

SOTTOFAMIGLIA: *Protostrongylinae*

GENERI: *Protostrongylus*, *Spiculocaulus*

SOTTOFAMIGLIA: *Skrjabinocaulinae*

GENERI: *Skrjabinocaulus*

SOTTOFAMIGLIA: *Varestrongylinae*

GENERI: *Varestrongylus*, *Pneumostrongylus*, *Pneumocaulus*

Tab. 2.2: Classificazione della famiglia *Protostrongylidae* secondo Boev (CARRENO & HOBERG, 1999)

CARRENO et al. (1999), nella loro analisi, forniscono un'ipotesi sull'evoluzione filogenetica della famiglia *Protostrongylidae*, basandosi su caratteristiche morfologiche, e distinguono, all'interno di questa famiglia, due cladi principali: il primo formato dall'associazione di *Elaphostrongylinae* (*Elaphostrongylus*, *Parelaphostrongylus*) e *Muellerinae* (*Muellerius*, *Cystocaulus*, *Umingmakstrongylus*); il secondo clade invece è formato da diversi generi: *Pneumostrongylus* associato a *Varestrongylus* in un subclade che è basale rispetto a *Pneumocaulus*, *Neostrongylus*, *Spiculocaulus*, *Skrjabinocaulus*, *Orthostrongylus* e *Protostrongylus* (Figura 2.5).

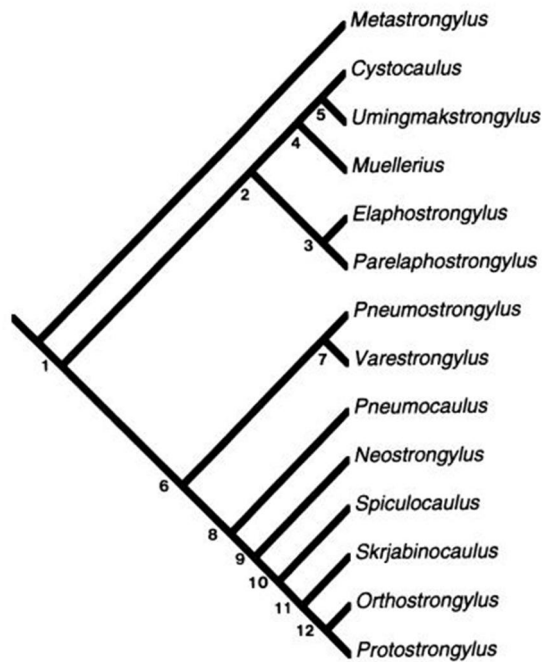


Fig. 2.5: Relazione filogenetica tra i generi della famiglia Protostrongylidae (CARRENO et al., 1999).

Per quanto riguarda i ruminanti, le specie di protostrongilidi più frequentemente isolate sia dai domestici sia dai selvatici sono: *Muellerius capillaris*, *Cystocaulus ocreatus*, *Neostrongylus linearis* e *Protostrongylus rufescens* (meno frequenti sono invece i protostrongilidi appartenenti ai generi *Elaphostrongylus*, *Parelaphostrongylus*, *Umingmakstrongylus*, *Orthostrongylus*, *Spiculocaulus*, *Skrjabinocaulus*, *Varestrongylus*, *Pneumostrongylus*, *Pneumocaulus*). Per quanto riguarda i Dictyocaulidi, i più frequenti sono: *D. viviparus* e *D. filaria* (meno frequenti *D. capreolus* e *D. eckerti*).

2.2.2 Descrizione dei principali strongili broncopolmonari

Come abbiamo già detto, gli strongili broncopolmonari si possono dividere in due grandi categorie, i **grossi strongili** (detti anche Dictyocaulidi per l'appartenenza al genere *Dictyocaulus*) e i **piccoli vermi polmonari** appartenenti a diversi generi tutti facenti parte della famiglia *Protostrongylidae*.

- *Grossi strongili*

Superfamiglia: *Trichostrongyloidea*

Famiglia: *Dictyocaulidae*

Genere: *Dictyocaulus*

Specie di interesse nei ruminanti: *D. viviparus*, *D. filaria* (meno frequenti *D. capreolus* e *D. eckerti*)

I grossi strongili o Dictyocaulidi dei ruminanti sono nematodi bursati filiformi e di colore biancastro, per questo chiamati anche vermi bianchi polmonari. Gli adulti vivono nella trachea e nei medi e grossi bronchi.

Analogamente ad altri nematodi il corpo è rivestito da una cuticola flessibile ma tenace; l'estremità cefalica è snodata con orifizio orale rotondo e provvisto di papille, che immette in una capsula buccale piccola e poco profonda.

Il maschio di *D. filaria* è lungo da 2,5 a 8 cm con diametro di 0,27-0,45 mm, quello di *D. viviparus* invece è più piccolo (1,7-5 cm); entrambi sono forniti di una borsa copulatoria piccola rivolta anteriormente (CASAROSA, 1985). Le coste mediolaterali e posterolaterali che sorreggono la borsa sono fuse assieme (ANDREWS, 1969); il gubernaculum è lungo 60 µm e i robusti spicoli sono di colore rosso-bruno, a forma di stivaletto e lunghi 400-640 µm in *D. filaria* e solo 195-215 µm in *D. viviparus* (SOULSBY, 1968).

La femmina di *D. filaria* è lunga fino a 11 cm (più piccola quella di *D. viviparus*, che raggiunge al massimo 8 cm di lunghezza) e presenta un'estremità distale dritta e affilata, l'orifizio vaginale si trova al centro del corpo e la vulva è priva del flap cuticolare (CASAROSA, 1985; ANDREWS, 1969).

Le uova misurano µm 85-138 x 35-90 (più piccole quelle di *D. viviparus*) e contengono una larva di primo stadio (L1) già completamente formata quando vengono deposte (CASAROSA, 1985).

- *Piccoli vermi polmonari*

Superfamiglia: *Metastrongyloidea*

Famiglia: *Protostrongylidae*

Generi: *Muellerius*, *Protostrongylus*, *Cystocaulus* e *Neostrongylus* (meno frequenti *Elaphostrongylus*, *Parelaphostrongylus*, *Umingmakstrongylus*, *Orthostrongylus*, *Spiculocaulus*, *Skrjabinocaulus*, *Varestrongylus*, *Pneumostrongylus*, *Pneumocaulus*)

Specie principali nei ruminanti: *M. capillaris*, *P. rufescens*, *C. ocreatus*, *N. linearis*

La famiglia *Protostrongylidae* comprende importanti parassiti dei ruminanti che si diagnosticano frequentemente sia nei domestici sia nei selvatici. I parassiti di questo gruppo si distinguono per la presenza di una borsa copulatoria ben sviluppata e per complesse strutture accessorie come il telamon, il gubernaculum e gli spicoli che sono molto evidenti (ANDERSON et al., 2009). Nella femmina la vulva si apre in prossimità dell'ano (BOWMAN, 2009).

Questi nematodi sono chiamati anche “hairworms” perché presentano un corpo filiforme estremamente sottile che ne permette la localizzazione nel tratto respiratorio a livello di bronchi, bronchioli, alveoli e parenchima polmonare.

Muellerius capillaris.

Parassita molto sottile di colore variabile da biancastro a brunastro e dimensioni ridotte; il maschio misura 12-14 mm mentre la femmina, più grande, può raggiungere i 23 mm. L'estremità distale del maschio è avvolta a spirale e a differenza degli altri protostrongilidi possiede una borsa copulatoria atrofica formata da corte papille che circondano l'apertura cloacale. Il gubernaculum è molto ridotto e gli spicoli sono curvati, lunghi 150 µm e con una parte prossimale alata.

Nella femmina la vulva sbocca a ridosso dell'apertura anale e posteriormente la cuticola forma una piccola protuberanza. Le uova misurano µm 100 x 20 e non sono segmentate quando vengono deposte.

Gli adulti vivono negli alveoli e nel parenchima polmonare, in particolare a livello sub-pleurico, dove formano noduli grigiastri di 2 cm di diametro (SOULSBY, 1968).

Protostrongylus rufescens.

Protostrongilide bursato di colore rossastro con corpo sottile; il maschio misura in lunghezza 16-28 mm, la femmina 25-35 mm con diametro di 130-170 µm. Nel maschio la borsa copulatoria è corta e dorso-lateralmente è rafforzata da piastre chitinee situate su entrambi i lati; sono presenti coste di sostegno a livello ventrale, laterale e dorsale ma quella dorsale è molto spessa e presenta sei papille sulla sua

superficie ventrale. Gli spicoli sono due, di uguale lunghezza (260 μm), arcuati e con ampie espansioni membranose; inoltre sono presenti il gubernaculum, lungo 120-170 μm , e un telamon ben sviluppato, con la parte posteriore pigmentata e dotata di due braccia, ognuna provvista di un'estremità dentellata.

La femmina ha un orifizio vaginale sub-terminale in prossimità dell'ano e la coda termina a punta smussata. Le uova misurano μm 75-120 x 57-82 e vengono deposte dalle femmine negli alveoli.

Gli adulti vivono nelle più fini diramazioni bronchiali, dove esercitano un'azione irritativa (SOULSBY, 1968).

Cystocaulus ocreatus.

Si tratta di un parassita molto sottile, di colore nerastro e privo di capsula buccale. Il maschio è lungo 18-45 mm e presenta una borsa copulatoria di dimensioni ridotte; questa è rivolta anteriormente e contiene gubernaculum (120-174 μm) e due spicoli (290-370 μm).

La femmina è lunga 55-95 mm e vive, insieme ai maschi, negli alveoli e nelle più fini diramazioni bronchiali, sia nel lume che in diverticoli e logge parabronchiali (CASAROSA, 1985).

Neostrogylus linearis.

Rappresenta il più piccolo tra i protostrongilidi, il maschio misura solo 5,5-8 mm e la femmina 13-17 mm; il maschio presenta sempre una borsa copulatoria ma, a differenza degli altri piccoli vermi polmonari, possiede due spicoli di diversa lunghezza: uno misura 160-180 μm , l'altro 320-360 μm . Il gubernaculum misura 45-57 μm . Gli adulti si localizzano tipicamente nei bronchioli (CASAROSA, 1985).

2.2.3 Specie ospite

Gli strongili broncopolmonari si sono adattati a moltissime specie animali, ma il sottordine ruminanti è sicuramente la categoria più interessata da queste parassitosi; nonostante questi parassiti colpiscano anche canidi, felini, solipedi, suidi e lagomorfi, in questo capitolo analizzeremo come ospiti definitivi solo i ruminanti.

Dictyocaulidi:

- *D. filaria*: nei domestici è segnalato principalmente in ovini (*Ovis aries*) e caprini (*Capra hircus*) (REGASSA et al., 2010), mentre tra i selvatici è stato segnalato nel muflone (*Ovis musimon*) (MEANA et al., 1996), nello stambecco dei Pirenei (*Capra pyrenaica*) (ALASAAD et al., 2009), nel camoscio (*Rupicapra rupicapra*) (BALBO et al., 1975; POLLEY & HORNING, 1977) ma anche nell'alce (*Alces alces*), nel bisonte americano (*Bison bison*), nel bufalo indiano (*Bubalus bubalis*), nel daino (*Dama dama*), nel cervo nobile (*Cervus elaphus*) e nell'argali (*Ovis ammon*) (GIBSON et al., 2005).
- *D. viviparus*: è la specie che si trova elettivamente nei bovini domestici (*Bos taurus*), ma è stato segnalato anche nel camoscio (STEFANCIKOVA et al., 2010), nell'impala (*Aepyceros melampus*), nell'alce, nel bisonte europeo (*Bison bonasus*), nello zebù (*Bos indicus*), nel bufalo indiano, nel capriolo (*Capreolus capreolus*), nel cefalofo rosso (*Cephalophus natalensis*), nel cervo, nel daino, nel lichi (*Kobus leche*), nel cervo mulo (*Odocoileus hemionus*), nel cervo dalla coda bianca (*Odocoileus virginianus*), nel bue muschiato (*Ovibos moschatus*), nel bighorn (*Ovis canadensis*), nel muflone, nella renna (*Rangifer tarandus*), nella silvicapra (*Sylvicapra grimmia*), nel nyala (*Tragelaphus angasi*) e nel cudù (*Tragelaphus strepsiceros*) (GIBSON et al., 2005).
- *D. eckerti*: secondo alcuni autori comprenderebbe anche *D. noerneri*, vista l'elevata somiglianza tra queste due specie; si tratta comunque di parassiti che si ritrovano preferibilmente in ruminanti selvatici come il cervo (CARRENO et al., 2009), il daino, il capriolo (AMBROSI, 1995), il bue muschiato, l'alce e la renna (HÖGLUND et al., 2003).
- *D. capreolus*: altra specie presente soprattutto nei ruminanti selvatici, è segnalato nel capriolo e nel camoscio (CARRENO et al., 2009), ma anche nell'alce (HÖGLUND et al., 2003).

Protostrongilidi:

Muellerius

- *M. capillaris*: è il più frequente tra i piccoli strongili broncopolmonari, colpisce ovini e caprini domestici (REGASSA et al., 2010) e tra i selvatici è stato isolato in daino, capriolo (AMBROSI, 1995), muflone (AMBROSI, 1995; MEANA et al., 1996; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006), bighorn (DEMARTINI & DAVIES, 1977; PYBUS & SHAVE, 1984), cervo (HOBY et al., 2006b), camoscio (NOCTURE et al., 1998; HOBY et al., 2006b; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006; STEFANCIKOVA et al., 2010), stambecco dei Pirenei (ALASAAD et al., 2009), stambecco delle Alpi (*Capra ibex*) (MARREROS et al., 2012), ma anche nell'alce, nell'egagro (*Capra aegagrus*), nell'argali e nello stambecco della Nubia (*Capra ibex nubiana*) (GIBSON et al., 2005).
- *M. tenuispiculatus*: specie appartenente al genere *Muellerius* riconosciuta di recente e isolata solo nel camoscio (NOCTURE et al., 1998; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006; STEFANCIKOVA et al., 2010).

Protostrongylus

- *P. rufescens*: nei domestici è frequente negli ovini e nei caprini, mentre nel bovino non è mai stato isolato, come tutti gli altri piccoli strongili broncopolmonari. Tra i selvatici è stato isolato nel bighorn (MEANA et al., 1996), nel markhor (*Capra falconeri*), nello stambecco siberiano (*Capra sibirica*), nell'argali, nel muflone (KUCHBOEV et al., 2012), nello stambecco dei Pirenei (ALASAAD et al., 2009), nello stambecco alpino e nel camoscio (BALBO et al., 1975), ma anche nel bufalo e nell'argali (GIBSON et al., 2005).
- *P. hobmaieri*: protostrongilide tipico dei selvatici come stambecco, camoscio (BALBO et al., 1975) e muflone (PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006). Anche se raro nei domestici può comunque infestare ovini e caprini domestici (GIBSON et al., 2005).
- *P. rushi*: isolato solo nei selvatici, in particolare nel bighorn (EZENWA et al., 2010) e nella capra delle nevi (*Oreamnos americanus*) (GIBSON et al., 2005).
- *P. stilesi*: anche questo protostrongilide non è mai stato isolato nei ruminanti domestici ma solo in alcuni selvatici quali bighorn (EZENWA et al.,

2010), capra delle nevi, bue muschiato e nel bighorn bianco (*Ovis dalli*) (GIBSON et al., 2005).

- *P. rupicaprae*: segnalato solo nel camoscio da diversi autori (BALBO et al., 1975; POLLEY & HORNING, 1977; NOCTURE et al., 1998; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006).
- *P. davitani*: raro ma segnalato in ovini e caprini domestici oltre che nell'argali (GIBSON et al., 2005).
- *P. kochi*: anche questo protostrongilide è raro, segnalato solo in ovini domestici, capriolo, cervo e muflone (GIBSON et al., 2005).
- *P. raillieti*: segnalato nella capra, nella pecora, nel camoscio, nello stambecco siberiano e nell'argali, è comunque molto raro (GIBSON et al., 2005).

Cystocaulus

- *C. ocreatus*: protostrongilide abbastanza frequente sia nei domestici (solo ovini e caprini), sia nei selvatici; è stato segnalato nel markhor, nello stambecco siberiano, nell'argali (KUCHBOEV et al., 2012), nello stambecco alpino (MARREROS et al., 2012), nel muflone (MEANA et al., 1996; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006; KUCHBOEV et al., 2012), nello stambecco dei Pirenei (ALASAAD et al., 2009), nel camoscio (HOBY et al., 2006b) e nell'egagro (GIBSON et al., 2005).
- *C. nigrescens*: segnalato solo nella pecora domestica, nel cervo e nel muflone (GIBSON et al., 2005).

Neostromylus

- *N. linearis*: è segnalato in ovini e caprini domestici, mentre tra i selvatici è abbastanza frequente nel camoscio (NOCTURE et al., 1998; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006; STEFANCIKOVA et al., 2010), nello stambecco alpino (MARREROS et al., 2012), nel muflone (MEANA et al., 1996; PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006), ma è segnalato anche nell'argali e nel capriolo (GIBSON et al., 2005).

Umingmakstrongylus

- *U. pallikuukensis*: segnalato nella pecora domestica, nel bue muschiato e nella renna (GIBSON et al., 2005). È molto raro.

Orthostrongylus

- *O. macrotis*: segnalato nell'alce, nel cervo e nel cervo mulo (GIBSON et al., 2005).

Spiculocaulus

- *S. austriacus*: tra i domestici è stato isolato solo nell'ovino, mentre tra i selvatici è segnalato nello stambecco alpino (BALBO et al., 1975), nel camoscio (BALBO et al., 1975; POLLEY & HORNING, 1977), nel markhor, nello stambecco siberiano, nell'argali e nel muflone (KUCHBOEV et al., 2012) e nel capriolo (GIBSON et al., 2005).
- *S. leuckarti*: meno frequente di *S. austriacus*, è però segnalato nella pecora domestica, nello stambecco siberiano, nell'argali e nel bighorn (GIBSON et al., 2005).

Skrjabinocaulus

- *S. sofievi*: isolato solo nel capriolo (GIBSON et al., 2005).

Varestrongylus

- *V. alces*: segnalato solo nell'alce (GIBSON et al., 2005).
- *V. alpenae*: segnalato solo nel cervo mulo (GIBSON et al., 2005).
- *V. capreoli*: molto raro, tra i domestici è stato segnalato sia nella pecora sia nella capra, tra i selvatici nell'alce, nel capriolo, nel cervo, nel camoscio, nell'egagro e nel takin (*Budorcas taxicolor*) (GIBSON et al., 2005).
- *V. sagittatus*: è segnalato nel cervo (PANAYOTOVA-PENCHEVA, 2006), nel daino e nel capriolo (GIBSON et al., 2005).

Pneumostrongylus

- *P. calcaratus*: rarissimo, segnalato solo nell'impala e nello gnu (*Connochaetes taurinus*) (GIBSON et al., 2005).

Pneumocaulus

- *P. kadenazii*: rarissimo e segnalato in una specie in via d'estinzione, il mosco nano (*Moschus berezovskii*) (GIBSON et al., 2005). I Moschidi sono una

famiglia di ruminanti che comprende un solo genere vivente, con quattro specie e rappresentano una versione “più primitiva” dei cervidi.

I generi *Elaphostrongylus* e *Parelaphostrongylus* comprendono parassiti che si sono adattati al sistema nervoso centrale e alla muscolatura dei cervidi, pertanto appartengono alla famiglia *Protostrongylidae*, ma non sono strongili broncopolmonari.

2.2.4 Ciclo biologico

- *Grossi strongili*

Dictyocaulus spp. è un geelminta a ciclo diretto, cioè non necessita di un ospite intermedio per il completamento del ciclo biologico. Gli adulti si localizzano nella trachea e nei grossi bronchi; le femmine sono ovovivipare e dopo l'accoppiamento depongono, nel tratto respiratorio, uova larvate che contengono una larva di primo stadio (L1) già formata, che schiude quasi immediatamente. Le larve già schiuse e le uova, sono portate in faringe con l'espettorato mediante colpi di tosse e in seguito vengono deglutite. Alcune di queste possono già pervenire nell'ambiente esterno attraverso lo scolo nasale, le altre invece attraversano tutto il tratto digerente, dove si aprono le uova non ancora schiuse e pertanto nelle feci degli animali infestati non troviamo uova ma solo L1. Una volta nell'ambiente, queste larve non si alimentano ma sopravvivono grazie a riserve alimentari costituite principalmente da lipidi e visibili come piccole gocce brunastre nelle cellule intestinali, dette granuli alimentari (URQUHART et al., 2007).

Lo sviluppo da larva L1 a larva L3 (infestante) avviene in circa 5-7 giorni in condizioni ottimali di temperatura (20°-25°C) e umidità; a temperature ben inferiori, come 10°-15°C, lo svolgimento delle mute richiede 20 giorni circa, mentre a 5°C lo sviluppo della larva avviene comunque ma richiede più di 30 giorni. Le larve che si formano alle basse temperature sono dotate di particolare resistenza, quindi quelle che si formano in autunno possono sopravvivere anche durante l'inverno mentre quelle che si formano in piena estate resistono un paio di mesi (AMBROSI, 1995).

In media comunque in ambiente secco e caldo sopravvivono solo per qualche settimana mentre in ambiente umido possono sopravvivere per diversi mesi, secondo PUCCINI (1992) addirittura per un anno, mostrando anche una buona resistenza alle basse temperature.

Le L3 sono dotate di una mobilità scarsa che però gli permette di allontanarsi dalla massa fecale e risalire gli steli d'erba alla ricerca di piccole raccolte di acqua pulita, come ad esempio le gocce di rugiada (infatti, queste larve sono fortemente igrofile).

Vista la loro relativa mobilità, la disseminazione può essere favorita da ospiti intermedi facoltativi (come lombrichi, ecc.) nel cui apparato digerente, le larve di *Dictyocaulus* spp. transitano indenni senza compiere mute (PUCCINI, 1992), oppure mediante il fungo *Pilobolus* che cresce spesso sulle masse fecali e accumula larve sulla superficie dello sporangio; quando questo esplode e sparge le spore nell'ambiente, anche le larve vengono distribuite sulla vegetazione circostante (SOULSBY, 1968), anche a distanza di 3 metri (URQUHART et al., 2007).

L'infestazione dell'ospite definitivo avviene attraverso l'ingestione delle L3 mediante l'erba del pascolo; dopo essere state ingerite, entro 3 giorni penetrano nella mucosa intestinale e attraverso i vasi linfatici raggiungono i linfonodi mesenterici dove mutano in L4 (circa 4 giorni post-infestazione). Allo stadio di L4 è possibile differenziare i maschi dalle femmine (SOULSBY, 1968). Attraverso la linfa passano nel dotto toracico, poi nella vena cava e nel cuore e infine raggiungono i capillari polmonari; qui per effrazione penetrano negli alveoli (circa 8 giorni post-infestazione). La muta a L5 avviene negli alveoli dopo pochi giorni e successivamente migrano nei bronchi dove raggiungono lo stadio adulto, (circa 18 giorni post-infestazione). Dopo l'accoppiamento, le prime uova vengono deposte 26 giorni post-infestazione e le L1 compaiono nelle feci dal 32° giorno in avanti.

Il periodo di prepatenza è quindi di 4 settimane circa (CASAROSA, 1985).

- *Piccoli vermi polmonari*

A differenza dei Dictyocaulidi, i piccoli vermi polmonari presentano un ciclo biologico indiretto con un ospite intermedio rappresentato da chiocciole e limacidi (Figura 2.6).

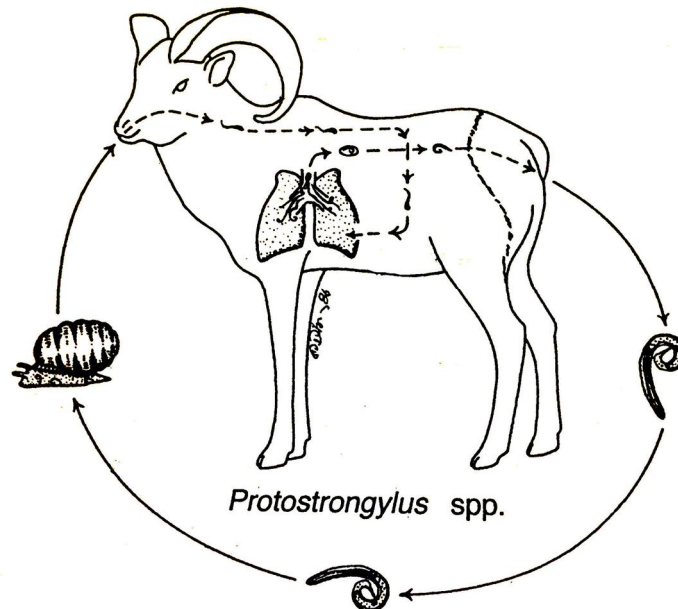


Fig. 2.6: Ciclo biologico dei protostrongilidi. (FOREYT, 2001)

Dopo la copula, le femmine depongono uova non embrionate che sviluppano una larva di primo stadio (L1) già all'interno del polmone dell'ospite; queste larve fuoriescono dall'uovo e giungono nell'apparato digerente attraverso l'espettorazione e la deglutizione del muco, da qui sono poi eliminate mediante le feci. Queste L1 sono molto resistenti sia all'essiccamento che alle basse temperature e rimangono nell'ambiente esterno in attesa di molluschi terricoli coprofili che rappresentano l'ospite intermedio per il proseguimento del ciclo biologico. I protostrongilidi in genere non mostrano una spiccata selettività nella scelta dell'ospite intermedio ed è stato dimostrato sperimentalmente che molte specie di chiocciole e limacidi terrestri possono fungere da ospite intermedio e in alcuni casi sembra che questo ruolo possa essere svolto anche da specie acquatiche (ANDERSON, 2000). Comunque si pensa che per ogni regione, solo un numero limitato di specie possa avere un ruolo

importante come ospite intermedio nella trasmissione della malattia; i generi che sono più frequentemente riportati in letteratura sono *Helix*, *Helicella*, *Theba*, *Abida*, *Zebrina* per le chioccioline e *Limax* e *Agriolimax* per i limacidi (AMBROSI, 1995). Le larve possono sopravvivere nell'ospite intermedio probabilmente per tutta la durata della sua vita e secondo SOULSBY (1968) anche per una settimana dopo la sua morte.

Una volta giunte a contatto con l'ospite intermedio, le larve sono in grado di penetrare attivamente nel piede del gasteropode e in seguito diventano larve infestanti L3 mediante due mute che richiedono un tempo variabile in base alla temperatura, alla specie ospite e alla specie parassita (da 14 giorni a più di tre mesi) (AMBROSI, 1995).

L'ospite definitivo generalmente s'infesta ingerendo accidentalmente il gasteropode con il pascolamento, ma molti autori sostengono che ci sia la possibilità che la larva fuoriesca dal gasteropode e sopravviva per un certo periodo di tempo sulla vegetazione, con la quale poi viene ingerita dal ruminante (ANDERSON, 2000). In entrambi i casi, la larva viene ingerita ed invade la parete del piccolo intestino e del colon per raggiungere i linfonodi mesenterici (18-72h post infestazione) dove avviene la terza muta. Successivamente raggiunge il polmone mediante la linfa che dal dotto toracico si immette nel circolo sanguigno; a livello dei capillari polmonari, la larva penetra negli alveoli e si porta nell'interstizio dove avviene la muta finale con cui si forma il parassita adulto (circa 20-40 giorni post infestazione PUCCHINI 1992) che poi migrerà nella sua sede definitiva: bronchioli e alveoli per *Muellerius*, piccoli bronchi per *Protostrongylus*, parenchima e noduli subpleurici per *Cystocaulus* e *Neostrongylus* (URQUHART et al., 2007).

PUCCHINI (1992) sostiene anche che le larve di *C. ocreatus* siano in grado di raggiungere il polmone attraversando le pareti del cieco e del colon e migrando attivamente attraverso le cavità splanchniche, con azione traumatica sui tessuti attraversati.

Il periodo di prepatenza è di 6-10 settimane circa per *Muellerius* (TAYLOR et al., 2007), 5-6 settimane circa per *Protostrongylus* e *Cystocaulus* (TAYLOR et al., 2007), 8-12 settimane per *Neostrongylus* (ANDERSON, 2000).

2.3 Epidemiologia

Ad oggi, gli studi condotti sugli strongili broncopolmonari sono stati riferiti principalmente ai ruminanti domestici (in particolare ai bovini per *Dictyocaulus* e ad ovini e caprini per i piccoli vermi polmonari). Sui selvatici, e in particolar modo sullo stambecco, mancano dati e gli unici studi epidemiologici presenti riguardano la prevalenza e l'entità di emissione di questi parassiti (ALASAAD et al., 2009; MARREROS et al., 2012).

Per quanto riguarda l'epidemiologia dobbiamo perciò riferirci necessariamente ai ruminanti domestici, ma valutando in maniera critica le differenti condizioni di habitat e di densità di popolazione.

Per quanto riguarda *Dictyocaulus viviparus*, le infestazioni più gravi si riscontrano nei vitelli alla prima stagione di pascolo, mentre i bovini adulti sviluppano una discreta immunità che li protegge da infestazioni massive. Nonostante l'infezione sia cosmopolita, questo parassita è diffuso soprattutto nei paesi dell'Europa settentrionale, dove le condizioni climatiche sono caratterizzate da un'umidità elevata e una bassa temperatura che favoriscono la sopravvivenza delle larve nell'ambiente; in Italia questa parassitosi è meno diffusa, probabilmente a causa della minore piovosità, soprattutto in estate, e della minore disponibilità di pascoli. Unica eccezione è rappresentata dai soggetti al pascolo nelle regioni alpine o appenniniche, dove le condizioni climatiche sono più adeguate alla sopravvivenza del parassita.

Alle nostre latitudini, la malattia ha un andamento stagionale con maggiore incidenza in primavera e agli inizi dell'autunno, tuttavia molti fattori possono influenzare l'andamento dell'infestazione (BALBO <http://www1.inea.it/arssa/balbo.html>):

- il periodo di patenza (periodo durante il quale il parassita emette le uova) che nei soggetti giovani è più lungo che negli adulti;
- un abbassamento delle difese immunitarie che può essere dovuto alla gestazione, al parto, alla lattazione o ad una alimentazione carente;
- un'eccessiva densità di animali sul pascolo, soprattutto in promiscuità con vitelli, che può provocare una super infestazione dei pascoli stessi;

- la stanzialità del pascolo;
- il tipo di vegetazione, perché erbe alte ed abbondanti trattengono l'umidità e creano l'ambiente favorevole allo sviluppo delle larve;
- la specie delle erbe, perché la diversa disposizione delle foglie favorisce o meno la risalita delle larve verso la parte apicale e quindi l'infestazione dell'ospite definitivo;
- l'uso dei pascoli del sottobosco caratterizzati da maggiore umidità.

Il mantenimento dell'infestazione durante l'inverno avviene mediante due meccanismi: in primis è possibile che le L3 presenti sul pascolo sopravvivano all'inverno, soprattutto in climi temperati dove gli inverni non sono particolarmente rigidi. Questo sarebbe supportato anche dalla tesi secondo cui le larve che si sviluppano in autunno, cioè quando le temperature sono più basse, sono dotate di una maggiore resistenza (AMBROSI, 1995). È stato anche ipotizzato che queste possano superare l'inverno affondandosi nel terreno per poi riemergere in primavera grazie all'azione di lombrichi e artropodi coprofagi (URQUHART et al., 2007).

Secondariamente, non bisogna dimenticare che nella popolazione ospite ci sono soggetti portatori di elminti adulti che possono rapidamente contaminare i pascoli in primavera; ciò però non spiega completamente perché sia possibile passare da una "copronegatività invernale" a valori di l.p.g. (larve per grammo) rilevanti già a fine marzo, visto che il periodo di prepatenza per *Dictyocaulus* è di almeno 4 settimane. Tale fenomeno può essere però spiegato dalla presenza di portatori invernali di larve ipobiotiche, che sono in grado di arrestare il proprio sviluppo allo stadio di L4 o L5 in sede tissutale; in primavera queste completano lo sviluppo endogeno divenendo adulti in pochi giorni e producendo quindi una progenie, molto prima del completamento dei cicli esogeni primaverili.

Gli stimoli che portano all'arresto e poi alla ripresa dello sviluppo larvale, non sono ancora stati completamente chiariti, ma sembra che tali stimoli siano di natura ambientale e agiscano sulle larve infestanti prima che queste penetrino nell'ospite definitivo. Si tratterebbe quindi di un meccanismo difensivo, trasmesso geneticamente, e messo in atto dal parassita per evitare di sottoporre la progenie a condizioni climatico-ambientali sfavorevoli (URQUHART et al., 2007).

Per quanto riguarda *Dictyocaulus filaria*, anch'esso ha una distribuzione cosmopolita, ma le forme cliniche si osservano più frequentemente nelle aree temperate come in Europa e in Nord America. L'epidemiologia è molto simile a quella di *D. viviparus* ma in questo caso sono gli ovini e i caprini domestici, le specie più frequentemente infestate.

A differenza di *D. viviparus*, secondo BALBO (<http://www1.inea.it/arssa/balbo.html>), nelle infestazioni da *D. filaria* sono gli adulti ad essere maggiormente infestati; secondo altri autori, come AMBROSI (1995) e CASAROSA (1985), la prevalenza è invece più accentuata nei giovani.

Il grado d'infestazione dipende, anche in questo caso, dalle condizioni ambientali, con le maggiori prevalenze in tarda primavera e, se la siccità estiva non è troppo accentuata, in autunno.

Per *D. filaria* è stata ipotizzata anche la possibilità di trasmissione per via transplacentare dalla madre al feto (CASAROSA, 1985).

Le capre sembrano essere più suscettibili rispetto alle pecore e hanno un ruolo preponderante nella contaminazione del pascolo, quando le due specie si trovano assieme (URQUHART et al., 2007).

Infine, come per *D. viviparus*, anche per *D. filaria*, un elevato carico di bestiame aumenta la contaminazione del pascolo stesso aumentando quindi il rischio di infestazione (AMBROSI, 1995).

Anche per i piccoli strongili polmonari, la maggior parte degli studi condotti si riferiscono ai piccoli ruminanti domestici come specie ospite definitive. Come propongono diversi autori (REGASSA et al., 2010), negli ovi-caprini l'infestazione da parte dei piccoli vermi polmonari (soprattutto *Muellerius*) risulta più rilevante rispetto all'infestazione da parte di *D. filaria*, probabilmente in funzione del suo ciclo biologico diretto e della conseguente maggiore sensibilità delle larve alle condizioni climatiche avverse.

Tra le quattro specie principali (*M. capillaris*, *P. rufescens*, *C. ocreatus* e *N. linearis*), sembra che i più diffusi negli ovi-caprini siano *Muellerius* e *Cystocaulus*, meno frequenti *Protostrongylus* e *Neostrongylus*, identificati con elevate percentuali solo in alcune aree (AMBROSI, 1995). Questo può essere spiegato considerando la diversa selettività nell'uso dell'ospite intermedio; *Protostrongylus* e *Neostrongylus*,

infatti, sono più selettivi ed hanno un ristretto numero di specie che possono agire da ospite intermedio mentre *Muellerius* può utilizzare moltissime specie di gasteropodi. È importante segnalare che nella maggior parte dei casi si tratta di infestazioni multiple, caratterizzate dalla presenza contemporanea di più generi e specie parassitari.

Negli adulti la prevalenza è maggiore rispetto agli animali giovani e sembra che ci sia un accumulo progressivo di parassiti con l'aumentare dell'età; si tratta quindi una sorta di "effetto cumulativo" probabilmente legato allo scarso potere immunogeno dei protostrongilidi, caratterizzati dall'incapacità di stimolare una valida risposta immunitaria protettiva (AMBROSI, 1995; REGASSA et al., 2010).

Per quanto riguarda *Muellerius*, REGASSA et al. (2010), riportano che le pecore presentano una prevalenza maggiore rispetto alle capre, forse a causa del diverso modo di alimentarsi; le capre sono considerate animali con comportamento alimentare intermedio tra i ruminanti pascolatori (bovini ed ovini) e i ruminanti brucatori (capriolo, cervo), mentre le pecore pascolano più vicino al terreno e questo aumenta il rischio di ingestione dell'ospite intermedio.

Avendo un ciclo biologico indiretto, tutta la biologia e l'epidemiologia di questi parassiti è legata indissolubilmente a quella dei loro ospiti intermedi. I molluschi sono organismi in grado di resistere bene sia al clima estivo (è sufficiente l'umidità notturna o qualche breve pioggia) che a quello invernale che ne blocca la vitalità senza eliminarli. All'interno dell'ospite intermedio le larve possono quindi mantenersi vitali per oltre un anno, o anche due se il mollusco si infesta in fase giovanile e questo giustifica la presenza di questa malattia parassitaria in qualsiasi clima e su qualsiasi tipo di terreno.

Nel nostro paese il comportamento dei molluschi fa sì che la massima capacità infestante dei pascoli sia raggiunta tra marzo e luglio dopo la stasi invernale e tra fine agosto e ottobre dopo la stasi estiva.

Per quanto riguarda la densità di animali al pascolo, come per la Dictyocaulosi, un elevato numero di capi positivi aumenta il rischio di infestazione; elevate positività si hanno quindi nei greggi numerosi che dispongono di ampie superfici pascolative (AMBROSI, 1995).

Riassumendo possiamo quindi dire che l'endemicità di questi parassiti dipende da molti fattori: dalla notevole resistenza delle larve L1 nell'ambiente che permette loro di sopravvivere per mesi, dalla persistenza delle L3 all'interno dell'ospite intermedio per tutta la sua vita, dalla notevole durata del periodo di patenza e infine dall'incapacità dell'ospite definitivo di sviluppare un'immunità acquisita (TAYLOR et al., 2007).

2.4 Sintomatologia e Lesioni Anatomico-Patologiche

Essendo molto scarsi i dati sulla fisiopatologia delle elmintiasi broncopulmonari nei selvatici, necessariamente ci si deve basare su quanto si conosce dei ruminanti domestici, confidando sulla vicinanza tassonomica sia dei parassiti che degli ospiti.

La gravità dei segni clinici dipende dalla carica infestante, dal soggetto colpito e dalla specie parassita coinvolta. Nella maggior parte dei casi la malattia si presenta in forma lieve con tosse intermittente, soprattutto sotto sforzo. Nei casi più gravi la tosse può diventare frequente, anche a riposo, associata a tachipnea e respiro superficiale e interciso. All'auscultazione del polmone si possono percepire crepitii e rantoli localizzati ai lobi posteriori. Negli animali che presentano infestazioni massive la tachipnea si associa a dispnea e a manifestazioni di "fame d'aria" caratterizzate da arti divaricati, collo e testa estesi, lingua procidente e dilatazione delle narici, fino ad arrivare a crisi di soffocamento con tosse spasmodica e continua (soprattutto nelle infestazioni da *Dictyocaulus* spp.).

L'espettorato è scarso perché viene, per la maggior parte, deglutito, ma si può riscontrare anche uno scolo nasale bilaterale di catarro vitreo.

Nelle infestazioni gravi la prima fase di migrazione larvale può essere caratterizzata dalla presenza di diarrea, talvolta dovuta anche alla contemporanea infestazione da parte di nematodi gastrointestinali. I sintomi a carico dell'apparato respiratorio in media compaiono 10-15 giorni dopo l'infestazione. Col passare del tempo, quando la malattia diventa cronica, si possono rilevare anche anemizzazione, deperimento e inappetenza.

Difficilmente l'infestazione porta a morte l'animale, salvo che non subentrino infezioni batteriche secondarie a livello polmonare, in genere sostenute da pasteurelle, streptococchi e germi piogeni che aggravano la malattia.

I parassiti adulti possono sopravvivere nell'apparato respiratorio per un tempo che varia da alcuni mesi a due anni, ma sono possibili reinfestazioni continue (PUCCINI, 1992).

Nei piccoli ruminanti, le infestazioni sostenute dai protostrongilidi, sono più frequenti ma generalmente provocano segni clinici meno rilevanti; infestazioni massive possono comunque causare una sintomatologia evidente, soprattutto nella capra che secondo alcuni autori, sarebbe più suscettibile della pecora (MALONE, 2008).

Le lesioni anatomo-patologiche riscontrabili a livello dell'apparato respiratorio sono variabili e dipendono dalla fase del ciclo, dalla specie parassitaria e dell'ospite considerato.

Nella maggior parte dei casi queste lesioni si localizzano a livello dei lobi caudali del polmone.

Se consideriamo la fase endogena del ciclo biologico del parassita, possiamo riconoscere quattro fasi principali:

- Fase di penetrazione: quando le larve sono in migrazione e non hanno ancora raggiunto i polmoni.
- Fase pre-patente: quando le larve raggiungono gli alveoli e vi penetrano con un'azione traumatica che (in caso di infestazione massiva) può portare allo sviluppo di una bronchiolo-alveolite eosinoflica, con occlusione dei bronchioli da parte dell'essudato e conseguente micro-atelettasia alveolare. Gradualmente si assiste ad un accumulo interstiziale di macrofagi ed eosinofili nel connettivo subpleurico, interlobulare e perivascolare. Macroscopicamente questi focolai appaiono come aree rossastre, leggermente depresse, di dimensioni lobulari o sub-lobulari.
- Fase patente: quando le larve divengono parassiti adulti e si localizzano nella loro sede definitiva. *Dictyocaulus* spp. si localizza nella trachea e nei grossi bronchi e provoca quindi una severa tracheobronchite con abbondante essudato catarrale

denso e schiumoso che, insieme ai parassiti, può ostruire le vie aeree causando gravi sintomi respiratori. Istologicamente l'epitelio bronchiale è iperplastico con infiltrazione di eosinofili e accumulo di cellule mucipare; anche il connettivo e lo strato muscolare risultano ispessiti. Contemporaneamente, a causa dell'aspirazione di uova e larve negli alveoli, si sviluppa una polmonite parassitaria che macroscopicamente si presenta con aree consolidate di colore rosso-vinoso o grigiastro, leggermente depresse rispetto alla superficie e circondate da enfisema. Anche l'epitelio bronco-alveolare mostra segni di iperplasia con infiltrazione di neutrofilo, eosinofili, macrofagi e cellule giganti multinucleate sia negli alveoli atelettasici che in sede interstiziale.

I protostrongilidi invece si localizzano nei piccoli bronchi (*Protostrongylus* spp.) o nei bronchioli (*Muellerius* spp., *Cystocaulus* spp., *Neostrongylus* spp.) e formano i **nidi d'incubazione**, focali parenchimali grigio-biancastri costituiti da alveoli e infundiboli ripieni di uova e larve, le quali portano allo sviluppo di una polmonite interstiziale cronica con infiltrazioni cellulari peribronchiali e interstiziali. Anche le pleure possono essere coinvolte da una pleurite fibrinosa (SOULSBY, 1968).

Contemporanei quadri reattivi si rilevano a carico dei linfonodi bronchiali e mediastinici.

- Fase post-patente: che corrisponde alla guarigione. In realtà anche se i parassiti adulti vengono eliminati la sintomatologia può persistere a lungo a causa dell'infiammazione ancora presente; spesso ci sono fenomeni di fibrosi bronchiali e peri-bronchiali irreversibili. Possibili complicazioni sono infezioni batteriche secondarie, soprattutto in animali stabulati, o comparsa improvvisa di una sindrome dispnoica acuta e fatale (simile all'Acute Respiratory Distress Syndrome) a eziopatogenesi non chiarita; si tratta di una pneumopatia dorso-caudale abbastanza estesa, caratterizzata da iperplasia dei pneumociti di tipo II, presenza di membrane ialine all'interno degli alveoli, enfisema ed edema interstiziale accompagnati da insufficienza cardiaca acuta (MARCATO, 1988).

Le lesioni macro e microscopiche del polmone possono variare anche in funzione della specie parassita e dell'ospite definitivo, soprattutto per quanto riguarda i protostrongilidi.

Ad esempio, le lesioni provocate da *M. capillaris* sono nodulari, solide e di colore grigiastro nella capra, ma nella pecora sono più severe indipendentemente dall'età e rappresentate da aree grigio-nerastre e solide che interessano ampie parti della superficie polmonare (PANAYOTOVA-PENCHEVA & ALEXANDROV, 2010).

Le lesioni causate da *N. linearis* sono invece di tipo nodulare anche nella pecora.

In diverse specie di ruminanti, nelle infestazioni da *Protostrongylus* spp. invece, le lesioni consistono in ampie aree congeste, di colore rosso-scuro o grigiastro, che si estendono lungo il decorso dei grossi bronchi; all'apertura di questi si possono ritrovare parassiti adulti (PANAYOTOVA-PENCHEVA & ALEXANDROV, 2010) (Figura 2.7).

Nel caso di *C. ocreatus* compaiono noduli simili a pallini di piombo disseminati sotto la pleura viscerale e leggermente rilevati rispetto al tessuto circostante; la consistenza è soffice e contengono materiale caseoso che osservato al microscopio contiene forme larvali del parassita (PUCCINI, 1992).

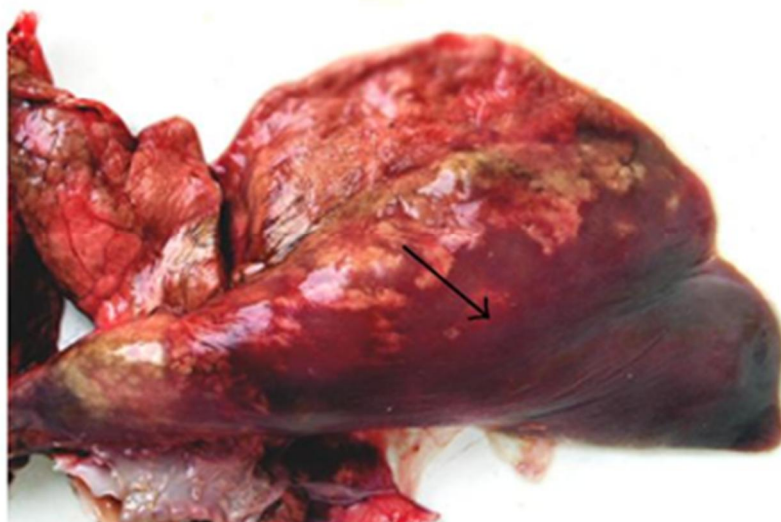


Fig. 2.7: Polmone di capra con lesione da *P. rufescens*, area congesta rosso-scuro/grigiastra (PANAYOTOVA-PENCHEVA & ALEXANDROV, 2010).

Nell'ospite intermedio le larve (L1, L2 o L3) si localizzano sia nella muscolatura del piede sia nel tratto digestivo. Macroscopicamente queste sono visibili come punti scuri, neri o brunastri, del diametro di 2-3 mm (KUCHBOEV et al., 2012) (Figura 2.8).



Fig. 2.8: Larve di protostrongilidi visibili nel piede del mollusco infetto. (KUCHBOEV et al., 2012)

Istologicamente questi mostrano una larva all'interno di uno spazio riempito di fluido, circondato da una capsula ben definita e costituita da tessuto necrotico e connettivale. Alla periferia di questa capsula si osserva spesso un processo infiammatorio caratterizzato dall'infiltrazione di linfociti e macrofagi. In prossimità della larva, l'epitelio di superficie del mollusco può essere alterato.

Nel lume del tubo digerente si possono osservare residui di larve morte e degenerate, insieme ad aggregati di cellule mononucleate.

Nella muscolatura del piede le larve si possono localizzare:

- subito al di sotto della membrana basale dell'epitelio; qui di solito assumono una forma ellissoidale e deformano la superficie epiteliale del mollusco perché sono molto superficiali.
- in alternativa si possono collocare nel tessuto connettivo.
- infine si possono ritrovare in profondità tra le cellule muscolari; in questi casi le larve si dispongono a spirale.

Questa variabilità forse corrisponde ad uno specifico pattern di localizzazione a seconda della specie di protostrongilide coinvolta, o in alternativa, a seconda dello stadio di sviluppo larvale (KUCHBOEV & HOBERG, 2011).

Le azioni patogene degli strongili broncopolmonari sono spesso diverse nei vari ospiti, in relazione alla carica parassitaria, al genere e alla specie parassitante, ma possiamo riassumerle nelle seguenti:

- azione traumatica dovuta principalmente alle forme larvali in migrazione a livello alveolare;
- azione veicolatrice di numerosi agenti patogeni trasportati dalle larve che trovano, nelle lesioni traumatiche, condizioni ottimali per moltiplicarsi, aggravando così il processo patologico in atto;
- iponutrizione e diminuzione del tasso di crescita nei soggetti lattanti o appena svezzati;
- dimagrimento e ipovitalità degli adulti;
- evidente influenza negativa sul comportamento dei riproduttori;
- diminuzione del numero di gravidanze
- diminuzione della resistenza organica alle deficienze alimentari nei periodi di carenza dei pascoli, condizione di notevole importanza per un animale come lo stambecco.

2.5 Diagnosi

I dati epidemiologici e i rilievi clinici ci permettono di sospettare la presenza della malattia; l'assenza di febbre inoltre differenzia la broncopolmonite verminosa dalle polmoniti batteriche, anche se a volte queste possono essere presenti contemporaneamente (PUCCINI, 1992).

Per avere conferma è comunque necessario un esame coprologico volto ad evidenziare la presenza di L1 nelle feci. I risultati più attendibili si ottengono con il metodo di Baermann che sfrutta la tendenza delle larve ad abbandonare le feci quando le stesse vengono immerse nell'acqua. Una volta isolate è possibile identificarle: abbastanza semplice è la distinzione tra larve dei piccoli vermi polmonari (più piccole e chiare) e larve di *Dictyocaulus*; più complessa ma comunque possibile, è invece la differenziazione dei vari generi di protostrongilidi in base alla morfologia dell'estremità caudale.

L'individuazione delle larve è possibile anche mediante flottazione con zinco solfato (p.s.1200 o p.s.1350), soluzione Tampieri zinco solfato ed iodomercurato di potassio (p.s.1450) (GENCHI et al., 2010).

In letteratura sono pochissimi i dati relativi alle metodiche copro-quantitative per questi parassiti, che sono importanti per valutare, almeno in modo approssimativo, l'intensità dell'infestazione nel soggetto. Alcuni autori segnalano la possibilità di contare le larve (partendo da una quantità nota di feci) mediante camera di McMaster però non indicano il peso specifico della soluzione utilizzata. Questa metodica inoltre presenta un problema di ordine pratico perché permette di contare le larve ma non consente di osservarle ad alto ingrandimento (ingrandimento massimo 10x), rendendo così impossibile l'identificazione diretta di queste.

Una tecnica introdotta di recente per la diagnosi quantitativa di diverse parassitosi (tra cui le strongilosi broncopolmonari) è la tecnica FLOTAC; questa metodica, basata sulla flottazione in centrifuga e successiva traslazione della porzione apicale della sospensione, permette la conta diretta e l'identificazione delle larve presenti in 1 grammo di feci, essendo possibile raggiungere un ingrandimento di 100x (CRINGOLI et al., 2010). La comparazione con le metodiche quantitative "classiche", come Baermann e McMaster, sembrerebbe dimostrare una maggiore sensibilità della tecnica FLOTAC (RINALDI et al., 2010), anche se gli studi condotti fino ad oggi sono scarsi.

È importante sottolineare che l'esame coprologico andrebbe eseguito entro breve tempo dalla raccolta dei campioni per evitare l'embrionatura e la schiusa di uova di tricostrongilidi gastrointestinali, eventualmente presenti, che renderebbe più laboriosa l'identificazione delle larve (CASAROSA, 1985).

L'esame microscopico del muco nasale può evidenziare la presenza sia di larve che di uova embrionate di strongili broncopolmonari, ma generalmente questo esame non viene eseguito perché la loro assenza non consente di escludere la malattia.

PUCCINI (1992) riporta anche che "prove sierologiche e allergiche si sono rivelate poco specifiche e di scarso valore pratico".

La diagnosi anatomico-patologica si consegue mediante l'osservazione dei polmoni, per rilevare la presenza di lesioni caratteristiche e mediante l'apertura della trachea e

dei bronchi per ricercare i parassiti; le ridotte dimensioni dei protostrongilidi richiedono però particolare attenzione nella ricerca.

2.6 Terapia e Profilassi

Gli antielmintici utilizzati per via orale o sottocutanea come i derivati dell'imidazolo (Albendazolo, Febantel, Fenbendazolo, Levamisolo, Mebendazolo, Oxfendazolo, Tetramisiolo) e le avermectine/milbemicine, comunemente usati per le strongilosi gastrointestinali dei ruminanti, sono efficaci anche nei confronti di *Dictyocaulus*.

I piccoli vermi polmonari invece sono sensibili solo a pochi principi attivi; Fenbendazolo, Levamisolo, Mebendazolo e Ivermectina hanno un'attività terapeutica solo parziale.

KASSAI et al., (1988) riportano che il Luxabendazolo è efficace al 100% nei confronti di *Dictyocaulus filaria* e riduce del 97.8%-99.6% l'eliminazione di larve di protostrongilidi (*P. rufescens*, *N. linearis*, *C. ocreatus*, *M. capillaris*).

JONES et al., (1997) invece confermano l'efficacia del Fenbendazolo per il controllo a lungo termine delle infestazioni da *Protostrongylus*.

REHBEIN et al., (2002) hanno dimostrato che l'Ivermectina è efficace al 100% nei confronti di *D. filaria* e *P. rufescens*, ma è parzialmente attiva anche nei confronti di *C. ocreatus*, *N. linearis* e *M. capillaris*.

Secondo PUCCINI (1992) anche l'Albendazolo e l'Oxfendazolo mostrano una certa efficacia nei confronti di *M. capillaris*.

Per ridurre il rischio di farmacoresistenza è opportuno ridurre al minimo il numero di trattamenti l'anno e alternare antielmintici di famiglie diverse.

Per quanto riguarda la profilassi si possono fare, oltre ai trattamenti tattici¹, anche interventi strategici, cioè eseguiti in particolari circostanze come alla fine della stagione di pascolo o prima dell'immissione degli animali su di esso.

¹ Si definisce "trattamento tattico" quello che viene eseguito su animali che manifestano i segni clinici della malattia o per i quali è stata dimostrata una positività coprologica.

Per *Dictyocaulus* esistono strategie aggiuntive come la rotazione dei pascoli e la loro disinfestazione o l'utilizzo della vaccinazione (solo per il bovino) che però non è disponibile in Italia.

A causa della diffusione ubiquitaria dei molluschi e della prolungata sopravvivenza delle L3 in essi, la profilassi ambientale non è praticabile per i protostrongilidi.

3. Relazione ospite-parassita

Il termine *parassitismo* indica una relazione complessa tra due specie differenti, l'ospite e il parassita, basata sul concetto che uno dei due (il parassita) trae benefici, mentre l'altro (l'ospite) subisce danni.

Una definizione più puntuale di parassitismo è stata data da CROFTON (1971) ed è basata su quattro punti fondamentali:

- a) il parassita è fisiologicamente dipendente dall'ospite;
- b) l'infezione tende a produrre una distribuzione aggregata dei parassiti all'interno della popolazione ospite;
- c) il parassita uccide gli ospiti che sono infestati in maniera massiva (ciò differenzia il parassitismo dal commensalismo²);
- d) la specie parassita ha un potenziale riproduttivo più elevato della specie ospite (ciò differenzia il parassitismo dal predatorismo³).

Il tipo di interazione ospite-parassita dipende in primis da come quest'ultimo viene classificato. Dal punto di vista ecologico si riconoscono microparassiti e macroparassiti.

I microparassiti, come ad esempio virus, batteri o protozoi, sono caratterizzati da dimensioni ridotte ed elevata velocità di riproduzione; inoltre causano un'infezione di breve durata se confrontata con l'aspettativa di vita dell'ospite.

I macroparassiti, come elminti e artropodi, sono invece di dimensioni relativamente grandi rispetto ai precedenti ed hanno un tempo riproduttivo abbastanza lungo, caratterizzato spesso dall'utilizzo di più ospiti (SMITH & SMITH, 2007); essi inoltre producono un'infezione che può durare anche per tutta la vita dell'ospite.

Essendo i macroparassiti oggetto del nostro studio, è importante capire come descriverne lo "stato di popolazione".

² Commensalismo: interazione tra due specie che prevede un vantaggio per una delle due senza che vi sia danno per l'altra.

³ Predatorismo: interazione antagonista tra due specie in cui una (predatore) usa come fonte alimentare l'altra (preda). In genere i predatori hanno un potenziale riproduttivo inferiore a quello delle prede e sono in numero inferiore, mentre, al contrario, i parassiti hanno un alto potenziale riproduttivo e sono più numerosi degli ospiti.

Il termine *popolazione* indica un insieme di individui della stessa specie che vivono nella stessa area e che interagiscono tra loro in modo da formare una componente sostanziale dell'ecosistema. L'applicazione del concetto di popolazione ad un gruppo di parassiti risulta però difficile visto che il loro habitat non è spazialmente continuo ma costituito da ambienti in cui possono conservarsi (gli ospiti), immersi in un territorio inadatto alla sopravvivenza; il tutto si complica se aggiungiamo anche la variabilità dei cicli biologici che spesso presentano fasi a vita libera e più di un ospite. Per questi motivi l'ecologia ha sviluppato un approccio terminologico gerarchico per descrivere una "popolazione" di parassiti:

- **Infrapopolazione:** tutti i parassiti di una stessa specie presenti in un singolo ospite;
- **Metapopolazione:** tutti i parassiti di una stessa specie presenti in tutti gli individui di una data popolazione ospite, che si trovano in un certo ecosistema;
- **Sovrapopolazione:** tutti i parassiti di una stessa specie, in tutti i loro stadi di sviluppo, presenti in tutte le specie ospiti di un ecosistema.

3.1 Distribuzione dei parassiti

Per capire come agiscono i parassiti sulla loro popolazione ospite, è importante conoscerne la distribuzione nei diversi individui che la compongono.

Basandosi sul numero di parassiti per ospite, le popolazioni animali possono seguire tre distribuzioni:

- Random (casuale) se seguono una distribuzione di Poisson;
- Uniforme (sottodispersione) se seguono una distribuzione di tipo normale (Gaussiana);
- Aggregata (sopradispersione) se seguono una distribuzione binomiale negativa.

I parassiti nella maggior parte dei casi presentano una distribuzione aggregata, ciò significa che solo pochi individui mostrano delle infestazioni massive, mentre il resto

della popolazione presenta un'infestazione lieve o assente. In altre parole i parassiti non hanno una distribuzione uniforme nella popolazione ospite ma in essa ci saranno individui particolarmente parassitati.

Per poter osservare questa distribuzione aggregata è fondamentale la dimensione del campione: i livelli di aggregazione sono infatti sottostimati se abbiamo un numero limitato di campionamenti. Questo deriva dal fatto che gli ospiti fortemente parassitati sono pochi, quindi avremo minor probabilità di indagarli se facciamo solo pochi campionamenti.

Spesso i dati parassitologici di animali selvatici possono essere distorti perché la presenza della malattia può rendere un soggetto più o meno facile da campionare (ad esempio un soggetto malato può essere isolato dal resto del branco e quindi non viene campionato). È perciò fondamentale eseguire campionamenti numericamente rilevanti che comprendano tutti i gruppi demografici (età, sesso, stato riproduttivo, ecc.).

Quindi l'accuratezza della stima dell'aggregazione aumenta all'aumentare della dimensione del campione (USAI, 2011).

Secondo alcuni autori (WOOLHOUSE et al., 1997; PERKINS et al., 2003) sarebbe possibile riconoscere, nella distribuzione aggregata di una metapopolazione parassitaria, anche un *pattern* quantitativo, la cosiddetta regola 20/80 secondo cui il 20% degli animali della popolazione ospite alberga l'80% dei parassiti. Questa regola però non si riscontra in tutti i sistemi ospite-parassita, quindi non va considerata come un modello generale perché le percentuali possono variare notevolmente in funzione della specie ospite, della specie parassitaria o del tipo di relazione.

Ma quali sono le cause dell'aggregazione parassitaria?

In genere si tratta di fattori ambientali o riguardanti un singolo ospite (o un gruppo) che rendono quest'ultimo più sensibile all'infestazione rispetto al resto della popolazione.

Le cause più importanti sono:

- **Età dell'ospite.**

L'età dell'ospite può essere un fattore discriminante che aumenta o, al contrario, riduce la resistenza nei confronti di un parassita. Nella maggior parte dei sistemi ospite-parassita sono i giovani a pagare il prezzo maggiore essendo in media molto più parassitati degli adulti; ciò vale ad esempio per le infestazioni da *Ancylostoma* nel cane o per le infestazioni da *Strongyloides* che sono più frequenti nei puledri e nei vitelli (URQUHART et al., 2007). In alcune situazioni però l'andamento dell'infestazione è invertito perché gli adulti presentano un numero maggiore di parassiti rispetto ai giovani, ed esempio ciò è stato dimostrato nel caso delle infezioni sostenute da *Babesia* nel bovino (ZINTL et al., 2005).

- **Condizioni fisiche.**

Le condizioni fisiche del soggetto possono influenzare la sua capacità di rispondere all'infezione o riparare eventuali danni provocati dal parassita; per questo, un soggetto che presenta un cattivo stato di nutrizione è più esposto al rischio di infestazione (WILSON et al., 2002). Questo fattore è molto importante soprattutto nelle specie selvatiche e in primis nello stambecco sottoposto a rigidi inverni in cui la scarsità di risorse alimentari può portare l'animale ad un grave deperimento.

- **Sesso.**

In letteratura, sono molti gli studi che riportano una maggiore suscettibilità dei maschi alle infestazioni parassitarie rispetto alle femmine, in varie specie animali.

Secondo molti autori questa differenza sarebbe basata sulle differenze ormonali tra i due sessi: nel maschio, un livello elevato di testosterone influenzerebbe il sistema immunitario causando immunosoppressione e quindi predisponendo questo sesso ad un livello maggiore di infestazione. Nella femmina invece gli estrogeni sarebbero in grado di stimolare la risposta immunitaria umorale.

Nonostante alcuni studi siano stati condotti proprio sui ruminanti (HOBY et al., 2006a; DECRISTOPHORIS et al., 2007), in realtà questa ipotesi non è ancora completamente accettata e ciò dipende dal fatto che non sempre emerge questa differenza tra i sessi. Ad esempio NOCTURE et al., (1998), in uno studio sulle

infestazioni da protostrongilidi nel camoscio, hanno rilevato un'intensità e una prevalenza più elevata nelle femmine. Inoltre anche nello studio di HOBY et al., (2006) si evidenzia una maggiore emissione di larve di strongili broncopolmonari nei camosci maschi rispetto alle femmine, ma questa differenza tra sessi non si rileva per l'emissione di uova di nematodi gastrointestinali.

Altre ipotesi sono state formulate per spiegare il diverso grado di infestazione tra sessi, come ad esempio quella di HALVORSEN et al., (1999) secondo cui i maschi di grossa mole potrebbero ingerire una quantità di alimento maggiore e quindi anche di larve se confrontati con le femmine.

In realtà tutti questi studi non sono direttamente confrontabili perché i campionamenti sono avvenuti in stagioni diverse e il grado di infestazione può variare in funzione di questa, oppure perché in alcuni sono state fatte diagnosi coprologiche e in altri diagnosi post-mortem o ancora perché non si è tenuto conto di fattori come la gravidanza e la lattazione che nella femmina possono aumentare la suscettibilità ai parassiti. Sarebbero quindi necessari ulteriori studi per capire se esiste realmente una diversa predisposizione tra i due sessi.

- **Comportamento.**

Anche il comportamento dell'ospite può influenzare il grado di esposizione ai parassiti; ad esempio se un soggetto predilige pascolare nelle zone all'ombra sarà più alto il rischio d'ingestione di gasteropodi (ospiti intermedi dei piccoli strongili broncopolmonari) che durante il giorno si concentrano in quelle aree dove l'umidità è maggiore.

- **Fattori genetici e risposta immunitaria.**

Nella popolazione ospite esiste una notevole variabilità genetica tra gli individui che può influenzare la sensibilità/resistenza ai parassiti, perciò anche questa dev'essere considerata una potenziale causa di aggregazione sebbene difficile da analizzare.

- **Eterogeneità ambientale.**

Molti fattori ambientali come la temperatura e le precipitazioni possono condizionare lo sviluppo delle forme larvali del parassita o l'abbondanza di ospiti intermedi e vettori. Anche le condizioni geomorfologiche e orografiche hanno un impatto significativo sul trofismo degli ospiti intermedi, determinandone presenza e

biodiversità (STEFANCIKOVA et al., 2010). Tutti questi fattori possono condizionare la probabilità di contatto tra ospiti e parassiti e quindi generare eterogeneità nei livelli di infestazione degli ospiti (USAI, 2011).

3.2 Ruolo dei parassiti nella dinamica della popolazione ospite

Sebbene il parassitismo, per definizione, comporti un certo grado di morbilità e mortalità, si pensa che un parassita ben adattato provochi un danno limitato al suo ospite in modo da risparmiarlo e perpetuare se stesso. La malattia e la morte sarebbero quindi il risultato di un'alterazione della relazione ospite-parassita. Questa rottura dell'equilibrio può essere il risultato dell'introduzione di un nuovo agente patogeno in una popolazione precedentemente non esposta o dell'alterazione delle difese immunitarie dell'ospite.

Nella maggior parte dei casi l'impatto dei parassiti non è così drastico, ma si manifesta come una riduzione della capacità riproduttiva o della sopravvivenza dell'ospite.

I parassiti possono ridurre il tasso riproduttivo di una popolazione in maniera diretta (danneggiando l'apparato riproduttore, diminuendo la fertilità o la sopravvivenza dei neonati) o in maniera indiretta (diminuendo il tasso di crescita e quindi aumentando l'età media al primo accoppiamento oppure modificando il comportamento dell'ospite) (GULLAND, 1997).

Un esempio di come i parassiti siano in grado di modificare il comportamento dell'ospite è fornito da FESTA-BIANCHET (1988) nel suo studio sul bighorn, dove ha dimostrato che le femmine che presentano un numero maggiore di larve di strongili broncopolmonari nelle feci, dedicano meno tempo all'allattamento dei neonati rispetto a quelle meno infestate, e la sopravvivenza dei neonati è correlata con la durata dell'allattamento.

I parassiti in questo caso modificano le cure parentali, aumentando la mortalità dei neonati e riducendo il tasso di crescita della popolazione.

Un altro studio condotto sulla renna ha dimostrato che la riduzione della fertilità causata dal parassita *Ostertagia gruehneri* è in grado di provocare un tasso di crescita negativo nella popolazione (ALBON et al., 2002).

È quindi evidente che i parassiti hanno un impatto sulle popolazioni ospiti, il problema è capire se si tratta di un effetto regolatore oppure no.

Questo è infatti difficile da stabilire in quanto dipende dalla virulenza del parassita, dal grado di infestazione e della resistenza dell'ospite, parametri che, a loro volta, possono essere influenzati da moltissimi altri fattori come la malnutrizione, le infezioni secondarie, le condizioni climatico-ambientali e molti altri.

L'importanza del parassitismo inoltre potrebbe essere diversa a seconda del sistema ospite-parassita considerato.

**PARTE
SPERIMENTALE**

4. Obiettivi

Gli strongili broncopolmonari sono parassiti abbastanza frequenti negli ungulati selvatici, ma le conoscenze ad oggi disponibili sono limitate perché pochi studi si sono occupati di questa problematica. In particolare non esiste una metodica quantitativa universalmente riconosciuta come metodica di riferimento per la stima dell'emissione di larve L1.

L'obiettivo del presente lavoro è stato quindi quello di valutare, in una popolazione di stambecco alpino, la presenza di questo gruppo di parassiti, attraverso l'analisi quali-quantitativa delle L1 nelle feci, utilizzando un approccio che si ritiene possa essere utile in futuro come riferimento per analoghe analisi parassitologiche.

In particolar modo abbiamo cercato di:

- Descrivere i principali parametri epidemiologici dei generi di strongili bronco-polmonari presenti, confrontando i dati ottenuti con i pochi lavori disponibili in letteratura.
- Mettere a punto una metodica quantitativa per la stima dell'emissione di larve L1.
- Capire come alcuni fattori (età, sesso, area geografica di provenienza, mese di campionamento) siano in grado di influenzare il livello di infestazione.

5. Materiali e Metodi

5.1 Area di studio

Il massiccio della Marmolada, situato nelle Alpi Orientali, fa parte del sistema montuoso delle Dolomiti e si estende a cavallo tra la Provincia Autonoma di Trento (Trentino Alto-Adige) e la Provincia di Belluno (Veneto). Il massiccio dà il nome all'intero gruppo che è composto da diverse vette divise in sette sottogruppi (Figura 5.1):

- Catena del Padon;
- Massiccio della Marmolada;
- Sottogruppo Ombretta-Ombrettola;
- Catena dell'Auta;
- Catena della Cima dell'Uomo;
- Sottogruppo Collac-Bufferaure;
- Sottogruppo Monzoni-Vallaccia.



Fig. 5.1: Vista satellitare del gruppo della Marmolada. Immagine dal sito <http://goo.gl/JCQPMn>

Questo gruppo montuoso si estende per circa 150 km² tra le Valli di Fassa, del Cordevole e di S. Pellegrino e comprende diverse cime che raggiungono un'altitudine compresa tra 1200 e 3343 metri, la più elevata è Punta Penia (3343 m). Il massiccio della Marmolada sorge al centro di questo gruppo ed è compreso tra la profonda depressione del Fedaia con l'omonimo Passo (m 2056) a nord, e le valli del Contrin e d'Ombretta – Passo Ombretta (m 2704) a sud. Esso ospita sul versante settentrionale, il più vasto ghiacciaio delle Dolomiti (2,6 km²), mentre il versante meridionale è costituito da un'imponente bastionata rocciosa alta da 600 a 1000 m e lunga circa 5 km.

Per quanto riguarda la vegetazione, a bassa quota troviamo soprattutto boschi misti costituiti da conifere e latifoglie; le varietà arboree più frequenti sono il Faggio comune (*Fagus sylvatica*), il Frassino (*Fraxinus excelsior*), l'Acero montano (*Acer pseudoplatanus*) e l'Abete rosso (*Picea abies*).

Sopra i 1600 m, i boschi sono composti principalmente da abete rosso e larice (*Larix decidua*) mentre oltre i 1800 m, la vegetazione arborea scompare e lascia spazio a prati e arbusti come il Pino mugo (*Pinus mugus*), il Rododendro irsuto (*Rhododendrum hirsutum*), il Salice (*Salix spp.*) e l'Ontano verde (*Alnus viridis*).

Sono quest'ultime le aree frequentate dagli stambecchi, caratterizzate da pascoli, ghiaioni e pareti rocciose che costituiscono l'habitat ideale per questa specie.

La Marmolada fornisce quindi una grande varietà di habitat che hanno permesso a molte specie animali di insediarsi in maniera stabile. Tra gli ungulati selvatici, oltre allo stambecco, troviamo il camoscio (*Rupicapra rupicapra*), il capriolo (*Capreolus capreolus*), il cervo (*Cervus elaphus*) e il muflone (*Ovis musimon gmelini*). Tutte queste specie sono cacciabili eccetto lo stambecco.

L'avifauna è ben rappresentata e include specie importanti come l'aquila reale (*Aquila chrysaetos*); questa è in grado di cacciare i capretti più giovani, anche se ciò avviene raramente in quanto le femmine difendono efficacemente i loro piccoli.

Non sono presenti altri grandi predatori che possano minacciare questa specie, solo sporadicamente è stato avvistato l'Orso bruno (*Ursus arctos*).

5.2 La colonia di stambecchi della Marmolada

La colonia di stambecchi della Marmolada, nota anche con il nome di colonia di Cime d'Auta-Monzoni, è stata fondata nel 1978 quando furono rilasciati in territorio trentino (comune di Pozza di Fassa) i primi 6 soggetti fondatori (3 maschi e 3 femmine) provenienti dal Parco Nazionale del Gran Paradiso (PNGP). Nell'anno successivo altri 4 stambecchi (2 maschi e 2 femmine) provenienti sempre dal PNGP, vennero rilasciati nella stessa area.

Questo numero limitato di animali è riuscito, negli anni successivi, a dare origine ad un'importante colonia che nel 2002 contava più di 450 capi rappresentando la più numerosa dell'arco alpino orientale.

Sin dai primi rilasci gli animali hanno mostrato una preferenza per il territorio bellunese dove tutt'oggi si trova la maggior parte della popolazione, probabilmente perché sussistono condizioni ecologiche più favorevoli alla colonizzazione.

Durante l'inverno tra il 2003 e il 2004, a causa di abbondanti precipitazioni nevose e temperature molto rigide associate ad una grave epidemia di rogna sarcoptica, si assistette ad un drastico calo della popolazione. La presenza degli acari agenti della malattia, probabilmente diffusi in quest'area dai camosci, venne confermata dalle analisi condotte presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.

Per salvaguardare la sopravvivenza di questa colonia e limitare i danni causati dalla rogna, la provincia di Belluno in associazione con il Corpo Forestale dello Stato e il Dipartimento di Produzioni Animali Epidemiologia ed Ecologia dell'Università di Torino, attivarono un piano d'azione basato su cattura e trattamento farmacologico degli animali. Furono così catturati e trattati circa 40 soggetti, perlopiù maschi (SCILLITANI et al., 2009).

In questo contesto si inserisce il progetto "stambecco Marmolada" che vede coinvolti numerosi enti (Safari Club International-Italian Chapter; Amministrazione provinciale di Belluno; Corpo Forestale dello Stato, Regione Friuli Venezia Giulia; Dipartimento di Scienze Animali, Università di Padova; Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Università di Torino) che hanno come obiettivo

quello di recuperare numericamente la colonia migliorando le probabilità di crescita e sopravvivenza nel medio-lungo periodo.

Il progetto di rinforzo (“restocking”) viene avviato nel maggio 2006 con il rilascio di 9 maschi in età riproduttiva e 2 femmine gravide provenienti dalla colonia dello Jof-Fuart Montasio (Tarvisio), che aveva già superato precedenti epidemie di questa parassitosi. Il rilascio avviene nei pressi di Malga Ciapela nel Comune di Rocca Pietore (BL).

Il 18 maggio 2007 vengono liberati altri 5 maschi di età compresa tra 5 e 9 anni e provenienti sempre dalla stessa area, portando a 15 il numero totale di animali traslocati (una delle due femmine viene trovata morta pochi giorni dopo il rilascio per cause sconosciute) (SCILLITANI et al., 2009).

Tutti gli animali rilasciati vengono dotati di collare VHS e marche auricolari per il monitoraggio.

Gli stambecchi sono stati censiti regolarmente dal 1978 al 1994; negli anni successivi invece i dati sono stati frammentari fino a quando, a causa dell’epidemia di rogna sarcotica (2003-2004), la colonia è stata costantemente monitorata e censita.

Dal 2002, i censimenti sono stati eseguiti contemporaneamente nelle provincie interessate, generalmente in estate, grazie alla collaborazione del Corpo di Polizia Provinciale di Belluno, dell’Associazione Cacciatori Trentini, del Corpo Forestale della Provincia di Trento e il Dipartimento di Scienze Animali dell’Università di Padova. Per quanto riguarda l’andamento demografico della popolazione (Figura 5.2), possiamo quindi dire che dalla fondazione della colonia al 2002 si è potuto osservare un incremento medio annuo del 2,1% con un totale di 456-480 capi censiti nel 2002. Tra il 2003 e il 2004 invece la popolazione subì un forte calo demografico a causa soprattutto dell’epidemia di rogna sarcotica: i capi censiti nel 2004 erano solo 203. Questo trend negativo continuò fino al 2006 quando dal censimento emerse che il numero di soggetti della colonia era sceso a 114. A partire dal 2007 si assiste invece ad una graduale ripresa.

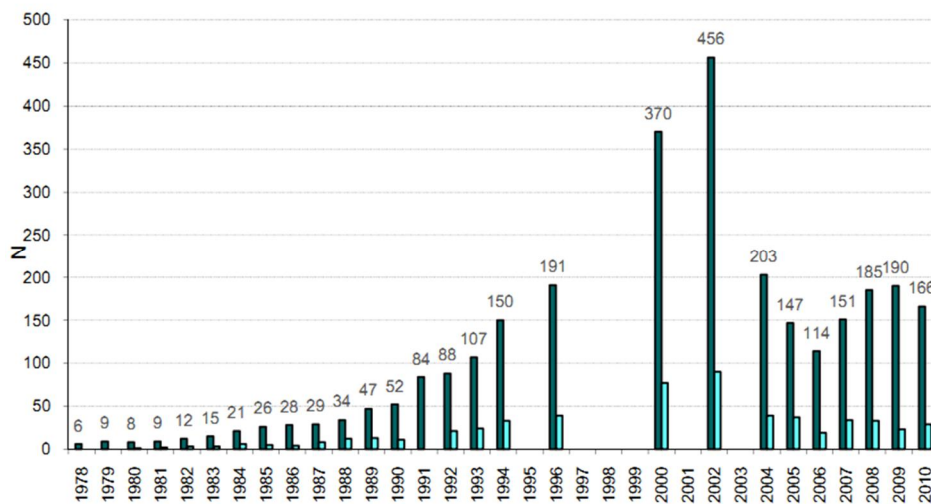


Fig. 5.2: Andamento demografico della popolazione di stambecchi della Marmolada. In blu il numero degli adulti censiti, in azzurro il numero di capretti. (SCILLITANI, 2011)

Nel 2011 sono stati stimati 184 capi e nel 2012 si è arrivati a 250 soggetti (dati non pubblicati) che occupano soprattutto il territorio bellunese, distribuiti in tre linee parallele rappresentate dalla catena dell’Auta, la val Franzedas e la Val Ombretta. Le vie di collegamento tra queste tre zone sono probabilmente rappresentate dalla Forca Rossa e dalla Val Ombrettola. Anche la catena del Padon, situata a nord del massiccio della Marmolada, e la zona del Sasso Bianco, il punto più a est della catena dell’Auta, rappresentano zone spesso frequentate dagli stambecchi.

Inoltre sono stati registrati pochi scambi di soggetti tra le colonie vicine: un maschio della nuova colonia di Pavaneggio-pale di San Martino che nel 2004 si è aggiunto a quella della Marmolada e un altro stambecco maschio che, tra il 2008 e il 2009 si è spostato dalla Marmolada al massiccio del Sella (SCILLITANI, 2011).

5.3 Campionamento

Per la ricerca di larve di strongili broncopolmonari sono stati raccolti 179 campioni di feci, analizzati in seguito presso il Laboratorio di Parassitologia e Malattie Parassitarie dell’Università degli Studi di Padova.

Sono stati oggetto di questo campionamento quattro gruppi separati di stambecchi composti da un numero variabile di animali (da 20 a 30) che nel periodo di indagine hanno occupato zone spazialmente distinte. Ad eccezione del periodo riproduttivo, infatti, gli stambecchi si riuniscono in branchi di piccole-medie dimensioni costituiti o da soli maschi o da femmine con i capretti che occupano in maniera costante una certa area (che varia tra il periodo estivo e invernale).

Un gruppo, indentificato come “gruppo 2”, è costituito esclusivamente da maschi adulti e sub-adulti (Figura 5.3) che si trovano in prossimità del lago dei Negher (situato in una conca nella catena delle Cime dell'Auta). I restanti tre gruppi sono composti prevalentemente da femmine insieme a capretti, yearlings e pochi giovani maschi e occupano le regioni di Cime dell’Auta (gruppo 1), Ombretta (gruppo 3) e Ombrettola-Franzedas (gruppo 4). Solo sporadicamente si possono osservare cambi di gruppo da parte di alcuni esemplari.



Fig. 5.3: Gruppo di maschi del lago dei Negher. (Foto di Matteo Mosconi)

I campioni sono stati raccolti tra luglio e novembre 2013, tutti i gruppi sono stati campionati una volta al mese (per un totale di cinque campionamenti per gruppo);

per ogni uscita sono stati raccolti un numero variabile di campioni da 4 a 15 per gruppo (Tabella 5.1). Gli adulti campionati sono stati 162 mentre i capretti 17 perché presenti in numero ridotto e perché spesso è stato molto difficile trovarne le feci, riconoscibili rispetto a quelle degli adulti per le più ridotte dimensioni.

| | Luglio | Agosto | Settembre | Ottobre | Novembre | Totale |
|----------|--------|--------|-----------|---------|----------|------------|
| Gruppo 1 | 12 | 9 | 4 | 8 | 6 | 39 |
| Gruppo 2 | 5 | 15 | 10 | 5 | 7 | 42 |
| Gruppo 3 | 8 | 6 | 12 | 14 | 10 | 50 |
| Gruppo 4 | 14 | 8 | 8 | 9 | 9 | 48 |
| Totale | 51 | 38 | 34 | 36 | 32 | 179 |

Tab. 5.1: Consistenza dei campionamenti per mese e per gruppo.

Gli animali sono stati osservati mentre defecavano e, subito dopo l'emissione, le feci sono state raccolte in provette o sacchetti di plastica e mantenuti refrigerati ad una temperatura di 4°C fino al momento dell'analisi, al fine di evitare la schiusa delle larve di nematodi gastrointestinali che rendono più indaginosa la ricerca di quelle degli strongili broncopolmonari.

Ogni campione è stato identificato in maniera univoca con un numero progressivo indicante il gruppo d'appartenenza; oltre a questo numero per ognuno è stato specificato il sesso (per gli adulti), la classe d'età (capretto o adulto) e la data di raccolta.

Le analisi di laboratorio sono state eseguite entro pochi giorni dalla raccolta.

5.4 Analisi di laboratorio

5.4.1 Tecnica di Baermann modificata (mini-Baermann)

La tecnica di Baermann è la metodica di riferimento per la diagnosi in vivo delle strongilosi broncopolmonari. In questo studio è stata utilizzata una tecnica leggermente modificata, definita anche mini-Baermann. Il motivo di tale scelta è legato alla maggior praticità (si tratta, infatti, di una metodica più rapida e facile da

preparare, oltre che molto meno ingombrante in termini di spazio) ma soprattutto alla probabile maggior sensibilità di questa tecnica nel recuperare le larve di dictiocaulidi e protostrongilidi dalle feci, come riportato da alcuni autori in letteratura (TODD et al., 1970; McKENNA, 1999).

La mini-Baermann prevede l'utilizzo di una provetta di grandi dimensioni (anziché un imbuto); nel nostro caso sono state utilizzate delle provette Falcon® da 50 ml a fondo conico.

Le larve sono state identificate qualitativamente e determinate quantitativamente su un'aliquota di materiale raccolto dal fondo della provetta, riportando i valori ottenuti al volume iniziale e successivamente alla quantità di feci di partenza.

In dettaglio, per ogni campione di feci sono stati prelevati 2 grammi e posati su un triplo strato di garza di cotone; la garza è stata chiusa e l'aliquota così preparata è stata inserita nella Falcon, precedentemente riempita con 40 ml di acqua, in modo che il campione rimanesse sospeso nella parte alta della provetta (Figura 5.4).



Fig. 5.4: Preparazione del campione: mini-Baermann.

La mini-Baermann viene lasciata riposare per 16-24 ore (una notte) in modo che le larve, dotate di igrotropismo positivo, migrino dalla massa fecale nell'acqua e, una volta libere, si concentrino per forza di gravità sul fondo della provetta.

Successivamente si asportano le feci avvolte nel triplo strato di garza e con una pipetta si aspira il surnatante fino al momento in cui rimane nella Falcon un volume residuo di 10 ml (sul fondo si dovrebbero trovare tutte le larve presenti nei 2 grammi iniziali di feci). La provetta viene chiusa e agitata manualmente per alcuni secondi in modo che le larve eventualmente presenti sul fondo, si distribuiscano uniformemente nei 10 ml rimasti. Subito dopo aver agitato il campione, si prelevano due aliquote da 0,5 ml, ognuna della quali viene messa in eppendorf da 2 ml con l'aggiunta di quattro gocce di liquido di Lugol per colorare e uccidere le larve, rendendo così più facile rispettivamente la ricerca e l'identificazione di queste (Figure 5.5 e 5.6).

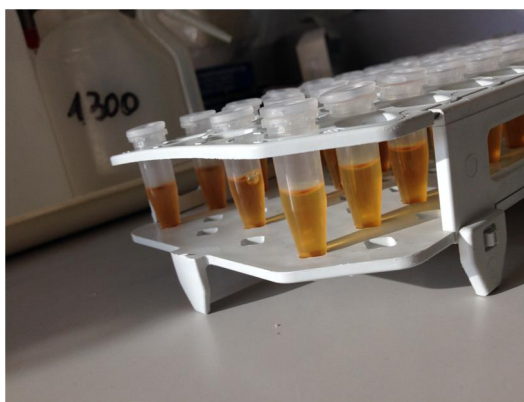


Fig. 5.5: Preparazione del campione: eppendorf contenenti l'aliquota da 0,5 ml e le 4 gocce di liquido di Lugol.



Fig. 5.6: Preparazione del campione: le due aliquote da 0,5 ml di un campione che saranno poi osservate al microscopio.

Tutto il liquido di entrambe le aliquote (1 ml totale) viene osservato al microscopio (circa 10 vetrini con coprioggetto 24X60) ad un ingrandimento di 40X (da portare fino a 400X nel caso si veda una larva), per contare e identificare a livello di genere le larve di strongili bronco-polmonari (Figura 5.7).

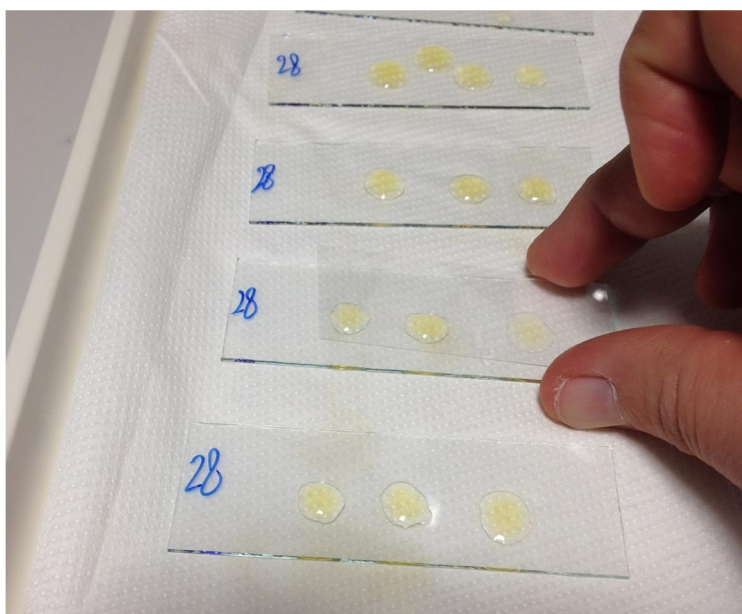


Fig. 5.7: Preparazione dei vetrini per l'osservazione al microscopio di tutta l'aliquota.

Se le aliquote sono positive, il numero totale di larve contate per genere viene moltiplicato per un fattore di conversione pari a 5, al fine di ottenere il numero di larve/g di feci (L1/g).

Se invece entrambe le aliquote sono negative, con una pipetta Pasteur in vetro, viene prelevata una minima quantità di soluzione dal fondo del sedimento nella Falcon e questa viene collocata su un disco di vetro e osservata allo stereomicroscopio per verificare la presenza di larve di nematodi. In caso di presenza, si passano al microscopio per l'identificazione e la positività viene data come sotto-soglia. A questi campioni è stato assegnato un valore di 2,5 L1/g per l'analisi statistica.

Se le larve sono assenti, il campione è considerato negativo.

5.4.2 Descrizione e identificazione morfologica delle larve L1

L'identificazione delle larve di primo stadio (L1) è stata possibile mediante le dimensioni e l'osservazione della morfologia dell'estremità caudale ad un ingrandimento di 400X, 200X o 100X.

L'identificazione è stata possibile solo fino al livello di genere perché la distinzione tra specie non è realizzabile con l'osservazione delle L1, ma solo con l'isolamento, post-mortem, dei parassiti adulti e la loro osservazione microscopica.

I generi che abbiamo ricercato nelle feci sono quelli già precedentemente segnalati nello stambecco alpino, ovvero *Muellerius*, *Neostrogylus*, *Protostrongylus* e *Cystocaulus*. È stata indagata anche la presenza di larve di *Dictyocaulus*, nonostante questo non sia mai stato riportato da nessun autore nello stambecco alpino, ma solo in quello dei Pirenei (segnalata la presenza di *D. filaria* da ACEVEDO et al., 2005 e ALASAAD et al., 2009). Per la vicinanza filogenetica tra queste due specie sono state comunque ricercate anche le larve di tale parassita.

Inoltre va specificato che, sebbene nello stambecco sia segnalata la presenza di *Spiculocaulus* (BALBO et al., 1975), le larve non sono morfologicamente differenziabili da quelle di *Protostrongylus* (MANFREDI et al., 1996), perciò non è stata possibile la distinzione di questi due generi se eventualmente presenti contemporaneamente e, per semplicità, nei risultati di questo studio le larve morfologicamente riconducibili ad uno di questi due generi sono state riportate come appartenenti al genere *Protostrongylus*.

L'identificazione di genere per le forme larvali è stata basata sulle descrizioni di FOREYT (2001) e VAN WYK et al., (2004) (Figura 5.8).

Sebbene la lunghezza delle larve non sia diagnostica se considerata da sola, è utile innanzitutto per distinguere i protostrongilidi dai grossi strongili e dalle eventuali larve L3 di nematodi gastrointestinali presenti nel campione; quest'ultime due categorie di larve hanno dimensioni superiori ai 450 μm e nel caso di *Dictyocaulus* sono evidenti numerosi granuli brunastri nelle cellule intestinali che rendono i due terzi caudali del corpo molto più scuri rispetto al terzo craniale. L'estremità caudale di queste larve è semplice, caratterizzata da una coda rettilinea e arrotondata che

permette di distinguerle dalle L3 dei nematodi gastrointestinali che hanno invece una coda estremamente appuntita. *D. filaria* (la specie segnalata nello stambecco dei Pirenei) inoltre è caratterizzato da una formazione cuticolare caratteristica a livello della testa che forma un “bottoncino” apicale.

Per la distinzione dei protostrongilidi invece è fondamentale l’osservazione della morfologia della coda in quanto le dimensioni sono simili tra i diversi generi. Uno dei problemi che si possono presentare è la difficoltà nel mettere a fuoco l’intera estremità caudale lavorando ad alto ingrandimento, perciò serve tempo e pazienza per riuscire ad identificare le larve, soprattutto prima di acquisire un certo grado di esperienza.

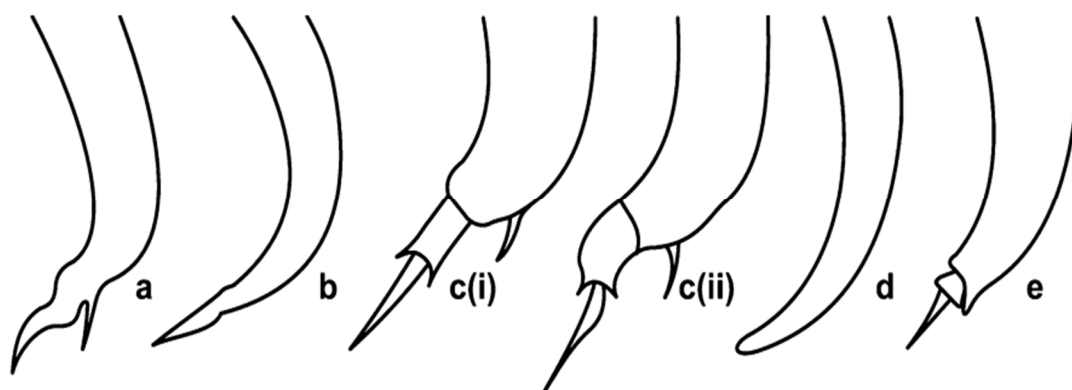


Fig. 5.8: Disegno schematico della morfologia della coda delle larve di strongili broncopolmonari appartenenti ai cinque generi principali: a) *Muellerius*; b) *Protostrongylus*; c(i) e c(ii) *Cystocaulus*; d) *Dictyocaulus*; e) *Neostongylus*. (VAN WYK et al., 2004)

Le larve di *Muellerius* hanno dimensioni ridotte, comprese tra 250 e 300 μm di lunghezza. L’estremità caudale è caratterizzata dalla presenza di una coda prominente e leggermente ondulata che termina a punta e presenta una caratteristica spina dorsale incurvata leggermente (Figure 5.8 e 5.9).



Fig. 5.9: Foto al microscopio ottico (200X) di una L1 non colorata del genere *Muellerius*.

Le larve di *Protostrongylus* sono invece leggermente più lunghe (340 – 400 μm); la coda è molto semplice (non presenta spine), non è ondulata come quella di *Muellerius* ma rettilinea, piuttosto fine, lunga e affusolata (Figure 5.8 e 5.10).



Fig. 5.10: Foto al microscopio ottico (200X) di una L1 non colorata del genere *Protostrongylus*.

Le larve di *Cystocaulus* sono quelle di lunghezza maggiore tra i quattro generi principali di protostrongilidi, misurano tra 380 e 420 μm . L'estremità caudale (simile

a quella di *Muellerius*) è incurvata ventralmente e composta da una porzione prossimale di forma tubulare con piccole spine e una parte terminale lunga e affilata. È presente anche una spina dorsale (Figure 5.8 e 5.11).



Fig. 5.11: Foto al microscopio ottico (200X) di una L1 del genere *Cystocaulus* colorata con liquido di Lugol.

Le larve di *Neostromylus* sono lunghe 330 – 350 μm e presentano un'estremità caudale più corta, non ondulata e appuntita, con due piccole spine laterali (Figure 5.8 e 5.12).



Fig. 5.12: Foto al microscopio ottico (400X) di una L1 non colorata del genere *Neostromylus*.

5.5 Analisi Statistica

Tutti i dati raccolti nei mesi dell'indagine sono stati organizzati in un database Excel, in modo da ottenere per ogni campione e per ogni genere parassitario riscontrato, il dato di positività/negatività e il valore di numero di larve per grammo (L1/g). Alla fine dello studio sono stati calcolati i seguenti parametri statistici descrittivi:

- **Prevalenza:** rapporto percentuale tra il numero di positivi ed il numero totale di campioni;
- **Abbondanza media:** numero medio di larve per grammo (L1/g) sul totale degli animali esaminati;
- **Intensità media:** numero medio di L1/g per sul totale degli animali positivi.

Per valutare il grado di aggregazione dei parassiti nella popolazione ospite, è stato determinato il valore del **parametro k**. Questo è stato possibile solo per un genere poiché per gli altri il numero di soggetti positivi era insufficiente per una stima adeguata.

Uno dei metodi con cui può essere stimato il parametro k è il seguente (GENCHI et al., 1986):

$$k = \frac{m^2}{(s^2 - m)}$$

Dove m corrisponde alla media e s^2 alla varianza.

Il parametro k è inversamente proporzionale al grado di aggregazione del parassita nella popolazione ospite. Quando k è elevato invece, la distribuzione tende a quella di Poisson ($s^2 \rightarrow m$) e i parassiti sono distribuiti in maniera casuale.

Un valore di $k < 1$ esprime un buon grado di aggregazione.

Inoltre sono state calcolate, per tutti i generi riscontrati, le prevalenze in funzione della classe d'età (adulti o capretti), del gruppo e del sesso, al fine di rivelare un'eventuale differenza di emissione di larve legate a questi fattori.

Per analizzare eventuali differenze di prevalenza nei vari gruppi, è stato utilizzato il **test del χ^2 di Pearson**.

Per quanto riguarda invece i valori quantitativi di emissione di larve (L1/g), questi sono stati confrontati tra gli stessi gruppi sopra riportati (divisi per gruppi, sesso e classe d'età) e inoltre anche per i 5 mesi del campionamento, per evidenziare eventuali andamenti stagionali. Siccome la distribuzione dei parassiti nella popolazione ospite non segue la curva di Gauss, cioè si tratta di una distribuzione non normale, sono stati adottati due test non parametrici.

In particolare, il **test di Kruskal-Wallis** è stato utilizzato per indagare eventuali differenze nelle emissioni di larve quando venivano confrontati più di due categorie di dati come nel caso dei gruppi (4 categorie) o nel caso dei mesi (5 categorie).

Il **test U di Mann-Whitney** invece è stato adottato quando erano presenti solo due categorie, come nel caso del sesso (M o F) o nel caso della classe d'età (Adulti o Capretti).

Per le analisi è stato utilizzato il software IBM SPSS Statistic 20. Le differenze sono state considerate statisticamente significative per valori di $p < 0,05$.

6. Risultati

6.1 Aspetti descrittivi dell'infestazione

I campioni di feci pervenuti in laboratorio e analizzati sono stati 179. Di questi, 162 provengono da soggetti adulti e 17 da capretti. Tra i soggetti adulti 42 campioni sono provenienti da stambecchi maschi, mentre quelli provenienti da individui di sesso femminile sono 117; per i capretti e per altri tre campioni di yearlings non è stato specificato il sesso perché impossibile da determinare.

La disparità di campionamento tra sessi è dovuta alla diversa composizione dei gruppi, infatti solo uno dei quattro gruppi è composto da maschi mentre gli altri tre sono costituiti prevalentemente da femmine.

La consistenza dei campionamenti viene riassunta nella seguente tabella 6.1.

| | Categoria | Campioni |
|--------------|---------------------|----------|
| SESSO | Maschi | 42 |
| | Femmine | 117 |
| CLASSE D'ETÀ | Adulti | 162 |
| | Capretti | 17 |
| GRUPPO | Cime d'Auta (1) | 39 |
| | Lago dei Negher (2) | 42 |
| | Ombretta (3) | 50 |
| | Franzedas (4) | 48 |
| MESE | Luglio | 39 |
| | Agosto | 38 |
| | Settembre | 34 |
| | Ottobre | 36 |
| | Novembre | 32 |

Tab. 6.1: Consistenza dei campionamenti per sesso, classe d'età, gruppo e mese.

Gli esami coprologici eseguiti sui 179 campioni raccolti hanno portato a identificare quattro tipi di larve di strongili broncopolmonari, appartenenti ai seguenti generi: *Muellerius*, *Protostrongylus*, *Neostrongylus* e *Cystocaulus*. Non sono state invece trovate larve riconducibili al genere *Dictyocaulus*.

In generale, l'87% degli stambecchi esaminati è risultato infestato da strongili broncopolmonari.

Nella tabella 6.2 sono riportati: il numero di campioni esaminati, il numero di positivi, la prevalenza, l'abbondanza media, l'intensità media e il range di emissione per tutti e quattro i generi identificati.

| | N | POS | Prev. | AM | IM | Min-Max (L1/g) |
|------------------------|-----|-----|-------|-------|-------|----------------|
| <i>Muellerius</i> | 179 | 151 | 84% | 122,6 | 145,3 | 2,5-2240 |
| <i>Protostrongylus</i> | 179 | 16 | 9% | 1,7 | 18,8 | 5-40 |
| <i>Cystocaulus</i> | 179 | 8 | 1% | 0,1 | 10 | 2,5-40 |
| <i>Neostrongylus</i> | 179 | 2 | 4% | 0,8 | 17,2 | 0-10 |

Tab. 6.2: Numero di campioni esaminati (N), numero di campioni positivi (POS), prevalenza (Prev.), abbondanza media (AM), intensità media (IM) e valori minimo e massimo di emissione (R) per ognuno dei generi parassitari identificati

Il grado di aggregazione è stato valutato solo per il genere *Muellerius*, il parassita più frequente, perché le positività per gli altri piccoli strongili sono molto basse. Per *Muellerius* il parametro k è risultato pari a 0,204.

Nel grafico 6.1 viene riportata la distribuzione di frequenza per *Muellerius*. Si può notare che le classi meno numerose hanno una frequenza maggiore, ciò significa che la maggior parte della popolazione alberga pochi parassiti e solo pochi soggetti presentano cariche elevate, come avviene classicamente nelle distribuzioni di tipo aggregato.

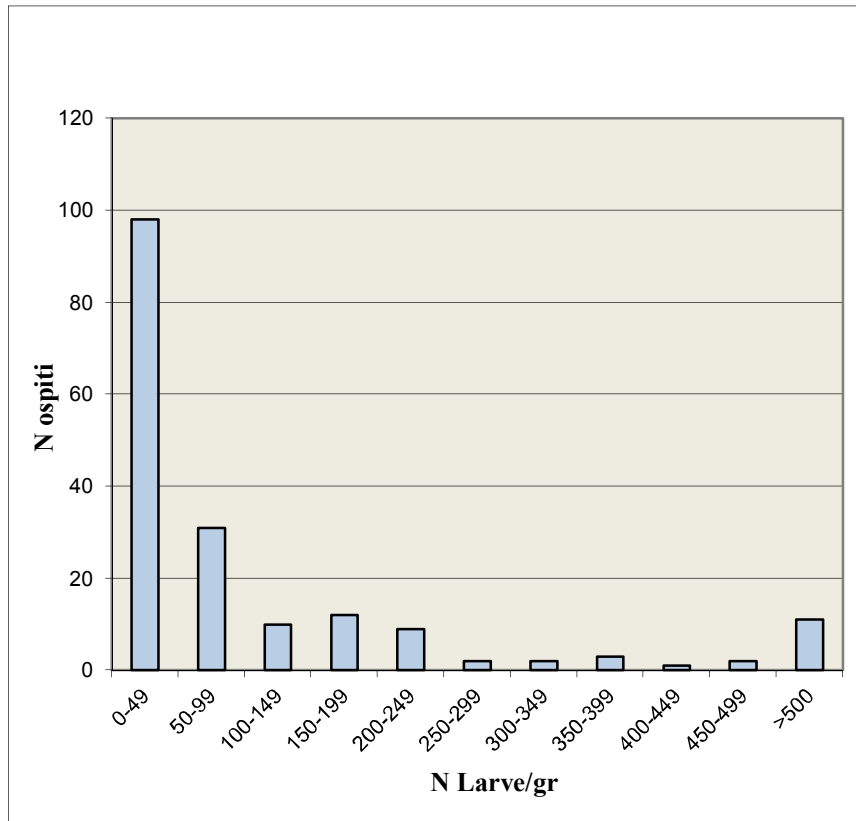


Grafico 6.1: Distribuzione di frequenza del genere *Muellerius* negli animali campionati.

6.2 Analisi delle differenze tra gruppi

Inizialmente sono state indagate le differenze di prevalenza tra diversi gruppi, individuati in funzione dei seguenti fattori: sesso, classe d'età e gruppo d'appartenenza.

Per quanto riguarda il sesso e il gruppo d'appartenenza non sono state rilevate differenze con il test del χ^2 per nessuno dei quattro protostrongilidi. Per la classe d'età invece le prevalenze sono risultate diverse in maniera significativa solo per *Muellerius* e *Protostrongylus* ($p < 0,05$).

La tabella 6.3 mostra le differenze di prevalenza dei quattro generi riscontrati in funzione della classe d'età.

| PARASSITI | Categoria | Esaminati | Positivi | Prevalenza | P value |
|------------------------|-----------|-----------|----------|--------------|---------|
| <i>Muellerius</i> | Adulti | 162 | 141 | 87,0% | <0,05 |
| | Capretti | 17 | 10 | 58,8% | |
| <i>Protostrongylus</i> | Adulti | 162 | 9 | 5,6% | <0,05 |
| | Capretti | 17 | 7 | 41,2% | |
| <i>Cystocaulus</i> | Adulti | 162 | 2 | 1,2% | >0,05 |
| | Capretti | 17 | 0 | 0,0% | |
| <i>Neostrongylus</i> | Adulti | 162 | 8 | 4,9% | >0,05 |
| | Capretti | 17 | 0 | 0,0% | |

Tab. 6.3: Prevalenza dei quattro generi identificati, in funzione della classe d'età. Per ogni genere sono riportati il numero di campioni esaminati, i positivi, la prevalenza, distinti per categoria, e indicato il livello di significatività (P value) della differenza di prevalenza.

In un secondo momento sono state indagate anche eventuali differenze nell'intensità di emissione di larve, comparando i gruppi identificati dalle variabili citate in precedenza (sesso, classe d'età e gruppo di appartenenza), e in aggiunta sono state anche indagate differenze complessive tra i cinque mesi di campionamento. In questo caso sono stati impiegati due test non parametrici, il test di Kruskal-Wallis e il test U di Mann-Whitney.

Per *Muellerius* sono state rilevate differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) nella emissione di L1/g per mese, sesso, classe d'età e gruppo. Alcuni valori rappresentativi per ogni gruppo sono riportate nella seguente tabella 6.4. Si ritiene opportuno qui precisare che, anche se nelle tabelle vengono riportati i dati sintetici di media e deviazione standard, le differenze misurate dai test statistici prendono in considerazione l'insieme dei valori di emissione di tutti i campioni delle categorie considerati.

| | | <i>Muellerius</i> (L1/g) | |
|---------------------|-------------|--------------------------|---------------------|
| | | Media | Deviazione standard |
| Mese | Luglio | 73,7 | 218,4 |
| | Agosto | 37,5 | 56,0 |
| | Settembre | 95,0 | 128,5 |
| | Ottobre | 197,8 | 451,3 |
| | Novembre | 228,0 | 290,4 |
| Sesso | F | 81,1 | 147,8 |
| | M | 290,8 | 468,4 |
| Classe d'età | Adulti | 134,6 | 283,3 |
| | Capretti | 8,5 | 11,1 |
| Gruppo | Cime d'Auta | 111,3 | 214,7 |
| | Lago | 290,8 | 468,4 |
| | Ombretta | 36,7 | 50,0 |
| | Franzedas | 74,1 | 115,1 |

Tab. 6.4: Per ogni categoria identificata dai quattro fattori presi in considerazione, vengono riportate la media e la deviazione standard di L1/g.

Siccome i quattro gruppi non sono omogenei come composizione, per capire se la differente emissione di L1/g legata al gruppo fosse reale, il test di Kruskal-Wallis è stato ripetuto escludendo il gruppo 2 in quanto costituito solo da maschi. Il confronto tra i restanti tre gruppi ha infatti mostrato che non ci sono differenze statisticamente significative nella emissione di larve di *Muellerius*.

La differente emissione del parassita tra adulti e capretti invece mantiene la significatività ($p < 0,05$) anche togliendo il gruppo dei maschi, con una maggiore emissione nei primi rispetto ai secondi.

Il seguente grafico 6.2 mostra l'andamento mensile delle cariche larvali medie del genere *Muellerius*.

Le cariche più elevate sono state osservate nel mese di novembre, con un valore di 228 L1/g.

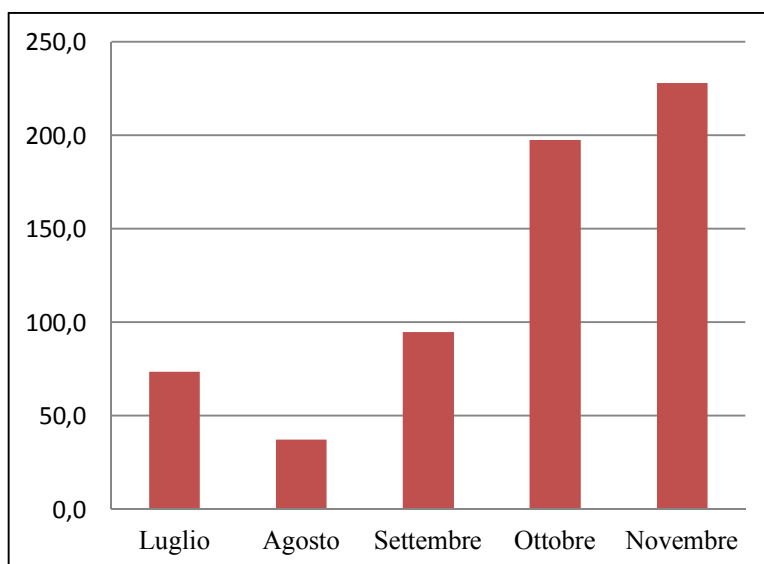


Grafico 6.2: Andamento della media delle L1/g emesse nei mesi dell'indagine.

Per *Protostrongylus* sono state rilevate differenze statisticamente significative nella distribuzione solo per la classe d'età, valutate con test U di Mann-Whitney; a differenza di *Muellerius*, per *Protostrongylus* si registra una maggiore emissione nei capretti rispetto agli adulti. Non sono state rilevate invece differenze per mese, sesso e gruppo.

I dati sono riportati nella seguente tabella 6.5.

| | | <i>Protostrongylus</i> (L1/g) | |
|---------------------|-------------|-------------------------------|---------------------|
| | | Media | Deviazione standard |
| Mese | Luglio | 0,0 | 0,0 |
| | Agosto | 1,6 | 5,5 |
| | Settembre | 2,9 | 8,4 |
| | Ottobre | 3,1 | 8,2 |
| | Novembre | 0,9 | 3,0 |
| Sesso | F | 0,9 | 4,4 |
| | M | 1,0 | 3,7 |
| Classe d'età | Adulti | 0,9 | 4,1 |
| | Capretti | 8,8 | 12,7 |
| Gruppo | Cime d'Auta | 2,3 | 6,7 |
| | Lago | 1,0 | 3,7 |
| | Ombretta | 2,2 | 7,9 |
| | Franzedas | 1,3 | 4,4 |

Tab. 6.5: Valori di media e deviazione standard per l'emissione di larve del genere *Protostrongylus* per ogni categoria dei quattro fattori.

I test di Kruskal-Wallis e di Mann-Whitney sono stati impiegati anche per valutare le distribuzioni di *Neostromylus* e *Cystocaulus* ma i dati ottenuti non hanno mostrato differenze significative tra i gruppi individuati in funzione dei fattori considerati, probabilmente a causa della loro prevalenza molto bassa.

7. Discussione

Innanzitutto va sottolineato che in letteratura sono pochissimi gli studi che si sono occupati delle infestazioni broncopolmonari nello stambecco alpino. Molto spesso tali indagini non considerano l'emissione fecale di larve L1, ma si basano sull'isolamento dei parassiti adulti, in corso di esami necroscopici; inoltre, anche in quegli studi che utilizzano gli esami coprologici per stimare il grado di infestazione, la metodica quantitativa utilizzata non viene illustrata chiaramente. Quindi la mancanza di un protocollo standardizzato per la valutazione di queste malattie parassitarie rende ulteriormente difficile la comparazione con i pochi dati disponibili.

Tutti i generi di strongili broncopolmonari identificati in questo studio sono stati precedentemente segnalati nello stambecco alpino (BALBO et al., 1975; MANFREDI et al., 1996; MARREROS et al., 2012). Anche il mancato riscontro di larve ascrivibili al genere *Dictyocaulus* è in accordo con la letteratura precedente, non essendo mai stato osservato in questa specie, a differenza di quanto accade nello stambecco dei Pirenei. Si tratta di una differenza rilevante (vista la vicinanza filogenetica di queste due specie) che potrebbe indicare una diversa specificità d'ospite per *Dictyocaulus*, ma in realtà, la scarsità dei dati disponibili in letteratura rende difficile interpretare questa differenza.

Tra i quattro protostrongilidi che abbiamo rilevato nel nostro studio, il più frequente è stato sicuramente *Muellerius*. L'elevata prevalenza di questo genere (84%) è stata segnalata anche da altri autori come MANFREDI et al. (1996) che riportano una prevalenza del 23% nella colonia di stambecchi del Piz Albris e MARREROS et al. (2012) che riportano un valore di prevalenza pari a 79,8% nella colonia di Cape-au-Moine e pari a 52,6% in quella di Albris, nelle alpi svizzere. BALBO et al., (1975) invece non hanno osservato *Muellerius*, ma il genere *Spiculocaulus*. Dal loro studio emerge però una difficoltà di identificazione di questo parassita vista la mancanza di accurate descrizioni morfologiche e la somiglianza tra generi diversi, quindi non si può escludere che il protostrongilide indicato come *Spicolocaulus* possa essere in realtà *Muellerius*.

L'importanza di questo genere è riportata anche nello stambecco dei Pirenei (ACEVEDO et al., 2005; ALASAAD et al., 2009) e in altre specie di ruminanti selvatici come il bighorn (EZENWA et al., 2010) e il camoscio (STEFANCIKOVA et al., 2010).

L'elevata diffusione di *Muellerius* nello stambecco alpino può essere imputabile alla notevole resistenza alle condizioni climatiche rigide che caratterizzano l'habitat di questa specie, tanto che esso viene considerato un parassita tipico delle regioni nordiche.

Per gli altri tre protostrongilidi nella presente tesi sono state registrate prevalenze decisamente più basse: 9% per *Protostrongylus*, 4% per *Neoststrongylus* e 1% per *Cystocaulus*. Quest'ultimo non viene segnalato negli studi di BALBO et al. (1975) e MANFREDI et al. (1996) mentre nello studio di MARREROS et al. (2012) solo gli stambecchi della colonia di Cape-au-Moine sono infestati da questo genere, con una prevalenza del 3,1%. Questo rappresenta l'unico ritrovamento di *Cystocaulus* nello stambecco alpino oltre al nostro e tale differenza può essere imputabile alla metodica utilizzata, infatti nello studio di BALBO et al. (1975) e in parte anche in quello di MANFREDI et al. (1996), la diagnosi è basata sul rilevamento dei parassiti adulti all'esame necroscopico mentre il nostro studio e quello di MARREROS et al. (2012) valutano l'emissione di larve con le feci. Essendo di norma la progenie molto più numerosa dei parassiti adulti che la producono, se le larve nelle feci sono poche, il numero di adulti a livello polmonare sarà ulteriormente ridotto, rendendo molto più difficile il ritrovamento.

Ad ogni modo possiamo dire che *Cystocaulus* rappresenta un genere infrequente nella specie in esame, e probabilmente non rappresenta un grave problema per la popolazione.

Comunque il riscontro di tutti e quattro i generi principali ci permette di dire che le condizioni climatiche ed ecologiche che caratterizzano l'ambiente alpino della Marmolada sono favorevoli al completamento del ciclo biologico (indiretto) dei protostrongilidi e alla sopravvivenza dei molluschi ospiti intermedi.

Il grado di aggregazione è stato valutato solo per *Muellerius* (151 campioni positivi). L'analisi dei dati ha evidenziato una distribuzione aggregata (sopradispersa); il 54%

dei campioni presenta cariche larvali inferiori a 50 L1/g, il 17% tra 50 e 99 L1/g, il 12% tra 100 e 199 L1/g e infine solo il 17% dei campioni presenta più di 200 L1/g. In altre parole la maggior parte degli stambecchi presenta un basso grado di infestazione e solo pochi individui sono parassitati in maniera massiva; ciò conferma la classica distribuzione aggregata che assumono i parassiti all'interno della popolazione ospite, nelle situazioni in cui il rapporto ospite-parassita sia stabile e in equilibrio.

Col presente studio abbiamo anche cercato di capire se esistono alcuni fattori che possano influenzare la distribuzione dei parassiti nella popolazione in oggetto. Per la colonia di stambecchi della Marmolada le variabili prese in esame sono state le seguenti: mese di campionamento, sesso, classe d'età e gruppo. Le differenze di gruppo implicano una diversa occupazione del territorio, come già precedentemente affermato infatti durante il periodo di campionamento, i quattro gruppi hanno occupato in maniera costante zone spazialmente distinte: Cime dell'Auta (gruppo 1), lago dei Negher (gruppo 2), Ombretta (gruppo 3) e Ombrettola-Franzedas (gruppo 4).

Le differenze riscontrate vengono illustrate nei paragrafi successivi considerando singolarmente ciascuna variabile.

Considerando la variabile “mese di campionamento” abbiamo evidenziato delle oscillazioni nell'emissione di L1/g che si sono rivelate statisticamente significative per il genere *Muellerius*. In luglio l'emissione media è pari a 73,7 L1/g. L'emissione minima è stata osservata in agosto con una media di 37,5 L1/g, mentre successivamente si assiste ad un incremento graduale nei mesi autunnali fino ad un valore massimo nel mese di novembre con una media di 228 L1/g.

Anche MARREROS et al. (2012) riportano un andamento simile per la prevalenza di *Neostrongylus* negli stambecchi della colonia Cape-au-Moine, con un valore minimo registrato in agosto. Sebbene i due dati (emissione media e prevalenza) non siano direttamente correlabili, si evidenzia comunque una fase declinante che corrisponde ai mesi estivi e una fase di crescita nei mesi autunnali. La stagionalità delle infestazioni da protostrongilidi che abbiamo rilevato è molto simile anche a quella segnalata da MANFREDI et al. (1996), sebbene in questo studio l'emissione

massima si registri in primavera. La mancanza di campionamenti in questo periodo ci impedisce di capire se questo accade anche nella colonia di stambecchi della Marmolada.

Le possibili cause di questo fenomeno sono molte e legate al comportamento dell'ospite, al ciclo biologico del parassita e alle condizioni climatiche ambientali. Ad esempio la scarsità di risorse alimentari nel periodo invernale spinge ad uno sfruttamento massimo delle risorse disponibili, aumentando così le possibilità di contatto con l'ospite intermedio e quindi il rischio di infestazione. Inoltre, a causa della scarsità di alimento reperibile in inverno, gli animali possono andare incontro ad un grave deperimento che condiziona le difese dell'ospite. Una riduzione dei meccanismi immunitari può quindi favorire i parassiti, aumentando l'emissione di larve.

In generale comunque molti fattori ambientali come la temperatura e le precipitazioni possono condizionare lo sviluppo delle forme larvali del parassita o l'abbondanza degli ospiti intermedi, influenzando quindi i livelli di infestazione.

Per quanto riguarda *Protostrongylus* invece, l'andamento dell'emissione è caratterizzato da un valore minimo in luglio (0 L1/g), un incremento graduale tra agosto, settembre ed ottobre, mentre in novembre si osserva di nuovo un calo di emissione. Tali differenze non sono però risultate statisticamente significative e inoltre, molto probabilmente, sono influenzate dal diverso numero di campioni di capretto che sono stati raccolti nei vari mesi. Siccome questo parassita è più raro negli adulti (vedi paragrafi successivi) l'emissione di larve di *Protostrongylus* riflette la numerosità dei campioni di capretto (che sono stati 0 nel mese di luglio, 3 in agosto, 4 in settembre, 7 in ottobre e 4 in novembre) piuttosto che il reale andamento dell'emissione.

Per *Neoststrongylus* e *Cystocaulus* non è stato possibile valutare un andamento stagionale di emissione viste le scarse positività.

Per la categoria "sesso" i dati rilevanti riguardano ancora una volta *Muellerius*. Per questo genere la diversa prevalenza tra maschi e femmine non è risultata significativa con il test del χ^2 . Al contrario, il test non parametrico di Mann-Whitney, ha mostrato una certa significatività nelle differenze di carica parassitaria, con un'emissione media maggiore nei maschi (290,8 L1/g) rispetto alle femmine (81,1 L1/g).

In letteratura, sono molti gli studi che riportano una maggiore suscettibilità dei maschi alle infestazioni parassitarie rispetto alle femmine, in varie specie animali; questo è stato dimostrato anche nello stambecco alpino per i nematodi gastrointestinali (DECRISTOPHORIS et al., 2007) e per gli strongili broncopolmonari (MARREROS et al., 2012). Una possibile interpretazione del fenomeno è legata all'effetto immunosoppressivo del testosterone; nel maschio infatti, alti livelli di questo ormone porterebbero ad una riduzione delle difese immunitarie favorendo i parassiti e portando quindi ad un'aumento dell'emissione di larve.

Un'altra spiegazione può essere legata alla diversa capacità di ingestione tra i due sessi; i maschi di grossa mole ingeriscono in media una quantità di alimento maggiore, e quindi anche di elementi parassitari infestanti, rispetto alle femmine.

Per quanto riguarda la variabile "classe d'età", nonostante i campioni di capretto siano stati relativamente pochi (17 su un totale di 179 campioni), l'analisi statistica ha comunque evidenziato differenze significative tra le due classi (adulti e capretti) per due generi parassitari: *Muellerius* e *Protostrongylus*.

Per *Muellerius* abbiamo osservato una prevalenza maggiore negli adulti (87%) rispetto ai capretti (58,8%); anche l'emissione media ha mostrato differenze significative con un valore di 134,6 L1/g negli adulti e 8,5 L1/g nei capretti.

Negli altri studi sullo stambecco alpino non viene valutato il grado di infestazione in funzione dell'età, ma la differenza che abbiamo rilevato è in accordo con ciò che accade nei piccoli ruminanti domestici (REGASSA et al., 2010) e sarebbe ascrivibile all'effetto cumulativo secondo cui gli animali adulti, in funzione dell'età, hanno avuto il tempo di sviluppare cariche parassitarie maggiori rispetto ai capretti.

Per *Protostrongylus* invece si nota un'interessante inversione di tendenza con un'emissione media di larve maggiore nei capretti (8,8 L1/g) e minore negli adulti (0,9 L1/g). Questo dato non è mai stato riportato in letteratura e si discosta nettamente da quanto accade per le infestazioni sostenute da *Muellerius*, e risulta perciò difficile trovare una spiegazione.

Forse gli adulti riescono a sviluppare una risposta immunitaria efficace nei confronti di *Protostrongylus* riuscendo in molti casi ad eliminare i parassiti adulti, mentre ciò

non avviene nei capretti a causa dell'immaturità delle difese immunitarie. Sarebbe però interessante capire perché questo fenomeno non accada anche per gli altri protostrongilidi.

Per la categoria "gruppo" è stata rilevata una differenza nell'emissione media di larve di *Muellerius* con valori crescenti rispettivamente tra gruppo 3 (36,7 L1/g), 4 (74,1 L1/g), 1 (111,3 L1/g) e 2 (290,8 L1/g).

La composizione dei gruppi non è però omogenea perché uno di essi è composto esclusivamente da soggetti maschi mentre gli altri tre sono composti prevalentemente da femmine; si è ritenuto quindi che questa disuguaglianza fosse in realtà legata al sesso, quindi è stato escluso il gruppo 2.

Analizzando l'andamento dell'emissione nei tre gruppi di femmine rimasti, la differenza non è risultata statisticamente significativa.

Questo può indicare che le condizioni ambientali sono analoghe in tutte e quattro le zone in cui vivono i rispettivi gruppi e consentono il completamento del ciclo biologico dei parassiti. La differenza tra il gruppo 2 (maschi) e gli altri tre gruppi (femmine) è quindi probabilmente legata al sesso.

8. Conclusioni

La valutazione dello stato sanitario delle popolazioni selvatiche è spesso problematica, soprattutto se gli animali occupano aree geografiche difficili da raggiungere e la disponibilità di campioni è limitata da restrizioni legislative che aboliscono la caccia, come nel caso dello stambecco alpino. La raccolta e l'analisi di campioni di feci rappresentano invece un sistema non-invasivo utile per il monitoraggio della popolazione, senza che si renda necessaria una manipolazione diretta degli animali.

Purtroppo, per le strongilosi broncopolmonari non esiste un protocollo standardizzato per l'analisi coprologica quantitativa, ma la somiglianza tra i nostri risultati e quelli di studi precedenti, suggerisce la validità della metodica utilizzata per stimare l'entità delle infestazioni broncopolmonari.

Possiamo quindi affermare che l'indagine parassitologica condotta sulla colonia della Marmolada ha evidenziato la presenza di strongili broncopolmonari nello stambecco alpino. I quattro generi riscontrati sono sovrapponibili a quelli riportati precedentemente in letteratura, con *Muellerius* che domina rispetto agli altri protostrongilidi. Inoltre anche nel nostro caso non sono state riscontrate larve del genere *Dictyocaulus*.

Per alcuni generi, l'interazione ospite-parassita è influenzata in maniera significativa dal mese di campionamento, dal sesso e dalla classe d'età.

La presenza di questa malattia parassitaria non sembra comunque in grado di alterare in maniera decisiva lo stato di salute generale della popolazione, si tratta quindi di parassiti "ben adattati" che provocano un danno limitato ai loro ospiti.

Ulteriori indagini sarebbero utili per ampliare le conoscenze (ancora scarse) sulla comunità dei parassiti broncopolmonari e sui loro ospiti intermedi.

BIBLIOGRAFIA

ACEVEDO P., VICENTE J., ALZAGA V. & GORTAZAR C., 2005. Relationship between bronchopulmonary nematode larvae and relative abundances of Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) from Castilla-La Mancha, Spain. *Journal of Helminthology*. 79(2): 113-118.

ALASAAD S., MORRONDO P., DACAL-RIVAS V., SORIGUER R.C., GRANADOS J.E., SERRANO E., ZHU X. Q., ROSSI L. & PEREZ J.M., 2009. Bronchopulmonary nematode infection of *Capra pyrenaica* in the Sierra Nevada massif, Spain. *Veterinary Parasitology*. 164(2-4): 340-343.

ALBON S. D., STIEN A., IRVINE R. J., LANGVATH R., ROPSTAD E. & HALVORSEN O., 2002. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceedings of the Royal Society*. 269(1500): 1625–1632.

AMBROSI M., 1995. *Parassitologia zootecnica*. Edagricole, Bologna, Italy.

ANDERSON R.C., 2000. *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. 2nd ed. Wallingford, Oxon (UK): CABI Publishing.

ANDERSON R.C., CHABAUD A.G. & WILLMOTT S., 2009. *Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates: Archival Volume*. CABI Publishing, Wallingford, UK.

ANDREWS J.R.H., 1969. *A Guide to the Identification of Helminth Parasites Recorded from Wild Ruminants in New Zealand*. Zoology Department, Victoria University of Wellington. Part of *Tuatara* : *Journal of the Biological Societ*. Volume 17. Issue 2.

APOLLONIO M., GIACOMETTI M., LANFRANCHI P., LOVARI S., MENEGUZ P.G., MOLINARI P., PEDROTTI L., PERCO F., TOSI G., TOSO S. & VIGORITA V., 2009. Piano di conservazione, diffusione e gestione dello stambecco sull'arco alpino italiano. Provincia di Sondrio. Settore Agricoltura e Risorse Ambientali.

BALBO T., COSTANTINI R. & PERACINO V., 1975. Diffusion of pulmonary Nematoda in the steinbock (*Capra ibex*) and the chamois (*Rupicapra rupicapra*) at the Gran Paradiso National Park and the di Valdieri Reservation. *Parassitologia*. 17(1-3): 65-8.

BALBO S.M., Le strongilosi gastrointestinali e broncopolmonari dei ruminanti domestici. [<http://www1.inea.it/arssa/balbo.html>].

BOCCAZZI-VAROTTO A., 1977. Lo stambecco il lupo & l'orso e gli altri animali dei parchi nazionali italiani tra mito leggenda e realtà. Priuli & Verlucca, Ivrea, Italy.

BOWMAN D.D., 2009. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 9th ed. Elsevier Health Sciences, Amsterdam, Netherlands.

CARNEVALI L., PEDROTTI L., RIGA F. & TOSO S., 2009. Banca Dati Ungulati: Status, distribuzione, consistenza, gestione e prelievo venatorio delle popolazioni di Ungulati in Italia. Rapporto 2001-2005. *Biol. Cons. Fauna*, 117:1-168.

CARRENO R.A., DIEZ-BAÑOS N., HIDALGO-ARGUELLO M.d.R. & NADLER S.A., 2009. Characterization of *Dictyocaulus* species (Nematoda: Trichostrongyloidea) from three species of wild ruminants in northwestern Spain. *Journal of Parasitology* 95(4): 966-970.

CARRENO R.A. & HOBERG E.P., 1999. Evolutionary relationships among the protostrongylidae (Nematoda: Metastrongyloidea) as inferred from morphological

characters, with consideration of parasite-host coevolution. *The Journal of parasitology*. 85(4): 638-648.

CARRENO R.A. & NADLER S.A., 2003. Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Parasitology*. 89(5): 965-973.

CASAROSA L., 1985. *Parassitologia degli animali domestici*. CEA: Casa Editrice Ambrosiana, Milano, Italy.

CHILTON N.B., HUBY-CHILTON F., GASSER R.B. & BEVERIDGE I., 2006. The evolutionary origins of nematodes within the order Strongylida are related to predilection sites within hosts. *Molecular phylogenetics and evolution*. 40(1): 118-128.

CRINGOLI G., RINALDI L., MAURELLI M.P. & UTZINGER J., 2010. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols*. 5(3): 503-515.

CROFTON H.D., 1971. A quantitative approach to parasitism. *Parasitology*. 62: 179-193.

DECRISTOPHORIS P.M.A., VON HARDENBERG A. & MC ELLIGOTT A., 2007. Testosterone is positively related to the output of nematode eggs in male Alpine ibex (*Capra ibex*) faeces. *Evolutionary Ecology Research*. 9(8): 1277-1292.

DEMARTINI J.C. & DAVIES R.B., 1977. An epizootic of pneumonia in captive bighorn sheep infected with *Muellerius* sp. *Journal of wildlife diseases*. 13(2): 117-124.

DOUGHERTY E.C., 1951. A further revision in the classification of the family Metastrongylidae Leiper [1909] (Phylum Nematoda). *Parasitology*. 41(1-2): 91–96.

DURETTE-DESSET M.C. & CHABAUD A.G., 1993. Nomenclature des Strongylida au-dessus du groupe-famille. *Annales de parasitologie humaine et comparée*. 68(2): 111–112.

EZENWA V.O., HINES A.M., ARCHIE E.A., HOBERG E.P., ASMUNDSSON I.M. & HOGG J.T., 2010. *Muellerius capillaris* Dominates the Lungworm Community of Bighorn. *Journal of Wildlife Diseases*. 46(3): 988–993.

FESTA-BIANCHET M., 1988. Nursing behaviour of bighorn sheep: correlates of ewe age, parasitism, lamb age, birthdate and sex. *Animal Behaviour*. 36(5): 1445–1454.

FOREYT B., 2001. *Veterinary Parasitology Reference Manual*. 5th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 88-89.

GENCHI C., BOSSI A. & FRIGO W., 1986. Interazione tra ruminanti selvatici e domestici nella epidemiologia delle elmintiasi. *Ann. Ist. Sup. Sanità*. 22: 95-102.

GENCHI M., TRALDI G. & GENCHI C., 2010. *Manuale di parassitologia veterinaria*. prima ed. CEA: Casa Editrice Ambrosiana, Milano, Italy.

GIBSON D.I., BRAY R.A. & HARRIS E.A. (compilers), 2005. *Host-Parasite Database of the Natural History Museum*. London
[<http://www.nhm.ac.uk/research-curation/scientific-resources/taxonomy-systematics/host-parasites/database/index.jsp>].

GUERRA L., 2010. Analisi dell'andamento post-epidemico di una colonia di stambecchi (*Capra ibex*) affetta da rogna sarcoptica. Tesi di laurea, Università degli studi di Padova.

GULLAND F.M., 1997. The impact of parasites on wild animal populations. *Parassitologia*. 39(4): 287-291.

HALVORSEN O. & BYE K., 1999. Parasites, biodiversity, and population dynamics in an ecosystem in the high arctic. *Veterinary Parasitology*. 84(3-4): 205-227.

HOBY S., SCHWARZENBERGER F., DOHERR M.G., ROBERT N. & WALZER C., 2006a. Steroid hormone related male biased parasitism in chamois, *Rupicapra rupicapra rupicapra*. *Veterinary parasitology*. 138(3-4): 337-348.

HOBY S., WALZER C., SLOTTA-BACHMAYR L., SEGNER L. & ROBERT N., 2006b. Untersuchungen zur Pathologie von Wildungulaten im Nationalpark Hohe Tauern, Österreich. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 93: 104-112.

HÖGLUND J., MORRISON D.A., DIVINA B.P., WILHELMSSON E. & MATTSSON J.G., 2003. Phylogeny of *Dictyocaulus* (lungworms) from eight species of ruminants based on analyses of ribosomal RNA data. *Parasitology*. 127(2): 179-187.

JONES L.C. & WORLEY D.E., 1997. Use of fenbendazole for long-term control of protostrongylid lungworms in free-ranging Rocky Mountain bighorn sheep. *Journal of wildlife diseases*. 33(2): 365-367.

KASSAI T., TAKATS C. & REDL P., 1988. Activity of luxabendazole against liver flukes, gastrointestinal roundworms, and lungworms in naturally infected sheep. *Parasitology Research*. 75(1): 14-18.

KUCHBOEV A.E. & HOBERG E.P., 2011. Morphological and ultrastructural changes in tissues of intermediate and definitive hosts infected by Protostrongylidae. *Turkish Journal of Zoology*. 35(1): 1-7.

KUCHBOEV A.E., KARIMOVA R.R., RUZIEV B.K. & AZIMOV D.A., 2012. Ecological aspects of nematodes of the family Protostrongylidae, parasites of Bovidae. *Scientia Parasitologica*. 13(1): 17-25.

MALONE F.E., 2008. Parasitic bronchitis and pneumonia, in *Diseases of Sheep*, Fourth Edition (ed I.D. Aitken), Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK. p. 236-238.

MANFREDI M.T., ZAFFARONI E., FRAQUELLI C. & BONICALZI A., 1996. Diffusione del parassitismo broncopolmonare nello Stambecco (*Capra i. ibex*) del Piz Albris. *Ricerche di biologia della selvaggina*. Suppl.24: 97-104.

MARCATO P.S., 1988. *Patologia Respiratoria Animale*. Bologna: Edagricole.

MARREROS N., FREY C.F., WILLISCH C.S., SIGNER C. & RYSER-DEGIORGIS M.P., 2012. Coprological analyses on apparently healthy Alpine ibex (*Capra ibex ibex*) from two Swiss colonies. *Veterinary Parasitology*. 186: 382-389.

McKENNA P.B., 1999. Comparative evaluation of two emigration/sedimentation techniques for the recovery of dictyocaulid and protostrongylid larvae from faeces. *Veterinary parasitology*. 80(4): 345-351.

MEANA A., LUZÓN-PEÑA M., SANTIAGO-MORENO J., DE BULNES A. & GÓMEZ-BAUTISTA M., 1996. Natural infection by gastrointestinal and bronchopulmonary nematodes in mouflons (*Ovis musimon*) and their response to netobimin treatment. *Journal of Wildlife Diseases*. 32(1): 39-43.

MIGNATTI A., CASAGRANDI R., PROVENZALE, A., VON HARDENBERG A., & GATTO M., (2012). Sex-and age-structured models for Alpine ibex *Capra ibex* ibex population dynamics. *Wildlife Biology*. 18(3): 318-332.

NOCTURE M., CABARET J. & HUGONNET-CHAPELLE L., 1998. Protostrongylid nematode infection of chamois (*Rupicapra rupicapra*) at the Bauges massif (French Alps). *Veterinary Parasitology*. 77: 153-161.

OBBER F., 2013. Principali patologie degli ungulati e monitoraggio dello stato sanitario delle popolazioni selvatiche - parte I e II - in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. [<http://www.provincia.vicenza.it/ente/la-struttura-della-provincia/servizi/caccia/corsi-di-specializzazione-venatoria>].

PANAYOTOVA-PENCHEVA M.S., 2006. New records of protostrongylid lungworms from wild ruminants in Bulgaria. *Veterinari Medicina*. 51(10): 477-484.

PANAYOTOVA-PENCHEVA M.S. & ALEXANDROV M.T., 2010. Some Pathological Features of Lungs from Domestic and Wild Ruminants with Single and Mixed Protostrongylid Infections. *Veterinary Medicine International*. Article ID 741062, 9 pages. doi:10.4061/2010/741062.

PARRINI F., CAIN J.W. & KRAUSMAN P.R., 2009. *Capra ibex* (Artiodactyla: Bovidae). *Mammalian Species* 830:1–12.

PEDROTTI L., SOTTI F., ANDINA G., MUSTONI A., ZIBORDI F. & BONETTINI A., 2008. *Lo stambecco*. Breno: Parco dell'Adamello.

PERKINS S. E., CATTADORI I. M., TAGLIAPIETRA V., RIZZOLI A. P. & HUDSON P. J., 2003. Empirical evidence for key hosts in persistence of a tick-borne disease. *International Journal for Parasitology*. 33: 909-917.

POLLEY L. & HORNING B., 1977. The Lungworm *Spiculocaulus austriacus* (Gebauer, 1932) Dougherty and Goble, 1946 in Chamois (*Rupicapra rupicapra*) in Switzerland. *Revue Suisse De Zoologie*. 84(3): 675-680.

PUCCINI V., 1992. Guida alle malattie parassitarie degli animali domestici. terza ed. Edagricole, Bologna, Italy.

PYBUS M.J. & SHAVE H., 1984. *Muellerius capillaris* (Mueller, 1889) (Nematoda: Protostrongylidae): an unusual finding in Rocky Mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis* Shaw) in South Dakota. *Journal of Wildlife Diseases*. 20(4): 284-288.

REGASSA A., TOYEB M., MEGERSA B., MEKIBIB B., MEKURIA S., DEBELA E. & ABUNNA F., 2010. Lungworm infection in small ruminants: prevalence and associated risk factors in Dessie and Kombolcha districts, northeastern Ethiopia. *Veterinary Parasitology*. 169(1-2): 144-148..

REHBEIN S. & VISSER M., 2002. Efficacy of ivermectin delivered via a controlled-release capsule against small lungworms (Protostrongylidae) in sheep. *Journal of Veterinary Medicine Series B-infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 49(7): 313-316.

RINALDI L., MAURELLI M. P., MUSELLA V., SANTANIELLO A., COLES G. C. & CRINGOLI G., 2010. FLOTAC: an improved method for diagnosis of lungworm infections in sheep. *Veterinary Parasitology*. 169(3-4): 395-398.

SCILLITANI L., 2011. Ecology of Alpine ibex (*Capra ibex ibex*, Linnaeus 1758) in relation to management actions in the Marmolada massif, Italy. Tesi di dottorato, Università degli studi di Padova.

SCILLITANI L., STURARO E. & RAMANZIN M., 2009. Il progetto “Stambecco Marmolada”. Relazione finale sul monitoraggio: maggio 2006-maggio 2009. Safari Club International-Italian Chapter.

[<http://www.safariclub.it/Conservation/stambecco.htm>].

SILVESTRI A., 1983. Lo stambecco delle Alpi. Studio zoologico divulgativo sulla Capra ibex. Volume 64 di Collana verde. Ministero dell'agricoltura e delle foreste. Direzione generale per l'economia montana e per le foreste, Roma, Italy.

SMITH T.M. & SMITH R.L., 2007. Elementi di ecologia. Pearson Education, Milano, Italy.

SOULSBY E.J.L., 1968. Helminths, Arthropods & Protozoa of Domesticated Animals (sixth Edition of Monning's Veterinary Helminthology & Enomology). 6th ed. English LanguageBook Society and Bailliere, London, UK.

SPAGNESI M. & DE MARINIS A.M., 2002. Mammiferi d'Italia. Quad. Cons. Natura, 14, Min. Ambiente - Ist. Naz. Fauna Selvatica.

STEFANCIKOVA A., CHOVANCOVA B. & HAJEK B., 2010. Ecological conditions for lungworm infections of chamois in the Tatra National Parks. *Galemys: Boletín informativo de la Sociedad Española para la conservación y estudio de los mamíferos*. Ejemplar dedicado a: V Congreso Mundial sobre Ungulados de Montaña. 22(1): 81-101

TAYLOR M.A., COOP R.L. & WALL R.L., 2007. Veterinary Parasitology. 3rd ed. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

TODD K.S., LEVINE N.D. & ANDERSEN F.L., 1970. An evaluation of the Baermann technic using infective larvae of *Haemonchus contortus*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 37(1): 57-63.

URQUHART G.M., ARMOUR J., DUNN A.M. & JENNINGS F.W., 2007. *Parassitologia veterinaria*. UTET, Torino, Italy.

USAI F., 2011. *Epidemiologia delle strongilosi dell'asino: quali applicazioni per il controllo delle infezioni da elminti?* Tesi di dottorato, Università degli studi di Bologna.

VAN WYK J.A., CABARET J. & MICHAEL L.M., 2004. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Veterinary Parasitology*. 119(4): 277-306.

WILSON D.E. & REEDER D.M., 2005. *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore. (Available from Johns Hopkins University Press [<http://www.press.jhu.edu>]).

WILSON K., BJORNSTAD O. N., DOBSON A. P., MERLER S., POGLAYEN G., RANDOLPH S. E., READ A. F. & SKORPING A., 2002. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. In *The ecology of wildlife diseases*. Oxford University Press. p. 6-44.

WOOLHOUSE M. E., DYE C., ETARD J. F., SMITH T., CHARLWOOD J. D., GARNETT G. P., HAGAN P., HII J. L., NDHLOVU P. D., QUINNELL R. J., WATTS C. H., CHANDIWANA S. K. & ANDERSON R. M., 1997. Heterogeneities in the transmission of infectious agents: Implications for the design of control programs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 94: 338-342.

ZINTL A., GRAY J.S., SKERRETT H.E. & MULCAHY G., 2005. Possible mechanisms underlying age-related resistance to bovine babesiosis. *Parasite Immunology*. 27(4): 115-120.

RINGRAZIAMENTI

Per prima cosa desidero ringraziare i miei genitori e le mie sorelle per avermi permesso di raggiungere questo traguardo, senza il loro sostegno sicuramente non avrei potuto continuare a seguire il mio sogno. Spero di averli resi orgogliosi.

Un grazie speciale va a Fabio, per aver sopportato lunghe serate di studio e weekend a casa, per avermi consolato nei momenti bui e condiviso con me ogni successo, per aver cercato sempre una soluzione ad ogni problema e per avermi insegnato che non esiste ostacolo insormontabile.

Ringrazio Beatrice, una delle poche persone che possa davvero capire il senso di questo percorso e quindi la gioia di questo momento. Senza di lei non sarebbe stato lo stesso e probabilmente non sarei arrivata fin qui.

Grazie anche a Jessica per le lunghe passeggiate “con i tati” in cui ha ascoltato innumerevoli sfoghi. Spero che quest’abitudine possa continuare per sempre e che tutti i nostri progetti si possano un giorno realizzare.

Ringrazio di cuore anche il dott. Rudi Cassini, per essere stato un relatore sempre presente e paziente, il dott. Enrico Sturaro per la disponibilità e i preziosi consigli, il dott. Antonio Frangipane per l’aiuto durante la laboriosa fase di identificazione delle larve e la dott.ssa Cinzia Tessarin per aver reso piacevoli le giornate in laboratorio.

Grazie ancora a:

Nonna Teresa, per aver sempre creduto in me;

Emilia, per avermi fatto vedere la luce alla fine del tunnel, anche quando ero persa;

Matteo per aver condiviso con me questa bellissima esperienza;

Corin, per avermi permesso di ritrovare la passione in questo lavoro quando i libri mi avevano fatto dimenticare perché avevo intrapreso questa strada.

E infine un grazie sincero va a Shanon, Maysha e Warandes, i migliori modelli anatomici che un veterinario possa desiderare.