

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE SPERIMENTALI VETERINARIE



TESI DI LAUREA
IN MEDICINA VETERINARIA

**INDAGINE PARASSITOLOGICA IN UN CANILE
DELLA PROVINCIA DI UDINE**

Relatore: dott. ANTONIO FRANGIPANE DI REGALBONO

Correlatori: dott.ssa PAOLA BERALDO
dott.ssa PATRIZIA DANESI

Laureanda: FEDERICA MATTIAZZI

ANNO ACCADEMICO 2010-2011

Ai miei genitori

INDICE

PARTE GENERALE

Capitolo 1.	
INTRODUZIONE	11
Capitolo 2.	
ASPETTI NORMATIVI	15
Capitolo 3.	
GESTIONE SANITARIA DEI CANI TROVATI VAGANTI	21
5.1 TRATTAMENTI PROFILATTICI	21
5.1 STATISTICHE	22
Capitolo 4.	
PRINCIPALI MALATTIE PARASSITARIE DEL CANE	25
4.1 MALATTIE DA ELMINTI	26
4.1.1 Ascaridiosi	26
EZIOLOGIA	26
CICLO BIOLOGICO	27
PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	28
DIAGNOSI	30
LOTTA	31
4.1.2 Anchilostomosi	33
EZIOLOGIA	33
CICLO BIOLOGICO	34
PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	35
DIAGNOSI	38
LOTTA	38
4.1.3 Tricocefalosi	39
EZIOLOGIA	39
CICLO BIOLOGICO	40
PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	41
DIAGNOSI	41
LOTTA	41

4.1.4	Teniasi	42
4.1.4.1	Echinococcosi idatidosi	43
	EZIOLOGIA	43
	CICLO BIOLOGICO	44
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	44
	DIAGNOSI	46
	LOTTA	46
4.1.4.2	Dipilidiosi	48
	EZIOLOGIA	48
	CICLO BIOLOGICO	48
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	49
	DIAGNOSI	49
	LOTTA	50
4.2	MALATTIE DA PROTOZOI	50
4.2.1	Coccidiosi	50
	EZIOLOGIA	50
	CICLO BIOLOGICO DI <i>ISOSPORA</i>	50
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	51
	DIAGNOSI	52
	LOTTA	52
4.2.2	Giardiosi	53
	EZIOLOGIA	53
	CICLO BIOLOGICO	55
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	56
	DIAGNOSI	58
	LOTTA	59
4.2.3	Criptosporidiosi	60
	EZIOLOGIA	60
	CICLO BIOLOGICO	61
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	61
	DIAGNOSI	63
	LOTTA	63
4.3	MALATTIE DA ARTROPODI	64
4.3.1	Pediculosi	64
	EZIOLOGIA	64
	CICLO BIOLOGICO	65
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	65
	DIAGNOSI	66
	LOTTA	66
4.3.2	Pulicosi	66
	EZIOLOGIA	66
	CICLO BIOLOGICO	67
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	68
	DIAGNOSI	70
	LOTTA	70

4.3.3	Infestazioni da zecche	71
	EZIOLOGIA	71
	CICLO BIOLOGICO	71
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	73
	DIAGNOSI	74
	LOTTA	74
4.3.4	Infestazioni da acari	75
4.3.4.1	Rogna sarcoptica	76
	EZIOLOGIA	76
	CICLO BIOLOGICO	76
	PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA	76
	DIAGNOSI	77
	LOTTA	78
4.3.4.2	Rogna demodettica	79
	EZIOLOGIA	79
	CICLO BIOLOGICO	79
	PATOGENESI E SINTOMATOLGIA	79
	DIAGNOSI	80
	LOTTA	80
4.4	DERMATOFITOSI	81
	EZIOLOGIA	81
	CLASSIFICAZIONE DERMATOFITI	82
	MORFOLOGIA E RIPRODUZIONE	83
	PATOGENESI	85
	SINTOMATOLOGIA	87
	DIAGNOSI	88
	LOTTA	90

PARTE SPERIMENTALE

Capitolo 5.

MATERIALI E METODI95

5.1 TERRITORIO DI INDAGINE95

5.2 MODALITÀ DI PRELIEVO96

5.3 ESAMI EFFETTUATI.....99

5.3.1 Esame copromicroscopico delle feci99

5.3.2 Immunofluorescenza diretta per la ricerca di *Giardia* e *Cryptosporidium*
nei campioni fecali99

5.3.3 Analisi molecolari103

5.3.4 Esame colturale per la ricerca di dermatofiti107

Capitolo 6.

ELABORAZIONE DEI DATI111

Capitolo 7.

RISULTATI113

7.1 DESCRIZIONE DELLA POPOLAZIONE113

7.2 POSITIVITÀ AGLI ESAMI COPROMICROSCOPICI115

7.3 POSITIVITÀ AI TEST IFA E PCR.....116

7.4 RICERCA DI DERMATOFITI117

7.5 ANALISI DEI FATTORI DI RISCHIO117

Capitolo 8.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE121

BIBLIOGRAFA125

PARTE GENERALE

Capitolo1.

INTRODUZIONE

Quasi una famiglia italiana su due convive con un animale domestico e più di una su tre con un cane o un gatto.

Il rapporto con gli animali domestici, tuttavia, in molti casi è basato sull'improvvisazione e sull'emotività; nel pensiero comune prevale la convinzione che tutti possono essere in grado di gestire un cane, indipendentemente dalle conoscenze rispetto a tale specie animale, che riguardano gli aspetti sia sanitari che etologici.

Il positivo aumento della sensibilità nei confronti degli animali registrato in questi ultimi decenni è solo parzialmente andato di pari passo con la consapevolezza della necessità di acquisire informazioni e cognizioni sui diritti dell'animale e sui doveri in carico a colui che vive in compagnia di un animale domestico.

Tuttavia il rapporto con il cane non è intuitivo: talvolta le persone tendono a "umanizzare" il proprio cane causandogli inconsapevolmente problemi comportamentali e stati di sofferenza, altre volte tendono ad approcciarlo come uno dei tanti oggetti che riempiono la loro vita, un giocattolo o una macchina, senza tener conto dei suoi bisogni etologici e dei suoi diritti in quanto essere senziente. Da questo punto di vista, ogni proprietario dovrebbe:

- conoscere gli obblighi di legge: per esempio obbligo di far microcippare il proprio cane da un Medico Veterinario e iscriverlo contestualmente all'anagrafe canina; obbligo di munire di passaporto il proprio animale (cane, gatto o furetto), se si intende superare i confini nazionali;
- operare un'attenta gestione della vita riproduttiva del proprio animale, per non incrementare il numero degli abbandoni determinati da cucciolate indesiderate e di difficile collocazione. Non bisogna dimenticare mai che la sorte di molti cuccioli rischia di essere il canile, la strada, la fame, le malattie, i maltrattamenti, la morte. Spesso non si può dare per certa neanche la sistemazione dei cuccioli presso parenti

ed amici, si rischia infatti che gli affidi si tramutino in abbandoni.

Dai dati rilevati sul territorio nazionale risulta che in molte regioni, soprattutto del Sud, il fenomeno del randagismo ha raggiunto livelli drammatici ed è spesso fuori controllo.

I cani abbandonati continuano ad alimentare la popolazione vagante. Inoltre molte femmine gravide partoriscono ed i cuccioli che non muoiono di stenti, diventando adulti, rappresentano un ulteriore serbatoio di randagi.

Alcuni di questi cani inoltre sono poco socializzati con l'uomo e si trasformano in soggetti "inselvaticiti" il cui controllo è più problematico, soprattutto quando si riuniscono in branchi.

I cani vaganti sul territorio, singoli od in branchi, possono:

- rappresentare un potenziale rischio di aggressione per le persone;
- essere causa di incidenti stradali; ogni anno si registrano centinaia di incidenti stradali, anche mortali, causati da animali randagi: "chi abbandona un cane, dunque, non solo commette un reato penale (legge 189/2004), ma potrebbe rendersi responsabile di omicidio colposo";
- arrecare danni al bestiame domestico allevato;
- arrecare danni agli animali selvatici.

Possono inoltre rappresentare un importante problema di sanità e igiene pubblica, essendo potenziali serbatoi e veicoli di malattie infettive e parassitarie, alcune delle quali trasmissibili all'uomo, in quanto non sottoposti ad alcun controllo sanitario.

Infatti, come conseguenza di una stretta coesistenza uomo/animale nell'ambiente antropizzato, è possibile una trasmissione diretta, animale sinantropico/uomo, ma anche indiretta, animale sinantropico/animale domestico/uomo, di diverse zoonosi.

Particolare attenzione va posta al problema della contaminazione ambientale da parte di agenti eziologici di malattie parassitarie (ad esempio Ascaridiosi, Giardiosi, Ancylostomosi) che mettono a rischio la salute sia dell'uomo che degli animali.

Questo come conseguenza del fenomeno della fecalizzazione ambientale cittadina, consistente nella contaminazione del suolo urbano (soprattutto giardini pubblici, aiuole, parchi giochi) con le feci indesiderate di cani e gatti.

Tale problematica chiama in causa non solo i Veterinari liberi professionisti, che in

collaborazione con i proprietari si occupano della salute degli animali d'affezione, ma anche i Medici Veterinari dell'Azienda Sanitaria che, in collaborazione con i volontari delle associazioni zoofile, si occupano dello stato di salute degli animali liberi o randagi.

Il presente studio vuole fornire uno spaccato, seppur non esaustivo, della situazione del randagismo canino e delle condizioni sanitarie degli animali recuperati presso il Canile contumaciale del Comune di Udine per quanto riguarda le principali parassitosi del cane, analizzando eventuali fattori di rischio e indagando sulla presenza delle cosiddette zoonosi emergenti.

Lo studio si basa su campioni raccolti nel corso di due anni tra gli animali randagi o di proprietà catturati dai Servizi Veterinari dell'ASS n°4 "Medio Friuli" e albergati presso il canile sanitario in gestione all'azienda. Si tratta dunque di animali che non vivono all'interno del canile ma provengono da realtà diverse, quali le famiglie, la strada, ecc.

Capitolo 2.

ASPETTI NORMATIVI

La normativa vigente prevede il controllo della popolazione canina mediante la limitazione delle nascite.

La finanziaria 2007 ha stabilito che le Regioni e le Province, nell'ambito della programmazione regionale, devono dare priorità ai piani di controllo delle nascite destinando una quota non inferiore al 60% delle risorse stanziato per la lotta al randagismo alle sterilizzazioni, dove necessario, ovvero ad altre iniziative intese a prevenire il fenomeno del randagismo.

L'obbligo della sterilizzazione dei cani randagi deriva dalla necessità di elaborare una politica di controllo delle nascite al fine di ridurre il fenomeno del randagismo e il sovraffollamento nei canili; sarebbe tuttavia auspicabile che tale pratica trovasse maggiore diffusione anche tra i cani di proprietà.

La sterilizzazione sia dei maschi che delle femmine ha come obiettivi fondamentali:

- la lotta al randagismo;
- la prevenzione di neoplasie e altre malattie dell'apparato genitale (es. tumore mammario, tumore testicolare, prostatite, carcinoma alla prostata, endometrite, piometra, carcinoma ovarico, pseudogavidanza, mastiti).

Le regioni sono tenute, sentite le associazioni animaliste, protezioniste e venatorie che operano in ambito regionale, ad adottare un programma di prevenzione del randagismo.

Lo Stato, da parte sua, ha istituito, con la legge 14 agosto 1991 n. 281, un fondo per la tutela del benessere e per la lotta all'abbandono degli animali da compagnia.

Le disponibilità del fondo vengono ripartite dal Ministero, con proprio decreto, annualmente tra le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano.

Il Ministero individua le quote di ripartizione. Le Regioni e le Province autonome devono individuare, nell'ambito della programmazione regionale, le priorità di intervento elaborando il piano operativo di prevenzione del randagismo. Nella programmazione

devono dare, come previsto dalla legge finanziaria 2007, priorità ai piani di controllo delle nascite destinando risorse alle sterilizzazioni.

Molto importanti risultano essere due leggi riguardanti specificatamente la tutela degli animali d'affezione e la prevenzione del randagismo:

1) Legge Regionale n. 39 del 04 settembre 1990

“Norme a tutela degli animali domestici per il controllo e la prevenzione del fenomeno del randagismo. Istituzione dell’anagrafe canina”.

(Bollettino ufficiale della Regione Friuli Venezia Giulia n. 108 del 05/09/1990)

2) Legge quadro n° 281 del 14 agosto 1991

In materia di animali di affezione e prevenzione del randagismo.

(Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana del 30 agosto 1991)

In particolare la **L.R. 39/90** stabilisce che:

Art. 1 Finalità

Punto 1: la presente legge promuove ed assume come finalità pubblica la tutela delle condizioni di vita degli animali domestici, nel quadro di un corretto rapporto uomo - animale - ambiente, anche attraverso l'educazione al rispetto degli stessi; favorisce il controllo e la riduzione del randagismo, ai sensi della legge 23 dicembre 1978, n. 833 e della legge regionale 13 luglio 1981, n° 43 attraverso l'istituzione dell’anagrafe canina regionale.

Punto 2: all'attuazione delle disposizioni della presente legge provvedono, nei rispettivi ambiti di competenza, la Regione, i Comuni e le Unità sanitarie locali con la collaborazione delle associazioni animaliste ed ambientaliste e degli enti zoofili.

Art. 2 Istituzione dell'anagrafe canina

Punto 1: è istituita l'anagrafe canina la cui organizzazione sul territorio regionale è affidata ai Comuni.

Art. 7 Divieto di abbandono degli animali

Punto 1: è vietato a chiunque abbandonare cani, gatti o altri animali domestici.

Punto 4: i cani vaganti ai quali non risulti apposto il codice di identificazione sono soggetti

alle procedure di cui agli articoli 3 e 4 a spese del proprietario o detentore e successivamente restituiti allo stesso.

Art. 8 Ritrovamento, cattura e soppressione

Punto 1: ferme rimanendo le disposizioni del Titolo II, Capo V del Regolamento di Polizia Veterinaria, approvato con DPR 8 febbraio 1954, n. 320, la cattura di animali domestici vaganti è ammessa per finalità di controllo anagrafico, sanitario e di controllo delle nascite.

Punto 2: la cattura per le finalità di cui al comma 1 è effettuata dal Settore Veterinario dell'Unità Sanitaria locale competente, avvalendosi di personale addestrato a ciò addetto o di soggetti convenzionati.

Punto 3: la cattura è effettuata con metodi indolori e tali da non arrecare danno all'animale.

Punto 4: i cani vaganti catturati, regolarmente tatuati, devono essere restituiti al proprietario o al detentore.

Punto 5: i cani ritrovati o catturati possono essere soppressi soltanto se gravemente ammalati ed incurabili. Devono in ogni caso essere usati metodi eutanasici. Alla soppressione provvedono esclusivamente i medici veterinari.

Punto 6: è fatto assoluto divieto di cedere i cani, a qualsiasi titolo detenuti, a chiunque possa farne uso per sperimentazioni o spettacoli.

Art. 9 Strutture di ricovero e custodia

Punto 1: i Comuni assicurano, in forma singola o mediante adeguate forme associative o di cooperazione, la custodia ed il mantenimento dei cani, ai sensi dell'articolo 7, presso strutture proprie o convenzionate tali da garantire condizioni di vita adeguate alla specie ed al benessere degli animali ricoverati.

La **Legge quadro n. 281/1991** stabilisce che:

Art. 1 Principi generali

Punto 1: lo Stato promuove e disciplina la tutela degli animali di affezione, condanna gli atti di crudeltà contro di essi, i maltrattamenti ed il loro abbandono, al fine di favorire la corretta convivenza tra uomo e animale e di tutelare la salute pubblica e l'ambiente.

Art. 2 Trattamento dei cani e di altri animali di affezione

Punto 4: i cani vaganti catturati, regolarmente tatuati, sono restituiti al proprietario o al detentore. Punto 5: i cani vaganti non tatuati catturati, nonché i cani presso le strutture di cui al comma 1 dell'articolo 4 devono essere tatuati; se non reclamati entro il termine di sessanta giorni possono essere ceduti a privati che diano garanzie di buon trattamento o ad associazioni protezioniste, previo trattamento profilattico contro la rabbia, l'echinococcosi e altre malattie trasmissibili.

Inoltre, l'Accordo 6 febbraio 2003 tra il Ministero della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano "in materia di benessere degli animali da compagnia e pet-therapy", al fine di ridurre il fenomeno del randagismo canino ha previsto una serie di misure quali:

1. l'introduzione del microchip come unico sistema ufficiale di identificazione dei cani, a decorrere dal 1° gennaio 2005;
2. la creazione di una banca dati informatizzata, su base regionale o provinciale;
3. l'attivazione di una banca dati nazionale istituita presso il Ministero della salute (Anagrafe canina nazionale), alla quale confluiscono i dati delle anagrafi regionali. Tale sistema nazionale consente la restituzione al proprietario degli animali che si sono persi, il monitoraggio della popolazione canina e del rilascio dei passaporti, concorrendo così a ridurre i cani vaganti e prevenire il fenomeno degli abbandoni.

L'Articolo 727 del Codice Penale è stato sostituito con il seguente:

(Abbandono di animali) - Chiunque abbandona animali domestici o che abbiano acquisito abitudini della cattività è punito con l'arresto fino ad un anno o con l'ammenda da 1.000 a 10.000 euro. Alla stessa pena soggiace chiunque detiene animali in condizioni incompatibili con la loro natura, e produttive di gravi sofferenze".

È obbligatorio provvedere all'identificazione e alla registrazione dei cani nell'Anagrafe canina del Comune di residenza o della ASL competente, in conformità alle disposizioni adottate dalle regioni e dalle province autonome di Trento e Bolzano e all'**Ordinanza del 6 agosto 2008** del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali.

Il proprietario o il detentore di un cane deve provvedere a far identificare e registrare l'animale nel secondo mese di vita.

Per l'identificazione deve essere applicato al cane un microchip contenente il codice identificativo con il quale viene poi registrato nell'anagrafe.

Dal 1 gennaio 2005 il microchip è diventato l'unico sistema identificativo nazionale, in sostituzione del tatuaggio. Il microchip è un piccolo dispositivo elettronico innocuo, di forma cilindrica di 11 millimetri di lunghezza e 2 millimetri di diametro, rivestito di materiale biocompatibile, che viene iniettato sotto la cute del cane dietro l'orecchio sinistro con una speciale siringa sterile monouso, al suo interno contiene un codice numerico che identifica inequivocabilmente il cane stesso.

Capitolo 3.

GESTIONE SANITARIA DEI CANI TROVATI VAGANTI

ASS 4 “Medio Friuli” – Provincia di Udine

I cani trovati vaganti sul territorio –smarriti o abbandonati- segnalati da privati cittadini, vengono prontamente recuperati dal servizio di cinovigilanza dell’Azienda Sanitaria ed ospitati temporaneamente presso il canile sanitario. Tale struttura rappresenta un luogo di breve detenzione dei cani, dove gli animali raccolti vengono visitati, iscritti all’anagrafe canina se non segnalati, e dove vengono effettuati i primi indispensabili trattamenti profilattici. I cani di proprietà regolarmente segnalati vengono restituiti ai legittimi proprietari, quelli non segnalati rimangono in attesa di un eventuale riscatto per 60 giorni, passati i quali possono essere riaffidati. Funge anche da ricovero per gli animali cosiddetti pericolosi, che qui rimangono in osservazione ed isolamento, e per i cani oggetto di sequestri (solitamente per maltrattamenti o irregolare/illegale importazione di cuccioli dall’estero).

3.1 TRATTAMENTI PROFILATTICI

All’arrivo dell’animale viene effettuata un’accurata visita clinica al fine di valutarne lo stato generale di salute; viene inoltre controllata la presenza o meno del microchip. Nel caso in cui l’animale risulti provvisto del suddetto dispositivo di identificazione si procede subito a rintracciare il proprietario; in caso contrario il cane viene subito microchippato.

Vengono effettuati i seguenti trattamenti profilattici:

- trattamento antiparassitario interno (prodotto utilizzato: Drontal plus);
- trattamento antiparassitario esterno (prodotto utilizzato: Frontline);
- vaccinazione polivalente.

Al decimo giorno inoltre viene effettuata la vaccinazione antirabbica, secondo quanto disposto dall'Ordinanza Ministeriale del 23 novembre 2009.

Trascorso il periodo di osservazione sanitaria (dieci giorni), il cane, se non è stato reclamato dal proprietario, viene trasferito presso la struttura convenzionata con il Comune di ritrovamento dell'animale, dove rimane finchè non trova una famiglia adottiva.

3.2 STATISTICHE

Nella tabella n°1 e nelle figure 1, 2 e 3 viene indicata la movimentazione dei cani nel periodo 2003-2010. Vengono presi in considerazione i cani entrati nella struttura (Ingressi), quelli trasferiti ad altri canili dopo il periodo contumaciale (Trasferiti), gli animali restituiti ai legittimi proprietari ed infine i deceduti (Soppressi e Morti in canile).

	Ingressi	Trasferiti	Restituiti	Soppressi	Morti in canile
2003	689	307	355	7	23
2004	797	343	423	15	18
2005	810	314	467	18	14
2006	920	357	538	18	9
2007	819	296	504	12	6
2008	801	292	468	12	9
2009	837	306	515	12	25
2010	785	222	552	9	4

Tabella 1. Movimentazione dei cani nel periodo 2003-2010.

I cani ospitati nel canile sanitario sono per la maggior parte animali trovati vaganti nel territorio di competenza dell'Azienda Sanitaria, ai quali si aggiungono animali sequestrati a privati cittadini per maltrattamenti vari, animali ritirati dai comuni per decesso dei rispettivi proprietari, cessioni di cani da parte di famiglie che, per diversi motivi, non possono più accudirli. Infine vengono ospitati i cuccioli sequestrati da importazioni clandestine, provenienti dai Paesi dell'Est Europeo (soprattutto dall'Ungheria).

Una volta entrati in canile, i cani che non vengono riscattati dai rispettivi proprietari possono o venire adottati da nuove famiglie che ne richiedano l'affidamento, oppure essere trasferiti in strutture (altri canili, rifugi) convenzionate con i singoli comuni. Esiste infine

una piccola percentuale di cani deceduti naturalmente all'interno della struttura (soprattutto per traumi da incidenti stradali), o mediante eutanasia (secondo la legge 281/91).

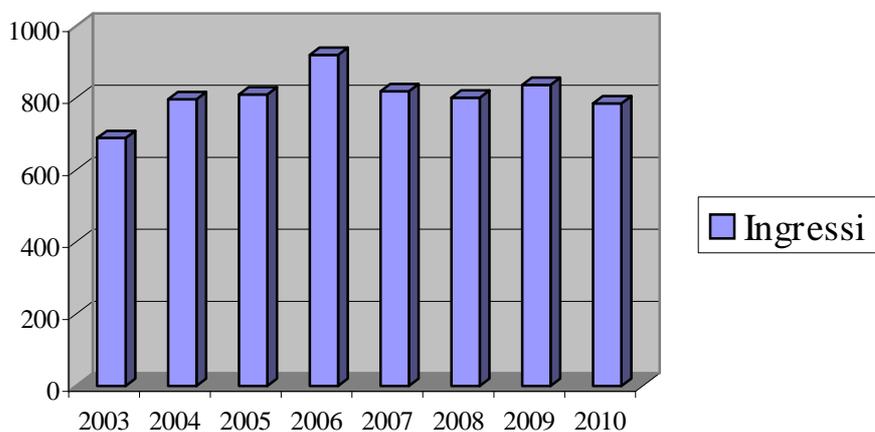


Figura 1. Movimentazione dei cani: ingressi dal 2003 al 2010.

Dalla figura si deduce che negli ultimi sette anni (dal 2003 al 2010) il numero di cani ospitati nella struttura è rimasto più o meno costante, a parte un lieve picco di entrate nel 2006.

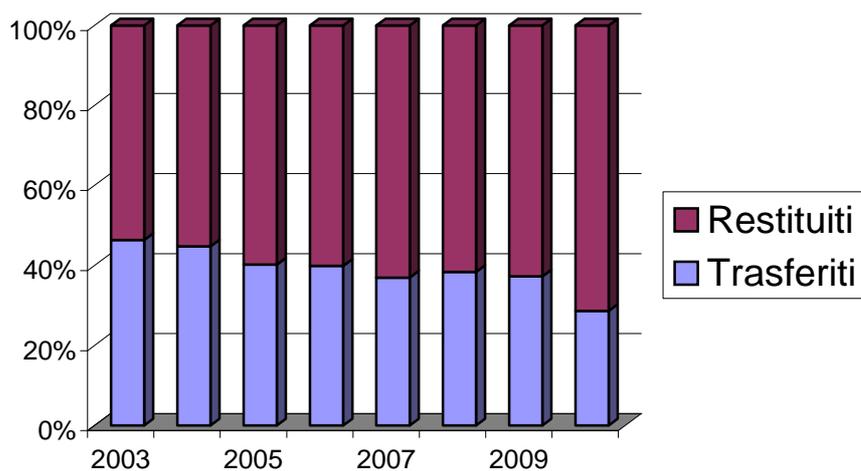


Figura 2. Movimentazione dei cani: restituiti e trasferiti dal 2003 al 2010.

Come si vede dalla figura 2, negli ultimi anni i cani che vengono trasferiti negli altri canili e rifugi sono in continuo diminuzione; questo vuol dire che la percentuale dei cani restituiti ai rispettivi proprietari è in continuo aumento.

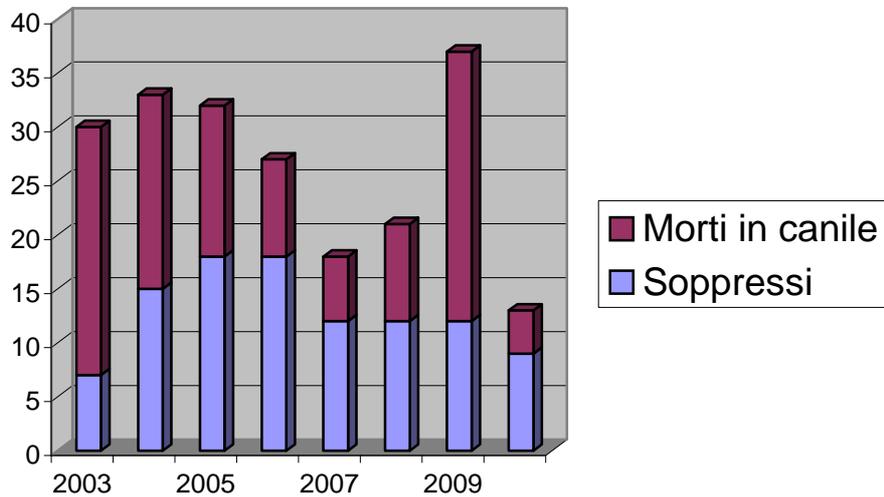


Figura 3. Movimentazione dei cani: morti in canile e soppressi.

Per quanto riguarda i decessi (figura 3), dal 2003 al 2005 si assiste ad un incremento dei cani soppressi mediante eutanasia; tale dato si stabilizza nel 2006 per poi calare dal 2006 al 2010. I cani invece deceduti in canile per motivi naturali sono dal 2003 al 2010 in continua diminuzione, eccetto un picco di decessi avvenuti nel 2009.

Capitolo 4.

PRINCIPALI MALATTIE PARASSITARIE DEL CANE

Molte sono le malattie parassitarie che interessano e colpiscono il cane; tra queste alcune sono zoonosi che colpiscono l'uomo e, quindi, di notevole interesse per la salute pubblica. Tra le principali parassitosi del cane ricordiamo:

1) Malattie da **elminti**:

- **Nematodi**: ascaridiosi, ancylostomosi, tricocefalosi;
- **Cestodi**: echinococcosi-idatidiosi, altre teniasi.

2) Malattie da **protozoi**:

- **Coccidiosi**;
- **Giardiosi**;
- **Criptosporidiosi**.

3) Malattie da **atropodi**:

- **Pediculosi**;
- **Pulicosi**;
- infestazioni da **zecche**;
- infestazioni da **acari**.

4) Malattie da **dermatofiti**.

4.1 MALATTIE DA ELMINTI

4.1.1 Ascaridiosi

EZIOLOGIA

L'ascaridiosi dei carnivori domestici, e in particolare nel cane, è diffusa e frequente in tutto il mondo ed è causata da nematodi che allo stadio adulto si localizzano nell'intestino tenue. Nel cane le specie più comuni sono *Toxocara canis* e *Toxascaris leonina*.

Come tutti i nematodi hanno un corpo cilindrico, non segmentato, assottigliato alle due estremità, fornito di un apparato digerente completo e caratterizzato dalla presenza di due sessi separati; i maschi generalmente sono più piccoli delle femmine che producono uova o larve.

La differenziazione delle due specie può essere difficile e l'unico carattere utile è la presenza di un piccolo processo digitiforme sulla coda di *T. canis*. Quest'ultimo raggiunge i 12 cm di lunghezza, è di colore biancastro, mentre *T. leonina* arriva a 10 cm ed è di colore bianco rosato.

Le uova di *T. canis* sono scure, sub globulari e con guscio spesso e rugoso (figura 4). Contengono una massa embrionale non ancora differenziata che occupa quasi totalmente il volume interno. Le uova di *T. Leonina* sono leggermente ovoidali (75-85 x 60-75 µm) con parete spessa e liscia; l'ammasso embrionale, ancora indifferenziato, non occupa la totalità del volume interno (figura 5).



Figura 4. Uovo di *T. canis*
(www.lookfordiagnosis.com).

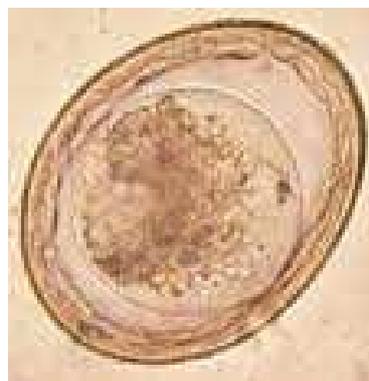


Figura 5. Uovo di *T. leonina*
(www.lookfordiagnosis.com).

CICLO BIOLOGICO

Gli adulti si accoppiano nell'intestino tenue, producendo da 10000 a 100000 uova al giorno, che resistono per mesi o anni una volta espulse con le feci. Se le condizioni di temperatura (25 – 27°C), umidità (85 – 95%) e ossigenazione lo permettono mutano nella forma larvale L1. Dunque la mutazione prosegue per lo stadio larvale L2 in condizioni di temperatura di 20 – 25°C in 2 settimane. L'ospite viene in contatto con le uova contenenti le forme infestanti L2 per via orale. Una volta raggiunto l'intestino, le uova si schiudono e le larve penetrano nella parete intestinale, raggiungono il circolo ematico e attraverso le vene mesenteriche raggiungono il fegato, lasciando profonde lesioni. Il ciclo continua con la migrazione verso cuore e polmoni, ove causano la rottura degli alveoli polmonari. Nella risalita dell'albero bronchiale mutano allo stadio larvale L3 e ritornano all'intestino per passaggio alla cavità orale e successiva deglutizione. Nei soggetti giovani il ciclo è completo, mentre al di sopra dei 6 mesi spesso le larve L2 si fermano in vari tessuti e organi inclusi fegato, polmone, cervello, cuore, muscolatura epischeletrica e parete del tratto intestinale, in uno stato di ipobiosi e nei maschi o nella cagna sterile possono rimanere per diversi mesi per poi morire. Nelle femmine gravide si abbassano le difese immunitarie e le larve si mobilitano 3 mesi circa prima del parto e per via transplacentare raggiungono il polmone del feto dove mutano a L3 dando luogo ad infestazioni prenatali. Dopo la nascita, le larve riprendono la migrazione e raggiungono la sede intestinale. Un'ulteriore forma di infestazione per il cucciolo è rappresentata dalle larve L3 eliminate dalla madre nel corso delle prime 3 settimane di lattazione. Queste larve si sviluppano nella forma adulta direttamente nella sede intestinale.

Altra modalità d'infestazione è rappresentata dall'ingestione di ospiti paratenici; alcuni animali (topi, uccelli), oggetto di predazione da parte del cane, possono infatti ingerire le uova infette ed albergare L2 quiescenti nei diversi tessuti. Nei cani che ingeriscono le L2 presenti nell'ospite paratenico sembra non si verificano fenomeni di migrazione e che si verifichi direttamente lo sviluppo di parassiti adulti a livello intestinale.

Il periodo di prepatenza, da larva infestante a parassita adulto sessualmente maturo, è di 40 – 45 giorni.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

Le manifestazioni cliniche nei cani dipendono da:

- Età dei soggetti (i cuccioli sono più sensibili);
- Stato immunitario;
- Carica infestante.

Le larve si limitano ad un'azione traumatica, che in casi gravi può manifestarsi con tosse, aumento del ritmo respiratorio e presenza di muco nasale spumoso, e veicolatrice d'infezioni secondarie. Gli adulti provocano un'azione sottrattiva (ipoproteinemia), ostruttiva e tossica (cataboliti e sostanze istamino - simili) ma non danno sintomatologia caratteristica a meno che non si tratti di un'infestazione massiva, caso in cui si manifestano disappetenza, addome a botte, pelo arruffato, diarrea, stipsi, nervosismo, crisi epilettiche, sintomi respiratori. A volte, dei parassiti possono essere vomitati o passare nelle feci. Possono verificarsi enteriti, occlusione parziale o completa dell'intestino e, in rari casi, la sua perforazione (con conseguenti peritoniti) o l'occlusione dei dotti biliari. Nei cuccioli interessati da una pesante infestazione transplacentare si può avere la morte a pochi giorni dalla nascita.

Nell'uomo

L'infestazione da *T. canis* è un'antropozoonosi a trasmissione indiretta. Nei parchi pubblici, nei campi da gioco, nei recinti dei canili, nei cortili delle città e in altri luoghi dove i cani defecano, possono essere presenti numerosissime uova infestanti di questo parassita. Anche piccole quantità di terra altamente infestata possono contenere uova di *T. canis*, che possono essere facilmente ingerite dalle dita imbrattate di terra.

La principale via di infestazione per l'uomo è rappresentata dall'ingestione accidentale di uova embrionate (con L2) dall'ambiente esterno, in particolare dal terreno (geofagia frequente soprattutto tra i bambini). Una seconda via di infestazione è rappresentata da assunzione di vegetali crudi (insalate, ortaggi, etc.) o frutta mal lavati e contaminati. Un'ulteriore fonte di trasmissione può essere l'acqua proveniente da pozzi contaminati con feci di cane; infine, il contagio può verificarsi anche in seguito al consumo di carne cruda o

poco cotta di ospiti paratenici (es. pollo, coniglio etc.) infestati.

Sulla base delle principali manifestazioni cliniche presenti si possono distinguere tre differenti forme di Toxocariasi:

- *larva migrans viscerale* (LMV);
- *larva migrans oculare* (LMO);
- *larva migrans encefalica* (LME).

Nel caso di LMV, la migrazione delle L2 attraverso i tessuti causa tragitti emorragico-necrotici (figura 6), caratterizzati da infiltrati linfocitari ed eosinofilici. Le larve possono arrestarsi in diversi distretti organici (es. fegato, polmone, etc.) e raggiungere anche le sedi oculare (LMO) ed encefalica (LME) con formazione di granulomi eosinofilici. La sindrome da LMV può manifestarsi con eosinofilia elevata, dolori addominali, epatomegalia, allergie, infiammazioni polmonari e talvolta miocarditi ed epilessie.

Colpisce soprattutto i bambini con meno di cinque anni di età e sembra essere causata dalla presenza di un numero elevato di larve.



Figura 6. Tragitto emorragico necrotico dovuto alla migrazione delle T2 (www.jano.es).

La LMO è caratterizzata dall'interessamento delle strutture visive. Si manifesta con alterazioni della vista a volte anche gravi: retinite granulomatosa, strabismo, endoftalmite, parziale perdita della capacità visiva e, nei casi più gravi, cecità totale. Compare a 3-13 anni d'età e somiglia, dal punto di vista oftalmologico, ad un retinoblastoma, ma può essere differenziato da questo con l'esame sierologico.

Si riscontra soprattutto a carico di bambini di età compresa fra i 5 e i 10 anni, ma anche

negli adulti e sembra essere dovuta alla presenza di un numero ridotto di larve.

Spesso le forme viscerali sono autolimitanti e non richiedono trattamento. In caso di sintomatologia manifesta, la somministrazione di corticosteroidi, benzimidazolici o ivermectina è efficace sia nei confronti della sindrome da LMV che da LMO.

DIAGNOSI

Durante l'anamnesi e la visita clinica si possono formulare diagnosi di sospetto basate sulla comparsa simultanea nella cucciolata di segni di polmonite nel corso delle prime due settimane di vita. Si può realizzare una prima valutazione macroscopica delle feci per evidenziare, ad occhio nudo, l'eventuale presenza di forme parassitarie adulte. La diagnosi certa si effettua, però, esclusivamente attraverso l'evidenziazione microscopica della presenza nelle feci delle uova, le quali, in base alle loro caratteristiche morfologiche, vengono identificate con certezza e attribuite alla specie di appartenenza. Per far ciò, si utilizza una metodologia che prevede una prima fase di sedimentazione per centrifugazione, seguita da una fase di flottazione con una soluzione di peso specifico 1300. Questa tecnica presenta per le uova del genere *Toxocara* una sensibilità del 100% e una specificità del 51%. L'attendibilità dei risultati è del 100% per quelli positivi e dell'81% per quelli negativi (Overgaauw, 1997).

Nei casi sospetti di Ascariidiosi, con esame coprologico negativo, per escludere in modo assoluto la presenza della malattia, si possono eseguire dei test sierologici (ELISA), che evidenziano l'eventuale presenza di anticorpi e/o antigeni specifici.

Nell'uomo una diagnosi diretta di Toxocariasi è difficilmente realizzabile sia perché i soggetti colpiti da tale patologia non eliminano elementi parassitari (uova o larve), sia perché l'evidenziazione delle larve migranti nel materiale biotico è estremamente difficoltoso. La diagnosi si basa, quindi, sull'impiego di test sierologici (ELISA) che ricercano l'eventuale presenza di anticorpi e antigeni circolanti.

LOTTA

L'ascaridiosi risulta essere un'importante malattia parassitaria che può colpire anche l'uomo.

Il controllo di questa parassitosi è molto difficile da realizzare, a causa di diversi motivi, fra cui:

- la larga diffusione della malattia fra gli animali e nell'ambiente;
- la lunga persistenza della possibilità di contagio nell'ambiente esterno, a causa delle uova larvate estremamente resistenti in condizioni ambientali avverse;
- l'esistenza nel ciclo biologico di questi parassiti di ospiti paratenici, che rappresentano un'ulteriore possibilità di contrarre la malattia sia per l'uomo che per gli animali.

Di conseguenza questa malattia deve essere oggetto di appropriati e funzionali programmi di profilassi sanitaria.

Tre sono i fattori principali su cui si deve agire a tal fine: animali, ambiente ed uomo.

ANIMALI: l'ascaridiosi è molto diffusa tra gli animali e numerosi possono essere gli eliminatori di forme parassitarie infestanti nell'ambiente. Inoltre, si deve ricordare che le femmine di ascaridi sono molto prolifiche ed emettono ogni giorno nell'ambiente, con le feci dell'animale che le ospita, un numero elevatissimo di uova. Quindi la diffusione ambientale di tale malattia è molto rapida e consistente. Per cercare di controllare e ridurre il più possibile tutto ciò, è di fondamentale importanza sottoporre a periodici controlli e a specifici trattamenti antielmintici gli animali stessi al fine di garantire loro un miglior stato di salute, ma soprattutto per prevenire il più possibile la contaminazione ambientale. Infatti è praticamente impossibile effettuare qualsiasi trattamento antielmintico sui cani randagi, che sono i potenziali responsabili della diffusione ambientale di questa parassitosi; ciò risulta, invece, facilmente realizzabile sui cani di proprietà.

AMBIENTE: nell'ambiente le uova di ascaridi sono in grado di resistere, vive e vitali, anche in condizioni di temperatura e umidità sfavorevoli, per lunghi periodi di tempo, rimanendo potenzialmente infestanti. L'ambiente, infatti, è fondamentale per il mantenimento della malattia sia per gli animali che per l'uomo. Nella stragrande

maggioranza dei casi il contatto tra uomo e agente eziologico di Toxocariasi avviene a livello ambientale sia in modo diretto (terreno e animali) che indiretto (alimenti contaminati, mani mal lavate). Per ridurre il più possibile questa eventualità bisogna evitare o per lo meno limitare la contaminazione ambientale.

Questo si può ottenere riducendo l'imbrattamento dell'ambiente da parte delle feci di animali sia di proprietà che randagi; ciò è, però, spesso assai difficile da realizzare. Si deve in particolar modo educare i proprietari a raccogliere gli escrementi dei loro animali, ridurre la presenza di animali sinantropici e, soprattutto, cani randagi in zone come aree di verde pubblico, aiuole, giardini di strutture scolastiche, parchi giochi per i bambini.

UOMO: i soggetti più a rischio di contagio, per quanto riguarda la Toxocariasi, sono rappresentati dai proprietari di animali, dai veterinari, dagli agricoltori, dagli operatori pubblici e, soprattutto, dai bambini. La maggior parte dei casi di Toxocariasi si hanno, infatti, in bambini con età compresa tra 1 e 10 anni. Questo perché essi giocano molto spesso a diretto contatto con il terreno e mettono le mani sporche o oggetti non puliti in bocca e hanno la tendenza mangiare di tutto (Eberhard e Alfano, 1998).

La profilassi per questa zoonosi parassitaria si deve, quindi, basare su alcuni principi fondamentali. Tra questi ricordiamo:

- sensibilizzazione dell'opinione pubblica sulla gravità della malattia e sulla notevole diffusione ambientale;
- educazione dei proprietari di animali, svolta dai veterinari, in relazione alla gestione sanitaria degli stessi e all'importanza di periodici controlli e trattamenti antiparassitari;
- raccolta costante delle deiezioni prodotte dagli animali, soprattutto nelle zone pubbliche;
- rispetto assoluto delle norme igieniche basilari, non solo nella gestione del contatto diretto con gli animali, ma anche in ogni momento della vita quotidiana;
- controllo delle attività di gioco svolte dai bambini di giovane età al fine di ridurre le possibilità di entrare in contatto con l'agente eziologico di questa malattia.

4.1.2 Ancilostomosi

EZIOLOGIA

Malattia parassitaria diffusa in tutto il mondo causata da alcune specie di nematodi ematofagi della famiglia Ancylostomatidae, di cui fanno parte *Ancylostoma caninum*, lungo 0.8 – 2 cm, di colore biancastro con regione cefalica incurvata dorsalmente e apparato buccale provvisto di denti uncinati -2 placche con 3 denticoli appuntiti- (figura 7), e *Uncinaria stenocephala*, leggermente più piccolo (0.5 – 1.2 cm) con apparato buccale provvisto di lamine trancianti (figura 8). La particolare struttura della loro bocca permette a questi parassiti di conficcarsi saldamente nella mucosa dell'intestino tenue del loro ospite.



Figura 7. Apparato buccale di *A.caninum*
(www.users.unimi.it).



Figura 8. Apparato buccale di *U.stenocephala*
(www.mgomezdiving.com).

Le uova degli ancylostomi sono incolori, di forma ellissoidale, con guscio sottile e segmentate, in quanto contengono al momento della deposizione un'aggregazione costituita da 4-8 blastomeri (figura 9).

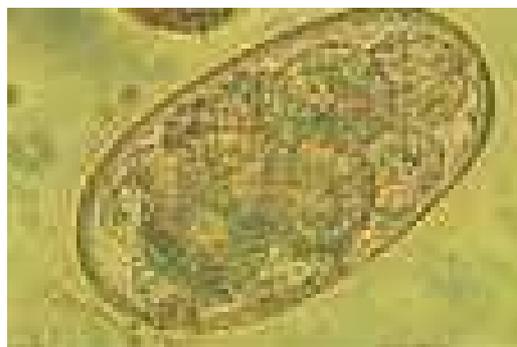


Figura 9. Uovo di *A.caninum* (www.federica.unina.it).

CICLO BIOLOGICO

Gli adulti vivono nel duodeno e nel digiuno attaccati alla mucosa intestinale per mezzo della capsula buccale che permette anche il nutrimento di sangue. Le femmine sono molto prolifiche e possono produrre dalle 10.000 alle 20.000 uova al giorno. Le uova sono ellittiche a parete sottile, di dimensioni che variano dai 50 – 70 μm x 35 – 45 μm per *A. caninum* ai 65 – 80 μm x 40 – 50 μm per *U. stenocephala*. Nel terreno se le condizioni sono idonee quanto a temperatura, umidità e ossigenazione, inizia lo sviluppo interno della larva, favorito anche dalle caratteristiche del terreno. La crescita è migliore in terreni sabbiosi, soffici e umidi, con facilità di ossigenazione, ma anche in terreni ricchi di materiale organico, con abbondante proliferazione batterica. I raggi solari hanno un'azione disidratante su uova e larve dunque la crescita è migliore nelle zone d'ombra. La temperatura ottimale è compresa tra i 14°C i 37°C, meglio 25°C per *A. caninum* e 20°C per *U. stenocephala*; più cala la temperatura minore è la rapidità di sviluppo, mentre attorno agli 0°C le uova non sopravvivono che per poche ore. Dunque in condizioni ottimali nel giro di 24 ore le uova si schiudono e si sviluppa la forma larvale L1. Nell'ambiente proseguono gli stadi di sviluppo a L2 in 24 – 48 ore ed a L3 (forma infestante) in 48 – 72 ore. Le prime due forme larvali possono nutrirsi di batteri del terreno che accumulano per lo stadio infestante, che ha bisogno però dell'ospite per il suo sostentamento. L'infestazione avviene per penetrazione transcutanea delle larve L3 infestanti, in particolare nelle zone a cute sottile come l'addome e il piatto della coscia. Può anche accadere che l'infestazione avvenga per ingestione delle larve L3 infestanti, ma la maggior parte di queste viene eliminata dai succhi gastrici, a meno che non si incistino nella mucosa delle prime vie digerenti per poi migrare al circolo ematico e dunque continuare il ciclo. Le larve così penetrate passano nel circolo ematico fino al cuore destro, da qui all'arteria polmonare e agli alveoli fino a risalire l'albero bronchiale e la trachea. I broncospasmi laringei e la deglutizione portano le larve al sistema digerente e all'intestino tenue. Nel corso della migrazione all'interno dell'ospite avvengono altre due mute (L3-L4, L4-L5), e lo sviluppo a parassiti adulti sessualmente maturi. L'intero ciclo ha una durata di 18 – 21 giorni per *A. caninum* e 14 – 15 giorni per *U. stenocephala*. Nelle femmine una parte delle larve L3 che hanno raggiunto il polmone possono migrare tramite il circolo alla muscolatura epischeletrica dove rimangono quiescenti fino a quando gli animali entrano in gravidanza. Le larve sono riattivate nell'approssimarsi del parto e, sempre allo stadio di L3, passano nel colostro e nel latte dove si possono ritrovare per circa 3 settimane dopo il

parto. Femmine che hanno subito una sola infestazione possono presentare le larve nei 3 parti successivi. È stato anche dimostrato che larve dormienti sia nelle femmine sia nei maschi possono riprendere la migrazione dopo mesi o anni e sviluppare il parassita adulto in sede intestinale. Stimoli stressanti, stadi morbosissimi gravi o trattamenti con corticosteroidi possono essere alla base del fenomeno che è causa di infestazioni latenti solo in apparenza “nuove” in soggetti che al momento potrebbero risiedere in ambienti indenni da *Ancylostoma*. L'estremo adattamento e resistenza del parassita sono dimostrati anche dal fatto che larve L3 di alcuni ceppi di *A. caninum* esposti a raffreddamento prima dell'infestazione, si sono dimostrate in grado di resistere in forma ipobiotica nello spessore della mucosa intestinale per settimane o mesi. Il significato del fenomeno è tuttora in parte non chiarito, ma sembra che queste larve siano in grado di riprendere lo sviluppo quando la popolazione adulta esistente sia stata allontanata da un trattamento antelmintico o l'ospite subisca qualche stress come ad esempio l'allattamento dei cuccioli nelle femmine. Come per l'ascaridiasi da *T. canis*, l'infestazione da larve di *A. caninum* non è ospite specifica e pertanto i cani possono infestarsi anche ingerendo larve incistate (dormienti) nei muscoli o nei visceri di ospiti paratenici (insetti, roditori, ecc.)

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

L'azione patogena si esplica, allo stadio larvale, con azioni traumatiche e irritative a livello cutaneo e viscerale. Le larve sono dotate di elevato potere antigenico, che determina la formazione di anticorpi protettivi, e allergizzante; sono, almeno in parte, di natura allergica le manifestazioni a livello cutaneo che si osservano nelle reinfestazioni. Nei cani sensibilizzati, che hanno subito precedenti infestazioni, si possono osservare lesioni cutanee di varia entità nel punto di penetrazione delle larve quali eczemi umidi e ulcere, frequenti soprattutto negli spazi interdigitali. I parassiti adulti traumatizzano con l'apparato buccale la mucosa; sono ematofagi, particolarmente le femmine durante l'ovodeposizione. L'ematofagia è favorita dall'emissione di un enzima che riduce il potere coagulante del sangue, provocando un continuo stillicidio dalle lesioni dopo il distacco del parassita. La quantità di sangue perduta per l'azione di un solo anchilostoma va da circa 0.1 ml a 0.8 ml di sangue al giorno. Le perdite di sangue iniziano circa 8 giorni dopo l'infestazione, quando i giovani adulti sessualmente immaturi iniziano a sviluppare i denticoli che permettono loro di “addentare” la mucosa. Nelle infestazioni meno gravi, più frequenti

negli adulti o nei cani in età avanzata, l'anemia non è grave e il midollo è in grado di compensare le perdite anche per periodi prolungati. Con il passare del tempo si instaura comunque una deficienza di ferro e si sviluppa una anemia microcitica ipocromica.

Le larve che penetrano per via transcutanea provocano nelle zone a pelle delicata (addome, faccia interna delle cosce, spazi interdigitali) un eritema che si manifesta più intensamente nelle reinfestazioni in quanto alla componente traumatica si aggiunge quella allergica. Sembra che *U. stenocephala* provochi a livello cutaneo lesioni più gravi; se non intervengono complicazioni batteriche la pelle ritorna normale in pochi giorni. I linfonodi tributari delle regioni cutanee interessate (prescapolari, inguinali, prepubici) si presentano aumentati di volume, indolori e mobili. Durante la migrazione polmonare i sintomi sono vaghi: il timbro della voce diviene più acuto e nei cani da caccia, si osserva una transitoria riduzione della capacità olfattiva. In questa fase l'esame del sangue, specialmente negli animali adulti, rivela leucocitosi con eosinofilia. *A. caninum* è una delle principali cause della "sindrome da minor rendimento" del cane da caccia. Dopo circa due settimane si manifestano i sintomi provocati dalla presenza dei parassiti adulti nell'intestino. Inizialmente compare sonnolenza, debolezza, inappetenza e, molto spesso, compare epistassi intermittente, per lo più in forma lieve. Questo sintomo può essere considerato quasi patognomonico (segno di Flahaut) e rivela la ridotta capacità di coagulazione del sangue provocata dagli enzimi parassitari. Compare presto anemia che diventa sempre più marcata, dimagrimento progressivo e diarrea intermittente. In seguito la diarrea diventa continua, le feci sono nerastre e fetide per la presenza di sangue semidigerito; si possono formare edemi nelle parti più declivi del corpo e la pelle può ulcerarsi in corrispondenza di questi. Nelle femmine gravide è possibile l'aborto; nei cani giovani compaiono processi osteodistrofici favoriti da carenze vitaminiche e minerali.

Nell'uomo

I parassiti, appartenenti al genere *Ancylostoma*, sono in grado di dar vita nell'uomo ad una sindrome nota con il nome di Larva Migrans Cutanea (LMC) o dermatite serpigginosa. In particolar modo gli agenti eziologici di questa zoonosi sono *A. caninum* e *A. braziliense* (figura 10). Questa è una malattia cosmopolita con diffusione endemica nelle regioni a clima tropicale e sub-tropicale (Africa, America meridionale, Australia, Carabi, Filippine, Florida, Giappone).



Figura 10. Dermatite da *A. braziliense* (www.doyma.es).

La patologia è dovuta all'ingresso delle larve infestanti, presenti nell'ambiente, negli strati sottoepidermici della cute dell'uomo, nel quale i parassiti non sono in grado di portare a termine il loro ciclo biologico. Pertanto rimangono localizzati a livello cutaneo dove muoiono, salvo rare eccezioni in cui riescono a raggiungere la sede intestinale dando vita ad enteriti eosinofile, le quali si manifestano con dolore addominale acuto, apparentemente senza causa, accompagnato o no da eosinofilia (Juckett, 1997; Robertson *et al.*, 2000).

Questa particolare forma di zoonosi sembra essere dovuta all'ingestione di alimenti contaminati da larve anche se non si può escludere con certezza la migrazione, fino all'intestino, delle larve penetrate per via cutanea. La sindrome della LMC è caratterizzata da una sintomatologia clinica che consiste nella presenza, a livello delle regioni del corpo che più facilmente possono entrare in contatto con il suolo infetto (piedi, mani, ginocchia, natiche), di caratteristiche lesioni cutanee. Queste si presentano come tragitti rossi, tortuosi e serpiginosi della cute, caratterizzati da locale reazione infiammatoria e pruriginosa, data dal fatto che i parassiti sono in grado di produrre enzimi idrolitici che permettono loro di avanzare nello spessore della pelle dell'ospite di qualche centimetro al giorno (Weese *et al.*, 2002).

Questa patologia nell'uomo è genericamente autolimitante e si risolve da sola nel giro di 1-6 mesi (Albanese *et al.*, 1995). Eventuali complicazioni consistono in infezioni batteriche secondarie, dovute alle lesioni cutanee provocate dal grattamento.

La sindrome da LMC rappresenta la patologia cutanea più frequentemente diagnosticata nei viaggiatori di ritorno dalle vacanze trascorse in aree tropicali. I soggetti maggiormente a rischio di contagio sono quindi:

- i bambini che giocano nella raccolta di sabbia dei giardini pubblici o della spiaggia contaminate dalle deiezioni di cani e gatti;
- i bagnanti delle spiagge frequentate anche dai cani;
- i senza tetto delle regioni a clima tropicale caldo-umido che dormono per strada.

DIAGNOSI

Nella fase iniziale della malattia la diagnosi si basa sui dati anamnestici ed epizootologici (sistemi di allevamento, razze da caccia, zone boschive e umide, ecc.) e sulla presenza dell'eritema cutaneo e possibile anemia, adenopatie, segno di Flahaut e manifestazioni gastroenteriche. Dopo il periodo di prepatenza (15 – 20 giorni) è possibile ottenere la conferma della diagnosi con la ricerca microscopica delle uova nelle feci, in tempo utile per iniziare la terapia.

LOTTA

L'anchilostomosi risulta essere una malattia parassitaria del cane a diffusione cosmopolita ed endemica nelle regioni a clima tropicale o subtropicale. La principale fonte di contagio per gli animali e l'uomo è rappresentata dalle larve infestanti, presenti nell'ambiente esterno, che rappresenta un punto cardine su cui bisogna agire per mantenere sotto controllo la parassitosi. Così come nel caso di altre malattie parassitarie, anche nel caso dell'Anchilostomosi gli elementi principali su cui devono essere basati i programmi di profilassi sanitaria sono tre:

ANIMALI: al fine di ridurre la contaminazione ambientale e, quindi, la diffusione della malattia, gli animali che fungono da ospiti definitivi per i parassiti devono essere sottoposti ad opportuni programmi di controllo e trattamento antelmintico.

AMBIENTE: l'ambiente rappresenta la principale fonte di contagio per uomo e animali. Bisogna quindi cercare di ridurre il più possibile la sua contaminazione. A tal fine è consigliato evitare o controllare l'accesso degli animali alle spiagge, alle raccolte di sabbia dei parchi pubblici e, in generale, alle zone verdi dove questi parassiti trovano le

condizioni ideali per sopravvivere, riducendo l'entità della disseminazione fecale dei parassiti in questi ambienti a rischio. Nel caso di luoghi chiusi o circoscritti, come quelli delle case e dei canili, si consiglia di mantenere i locali il più puliti possibile, e realizzare periodicamente dei lavaggi delle superfici con sostanze detergenti e disinfettanti attive nei confronti di questi parassiti, come ad esempio lisoformio al 5%, borato di sodio e borato di calcio all'1% e cloruro di sodio.

UOMO: essenziali sono il rispetto e l'applicazione delle norme igieniche di base soprattutto quando ci si ritrova a contatto diretto con gli animali e l'ambiente esterno. In questo modo è possibile per i soggetti di qualsiasi età ridurre notevolmente, se non del tutto, il rischio di contrarre questa zoonosi parassitaria.

4.1.3 Tricocefalosi

EZIOLOGIA

Si tratta di una malattia parassitaria sostenuta da nematodi ematofagi del genere *Trichuris* e *Capillaria*, appartenenti alla Superfamiglia Trichuroidea. In questa famiglia sono raggruppate specie parassite di un'ampia gamma di animali domestici. *Trichuris vulpis* è la specie che parassita il cane domestico. Si tratta di vermi lunghi 4 – 7 cm, con il corpo distinto in due parti, quella anteriore filiforme (da 2/3 a 3/5 della lunghezza totale) e quella posteriore ingrossata, a “manico di frusta”, da cui il nome di “vermi a frusta”(figura 11). Si localizzano nel grosso intestino, particolarmente nel cieco, aderendo alla mucosa con l'apparato buccale. La vita media supera di poco l'anno. Le uova, di colore giallo bruno e molto resistenti agli agenti atmosferici (anche anni), sono caratteristiche, a limone, con due evidenti opercoli ai poli (figura 12).

Capillaria è un parassita filamentoso lungo da 1 a 5 centimetri; le femmine producono uova simili a quelle di *Trichuris*, ma di dimensioni leggermente inferiori (59-80 x 30-40 µm) e con 2 tappi polari che si presentano più piccoli di quelli di *Trichuris*. Inoltre le uova di *Capillaria* hanno una forma più arrotondata, “a botte”, sono incolori e ad alto ingrandimento l'uovo rivela un guscio più grinzoso di quello di *Trichuris* (figura 13).



Figura 11. Forma parassitaria adulta di *T. vulpis*
(www.pittbullregistry.com)

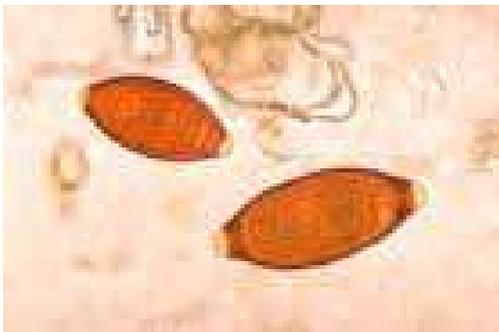


Figura 12. Uova di *T. vulpis*
(www.lookfordiagnosis.com).



Figura 13. Uovo di *Capillaria*
(www.heima.olivant.fo).

CICLO BIOLOGICO

Gli adulti localizzati nell'intestino cieco e colon si accoppiano e producono le uova. Queste, una volta emesse nell'ambiente esterno, in condizioni di temperatura, ossigenazione ed umidità adeguate, impiegano dai 20 giorni ai 4 mesi per superare lo stadio larvale L1 che rimane all'interno dell'uovo. In caso di condizioni avverse possono resistere nell'ambiente per anni. L'infestazione avviene per ingestione delle uova contenenti le larve infestanti L1. La schiusa avviene a livello dell'ultimo tratto dell'intestino tenue, le larve penetrano nei villi intestinali dove, in 30 – 60 giorni, compiono ulteriori mute nelle ghiandole della mucosa per arrivare alla forma adulta. Gli adulti emergono sulla superficie della mucosa e rimangono infissi su di essa con la parte anteriore. Il periodo di prepotenza va dai 30 ai 50 giorni.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

La maggior parte delle infestazioni decorre in modo oligosintomatico o asintomatico. In caso di gravi infestazioni si possono verificare infiammazioni a carico della mucosa del cieco dovute alla localizzazione subepiteliale delle larve e al continuo movimento della parte anteriore del verme alla ricerca di sangue e fluidi per la sua alimentazione. Le azioni patogene sono di tipo traumatico, sottrattivo di sostanze nutritive e tossico. In alcuni soggetti è possibile atonia intestinale, stipsi, anemia, dimagrimento, diarrea con talvolta presenza di sangue, dolori colici, febbre. Infestazioni massive non sono infrequenti anche in soggetti adulti fino e oltre ai 10 anni di età. All'esame anatomico – patologico si possono trovare oltre ai parassiti adulti, infiammazioni difteroidi di cieco e colon.

Nell'uomo

T.vulpis non rappresenta un rischio per la salute umana in quanto privo di potenziale zoonosico.

DIAGNOSI

L'eventuale sospetto clinico deve sempre trovare conferma nell'esame copromicroscopico. Nel periodo prepatente, non è possibile ritrovare le uova nelle feci e l'unica "conferma" può derivare dal regredire dei sintomi dopo trattamento antielmintico.

LOTTA

Massima cura deve essere posta all'igiene dei ricoveri e degli ambienti frequentati da animali. L'uso di disinfettanti ambientali è solo in parte efficace. Un efficace controllo negli allevamenti di cani è possibile solo con un programma di trattamento che deve essere mantenuto per almeno 3-4 anni. Particolare attenzione deve essere posta nell'introduzione negli allevamenti di portatori asintomatici.

Per quanto riguarda *Capillaria*, nel caso in cui questi parassiti abbiano un lombrico quale

ospite intermedio, il controllo può essere ottenuto ritirando gli animali al chiuso dopo trattamento antielmintico. In caso contrario è necessario trattare sistematicamente gli animali e spostarli su terreni puliti.

4.1.4 Teniasi

I parassiti della classe Cestoda hanno corpo nastriforme e sono sprovvisti di tratto alimentare. Il corpo è segmentato e ogni segmento è fornito degli organi di entrambi i sessi, singoli o duplicati.

Il cestode adulto è composto da una testa (scolice) munita di uncini e ventose che permettono il fissaggio alla parete intestinale, da un collo corto e ben segmentato e da una catena (strobila) di segmenti chiamati proglottidi. Gli organi di fissaggio del parassita sono costituiti da 4 ventose disposte attorno allo scolice.

L'uovo è costituito da:

- una larva esacanta (dotata di 6 uncini) o oncosfera;
- una membrana robusta, scura e striata radicalmente chiamata embrioforo;
- un guscio.

I principali cestodi del cane si classificano in due famiglie: Taeniidae e Dilepididae. In questa stesura vengono approfonditi alcuni aspetti riguardanti *Echinococcus granulosus* in quanto responsabile di una importantissima zoonosi, e *Dipylidium caninum*, uno dei cestodi più diffusi nella popolazione canina. Altre specie di cestodi che possono interessare il cane sono:

- 4) *Taenia hydatigena*, cestode lungo fino a 500 cm, armato, i cui ospiti intermedi sono ovini, bovini e suini nei quali le oncosfere sono trasportate attraverso il circolo ematico al fegato; da qui migrano per 4 settimane per poi emergere dalla superficie epatica e fissarsi al peritoneo e qui in 4 settimane raggiungere la forma larvale (*Cysticercus tenuicollis* - 8 cm);
- 4) *Taenia pisiformis*, cestode lungo fino a 200 cm, armato, i cui ospiti intermedi sono conigli e lepri e le cui forme larvali (*Cysticercus pisiformis*) grandi come un pisello, si localizzano a livello peritoneale;

- 4) *Taenia ovis*, cestode lungo fino a 200 cm, armato, i cui ospiti intermedi sono ovini e caprini e le cui forme larvali (*Cysticercus ovis*) colpisce i tessuti muscolari, diaframma, epicardio, pleure ed altri organi;
- 4) *Multiceps multiceps*, cestode lungo fino a 100 cm, armato, i cui ospiti intermedi sono i ruminanti, talvolta equini e suini, eccezionalmente l'uomo, e le cui forme larvali (*Coenurus cerebralis* - 5 cm) si localizzano a livello di sistema nervoso centrale.

4.1.4.1. Echinococcosi idatidosi

EZIOLOGIA

Esistono due sottospecie principali, *Echinococcus granulosus granulosus*, che ha come ospiti intermedi ruminanti, suino e uomo, ed *E. g. equinus*, i cui ospiti intermedi sono gli equini. Gli adulti vivono nell'intestino tenue del cane, mentre le cisti idatidee si localizzano per lo più nel fegato e nei polmoni degli ospiti intermedi. Il parassita è lungo fino a 6 cm; il corpo è formato da uno scolice e da tre o quattro proglottidi, l'ultima di queste, gravida, è lunga più della metà dell'intero strobilo (figura 14). Lo scolice è tipico delle tenie ed ogni segmento è fornito di un solo poro genitale.



Figura 14. Forma adulta di *E. granulosus*
(www.k-state.edu)

CICLO BIOLOGICO

Il parassita adulto vive nell'intestino tenue dell'ospite definitivo ed ha una vita di 6 – 24 mesi. Le proglottidi gravide vengono emesse con le feci ogni 7 – 17 giorni e contengono circa 1500 uova piccole, tondeggianti a parete spessa e resistenti per un anno. Gli ovini si infestano ingerendo le uova, così come può accadere per l'uomo con gli alimenti, l'acqua, il contatto con il cane. Nell'intestino l'oncosfera penetra la parete intestinale e viene portata dal circolo ematico fino al fegato (70%) o tramite il circolo linfatico fino ai polmoni (20%), occasionalmente anche al sistema nervoso centrale, dove si incista formando le idatidi, che possono crescere di 1–5 cm/anno. Nel fegato e nei polmoni l'idatide può arrivare a 20 cm di diametro, ma se si localizza nella cavità addominale, dove la crescita non è ostacolata, può raggiungere dimensioni notevoli e contenere molto liquido. La capsula cistica è formata da una membrana esterna e da uno strato germinativo interno dal quale prendono origine, verso la fine della maturazione cistica, le capsule proligere contenenti diversi scolici. A volte le vescicole si staccano dallo strato germinativo e galleggiano libere nel liquido idatideo; le vescicole e gli scolici vengono comunemente chiamati "sabbia idatidea". Non è infrequente osservare la formazione di cisti figlie all'interno o all'esterno delle cisti madre. La reazione infiammatoria nei confronti della cisti è di norma trascurabile. La cisti appare come una cavità a pareti sottili, parzialmente inclusa nel parenchima dell'organo colpito.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

Il parassita adulto non è patogeno e migliaia di cestodi possono essere presenti nel cane senza alcun sintomo clinico. Negli ospiti intermedi l'idatide nel fegato (o nei polmoni) è generalmente ben tollerata e non provoca quadri morbosi e la maggior parte delle infezioni sono rilevabili solo in sede di macellazione. Quando le oncosfere sono state portate dal circolo ematico ad altre sedi come il sistema nervoso centrale, pancreas, rene o cavità midollare delle ossa lunghe, la pressione esercitata dalle cisti in crescita può essere causa di segni clinici evidenti. Di contro l'infestazione nell'uomo ha sempre conseguenze cliniche. L'idatide, quando si localizza nel fegato (figura 15) o nei polmoni, provoca disturbi di natura respiratoria e grave distensione addominale. La rottura delle cisti può portare alla morte per shock anafilattico. Se il soggetto sopravvive alla rottura delle cisti, le

cisti figlie liberate sono portate in altre sedi con gravi conseguenze cliniche.



Figura 15. Cisti idatidee nel fegato.

Nell'uomo

Particolarmente colpiti sono i paesi mediterranei. In Italia i dati ufficiali riportano un'incidenza media di 4 casi per 100.000 abitanti con un picco superiore a 20 casi in Sardegna. La malattia è caratterizzata dallo sviluppo di cisti prevalentemente nel fegato e nei polmoni.

Le uova presenti nelle feci del cane, vengono disperse nell'ambiente ed ingerite dall'ospite intermedio (occasionalmente dall'uomo).

Le manifestazioni cliniche e il decorso della malattia sono diretta conseguenza del tipo di localizzazione, del numero e del volume delle cisti. Alcune lesioni sono prodotte dall'azione meccanica di tipo compressivo che la cisti esercita sulle strutture contigue (vasi, vie biliari, bronchi etc.); altri sintomi appaiono correlati a particolari modalità evolutive della cisti: la cisti infatti può rompersi o infettarsi (trasformandosi in un ascesso). La rottura ha effetti diversi a seconda della localizzazione, se l'apertura avviene a livello di un bronco il contenuto viene emesso all'esterno, se invece la rottura avviene a livello del peritoneo i protoscolici si impiantano nella sierosa dando origine alla formazione di nuove cisti; inoltre l'immissione in circolo di liquido idatideo può provocare reazioni anafilattiche più o meno gravi dovute a fenomeni di ipersensibilizzazione dell'ospite verso componenti del liquido idatideo.

DIAGNOSI

La diagnosi dell'infezione nel cane è difficile in quanto le proglottidi sono molto piccole e sono espulse in modo discontinuo. Le proglottidi possono essere identificate in base alle dimensioni (2 -3 mm), alla forma ovoidale e alla presenza di un solo poro genitale.

Le uova non sono differenziabili da quelle di altre tenie dei carnivori, se si esclude *D. caninum*. La malattia può comunque essere accertata con sicurezza somministrando al cane (mantenuto per almeno 1 giorno in ambiente confinato) prodotti tenifughi e andando a reperire i parassiti adulti emessi con le feci. Nell'ospite intermedio la sintomatologia è scarsa e l'accertamento della malattia avviene solo all'esame necroscopico.

Nell'uomo la diagnosi si avvale di indagini strumentali ed immunologiche: l'esame radiografico dell'addome può dimostrare in caso di idatidosi epatica una deformazione della cupola del diaframma o un sottile anello radiopaco che circonda la cisti in caso di calcificazione, molto più utile risulta l'ecografia o eventualmente la TAC e la RMN che permettono di valutare con accuratezza le dimensioni, i rapporti ed il contenuto della cavità. In caso di idatidosi polmonare le cisti spesso riscontrate casualmente in occasione di esami radiografici, appaiono come aree tondeggianti di opacità uniforme; la comparsa di un livello idroaereo indica il parziale svuotamento per drenaggio bronchiale.

Per confermare la diagnosi di idatidosi può essere utile la ricerca nel siero degli anticorpi specifici con diverse metodiche.

LOTTA

Interventi farmacologici

Cane - Gli isochinolonici (pranziquantel e epsiprantel) sono gli antielmintici di prima scelta per il trattamento della echinococcosi nel cane. Altre molecole come il nitroscanato e vari benzimidazolici sono risultati parzialmente efficaci verso *E. granulosus*, ma nessuna di esse raggiunge i livelli di efficacia degli isochinolonici.

Animali ospiti intermedi - Diversi gruppi di farmaci citostatici, antibiotici, sulfonamidici, antiprotozoari e molti antielmintici (es. albendazolo, fenbendazolo e flubendazolo) sono

stati testati per il trattamento della idatidosi negli ospiti intermedi. Sono stati testati gli effetti del praziquantel, anche se con risultati contrastanti. Tuttavia, il trattamento degli ospiti intermedi rappresenta una strategia di lotta decisamente poco applicabile nella pratica. Sono in via di sperimentazione diversi vaccini per gli ospiti intermedi.

Uomo – Per il trattamento farmacologico delle cisti idatidee, si sono rilevati efficaci i benzimidazolici (albendazolo e mebendazolo) e/o il praziquantel. Tuttavia la terapia chirurgica (meglio se preceduta da trattamento pre-operatorio con benzimidazolici) è stata ed è a tutt'oggi considerata il trattamento più efficace della idatidosi nell'uomo. L'intervento chirurgico non può essere praticato in pazienti con cisti molto piccole, multiple o di difficile accesso, cisti parzialmente o totalmente calcificate.

A metà degli anni '80 è stata introdotta una tecnica chirurgica per il trattamento dell'idatidosi in maniera poco invasiva: la PAIR (Puncture, Aspiration, Injection, Reaspiration). Tale metodica prevede la puntura percutanea ecoguidata, l'aspirazione del contenuto delle cisti e l'iniezione di sostanze ad azione scolocida (preferibilmente contenenti il 95% di etanolo) ed infine la riaspirazione del contenuto cistico dopo 15-20 minuti.

Interventi ambientali

Il controllo della echinococcosi/idatidosi si basa soprattutto sull'educazione sanitaria e sulle misure di controllo veterinario in sede di macellazione (soprattutto per le macellazioni a carattere domiciliare), in modo da assicurare il sequestro e la distruzione dei visceri parassitati, unica fonte di infestione per l'ospite definitivo. Il Regolamento di Polizia Veterinaria vieta l'accesso ai cani negli stabilimenti di macellazione.

Buona norma è quella di non alimentare il cane con visceri crudi anche se di provenienza certa. Inoltre, nelle aree endemiche, i cani dovrebbero essere trattati periodicamente con antielmintici (es. praziquantel); il trattamento dovrebbe essere effettuato ricoverando il cane in box per garantire la distruzione delle feci emesse nelle 48 ore successive al trattamento per impedire che le uova contaminino l'ambiente.

Fondamentale risulta anche la lotta al randagismo.

Per quanto riguarda l'uomo, è buona norma non alimentarsi con verdure crude poco o non lavate, lavare le mani dopo aver toccato terreno o altri materiali potenzialmente contaminati dalle uova di *Echinococcus granulosus* emesse con le feci di cane.

4.1.4.2 Dipilidiosi

EZIOLOGIA

È il cestode più frequente nel cane, è armato e raggiunge la lunghezza di 80 cm. Lo scolice è dotato di un rostello retrattile armato da 4 o 5 file di uncini. La proglottide ha la classica forma allungata a chicco di riso (figura 17), pori genitali doppi e gli organi genitali di entrambi i sessi duplicati. All'interno delle proglottidi mature le uova sono contenute in capsule ovigere, in numero anche superiore a venti per capsula (figura 16). Gli ospiti intermedi sono pulci (*Ctenocephalides canis* e *C.felix* e *Pulex irritans*) e pidocchi (*Trichodectes canis*).



Figura 16. Capsula ovigera di *D.caninum*
(www.wikimedia.org).



Figura 17. Proglottidi di *D.caninum*
(www.Desireforhealth.com).

CICLO BIOLOGICO

Il cane si infesta schiacciando fra i denti e ingerendo le pulci che trova nel suo mantello. I segmenti espulsi sono attivi e si muovono nella regione perianale. Nell'ambiente esterno le capsule ovigere sono espulse attivamente dalla proglottide o liberate dalla disintegrazione del segmento. In seguito all'ingestione da parte dell'ospite intermedio, le oncosfere si

trasformano in cisticercoidi. Tutti gli stadi del pidocchio possono ingerire le oncosfere, mentre solo gli stadi larvali della pulce, che sono dotati di organi per la masticazione, possono infestarsi. Lo sviluppo nel pidocchio richiede solo 30 giorni in quanto il pidocchio è parassita obbligato e trascorre tutta la vita sull'animale. Nella pulce la maturazione del cisticercoide, sincrona con quella dell'insetto, può durare diversi mesi in relazione ai tempi di diapausa degli stadi a vita libera della pulce.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

Nelle infestazioni di lieve entità e nei soggetti adulti i sintomi sono vaghi: disappetenza, pruriti, contrazioni addominali, qualche scarica diarroica. Nei casi gravi e soprattutto nei giovani si osserva inappetenza, dimagrimento, diarrea alternata a stipsi, vomito, convulsioni epilettiformi. Sono presenti invaginamenti dell'intestino a causa di contrazioni antiperistaltiche provocate dalla presenza dei cestodi. Le proglottidi espulse si muovono attorno alla zona anale, possono incunarsi nei dotti delle ghiandole paronali e spesso provocano irritazione e dunque un intenso prurito anale. L'eccessivo leccamento dell'area perianale è spesso segno d'infezione.

DIAGNOSI

La presenza delle proglottidi nella zona perianale è spesso il primo segno dell'infezione. Quando la proglottide è fresca un tentativo di diagnosi può essere formulato basandosi sulla forma allungata e sugli organi genitali doppi, visibili con lente d'ingrandimento. Se invece la proglottide è essiccata deve essere immersa in acqua e frammentata con un ago in modo da causare la fuoriuscita delle capsule contenenti le uova: la presenza delle capsule permette la diagnosi differenziale con gli altri tenidi, le cui proglottidi contengono solo numerose oncosfere libere.

LOTTA

Nelle infestazioni da *Dipylidium* il trattamento e il controllo devono essere effettuati insieme: l'uso di antielmintici come il praziquantel e il nitroscanato deve essere accompagnato da trattamenti insetticidi contro gli ospiti intermedi presenti nell'ambiente.

4.2 MALATTIE DA PROTOZOI

4.2.1 Coccidiosi

EZIOLOGIA

Malattie parassitarie sostenute da protozoi che si localizzano prevalentemente nell'intestino di tutte le specie animali. Diverse specie di coccidi sono state ritrovate nel cane e nel gatto, fra cui le più diffuse sono:

- *Isospora canis*, *I. ohioensis* (cane);
- *Isospora felis*, *I. rivolta* (gatto).

Sono principalmente colpiti i soggetti da due a quattro mesi d'età, in particolare quelli allevati o provenienti da canili sovraffollati o in condizioni igieniche scadenti.

CICLO BIOLOGICO DI ISOSPORA

Le oocisti (figura 18), elementi di resistenza, vengono emesse con le feci, a volte in gran numero. In condizioni ottimali di temperatura (25 – 27°C), umidità (90 – 95 %) ed ossigenazione si ha la sporulazione in 2 – 5 giorni che porta alla formazione di sporocisti con sporozoiti. Nel genere *Isospora* si hanno 4-2 sporocisti con 4 sporozoiti ciascuna. L'oocisti resiste diversi mesi all'esterno, anche all'aggressione di disinfettanti. La temperatura è in grado di influire sullo sviluppo e la prosecuzione del ciclo. Se va sotto i 12 – 15°C non si ha la maturazione, sotto i 25°C rallenta progressivamente, mentre al di sopra accelera. In casi di diminuzione d'umidità si ha una parziale disidratazione che

determina un accorciamento della durata della vita del protozoo. L'infestazione avviene quando l'animale recettivo ingerisce oocisti sporulate. L'età gioca un ruolo essenziale in quanto tanto più giovane l'ospite, tanto è più probabile l'infestazione e di contro gli adulti spesso sono più resistenti, sebbene possano diventare portatori asintomatici. Le oocisti si schiudono a livello gastrico per azione dei succhi gastrici. Si liberano gli sporozoiti che invadono le cellule della mucosa intestinale. Qui avviene la metamorfosi a trofozoiti e poi a schizonti, che crescono fino ad occupare tutta la cellula. Dentro lo schizonte si sviluppano i merozoiti, in numero variabile, anche fino al centinaio. Avviene dunque la rottura della cellula intestinale e la liberazione dei merozoiti, che vanno a parassitare le altre cellule sviluppando una seconda fase schizogonica. Può seguirne in alcuni casi una terza. Il ciclo prosegue con la differenziazione sessuale (gametogonia) dei merozoiti in microgameti (femmine) e macrogameti (maschi). Dopo la fecondazione si forma lo zigote (oocisti). Il periodo di prepatenza è al di sotto dei 10 giorni.

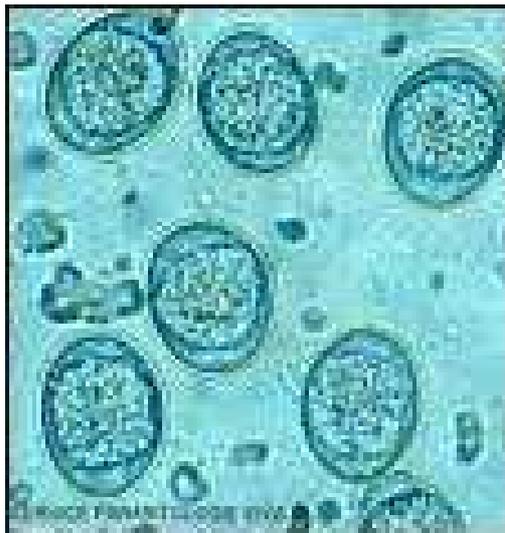


Figura 18. *Isospora canis*, oocisti (www.2.vet-lyon.fr).

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

Non si hanno chiare evidenze circa l'effettiva patogenicità di queste specie che potrebbero piuttosto comportarsi da agenti opportunisti in concomitanza con infezioni virali o in situazioni di riduzione dell'efficienza del sistema immunitario. In ogni caso le azioni patologiche sono di natura traumatica e dismetabolizzante. Va comunque sottolineato che nel cucciolo le sindromi possono essere particolarmente gravi e di difficile controllo clinico.

Il periodo di incubazione è di 4–6 gg. Nei casi acuti si osserva diarrea con feci ricoperte di muco, striate di sangue; le feci sono associate a tenesmo e dolorabilità dell'addome. Seguono un grave stato di prostrazione, ottundimento del sensorio, disidratazione e anemia. La temperatura si mantiene inizialmente su valori normali o di poco superiori, per scendere poi a valori più bassi. Sono presenti talvolta scialorrea e fenomeni nervosi con crisi epilettiformi e paresi. Nei casi subacuti o cronici, più frequenti negli adulti, gli episodi diarroici si alternano a stitichezza e raramente si riscontra sangue nelle feci.

DIAGNOSI

Poiché il periodo di prepatenza è piuttosto breve l'esame microscopico delle feci assicura una diagnosi precoce. Ciò è importante in quanto i sintomi possono essere confusi con quelli causati da infestazioni intestinali da elminti e dal cimurro che si differenzia per una tipica congiuntivite, febbre, esantema, fenomeni nervosi e assenza di anemia. È importante valutare la quantità di oocisti che si mettono in evidenza nelle feci perché numerosi soggetti possono essere portatori.

LOTTA

L'infestazione nel cane (e nel gatto) può essere trattata con prodotti anticoccidici adatti. Negli animali immunocompetenti si può sviluppare una resistenza all'infestazione, sebbene questa possa persistere laddove il trattamento non si rilevi efficace a breve termine. La prevenzione nelle cucciolate dipende dalla riduzione del numero delle oocisti nell'ambiente mediante misure igieniche rigorose. Pochi sono i regimi di disinfezione descritti come efficaci nei confronti delle oocisti, ma può essere utile l'uso di una soluzione di dicloroisocianurato di sodio.

4.2.2 Giardiosi

I protozoi del genere *Giardia* sono parassiti enterici a distribuzione cosmopolita che infettano animali selvatici, esotici e domestici, uomo compreso. Questo protozoo è il parassita intestinale umano più diffuso nel mondo, con un numero di casi pari a 2.8×10^8 /anno.

L'acqua ricopre un ruolo molto importante come veicolo di trasmissione dell'infezione; insieme a *Cryptosporidium*, *Giardia* è considerato tra i più diffusi “*waterborne pathogens*”(protozoi idrodiffusi), rappresentando un importante problema di sanità pubblica sia nei Paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo.

EZIOLOGIA

REGNO:	Animalia
PHYLUM:	Protozoa
SUBPHILUM:	Sarcomastigophora
CLASSE:	Zoomastigophora
ORDINE:	Diplomonadida
FAMIGLIA:	Mastigophora
GENERE:	<i>Giardia</i>
SPECIE:	<i>Giardia duodenalis</i>

Nel genere *Giardia* sono state inquadrate cinque specie: *G. duodenalis*, *G. agilis*, *G. muris*, *G. ardeae* e *G. psittaci*.

G. duodenalis (sinonimi *G. intestinalis* e *G. lamblia*) è la sola specie che è stata isolata sia nell'uomo che nella maggior parte dei mammiferi domestici e selvatici.

In tabella 2 sono riportate le specie di *Giardia* attualmente riconosciute dalla comunità scientifica internazionale.

Gli studi molecolari condotti negli ultimi anni hanno evidenziato che *G. duodenalis* è da considerare come un complesso di assemblaggi (tabella 3) che, pur non mostrando significative differenze morfologiche, sono chiaramente distinguibili per le loro

caratteristiche biologiche e genetiche.

Solo gli assemblaggi A e B sono associati alle infezioni umane e di altri animali, mentre gli altri assemblaggi manifestano una più netta specificità di ospite e rivestono importanza esclusivamente in campo veterinario.

Specie di <i>Giardia</i>	Ospiti
<i>G. duodenalis</i>	Uomo ed altri primati; cani, gatti, animali da reddito domestici e selvatici, roditori
<i>G. agilis</i>	Anfibi
<i>G. muris</i>	Roditori
<i>G. ardeae</i>	Uccelli
<i>G. psittaci</i>	Uccelli

Tabella 2. Specie di *Giardia* attualmente riconosciute dalla comunità scientifica internazionale.

Assemblaggi di <i>G. duodenalis</i>	Ospiti dimostrati
Assemblaggio A	Uomo, gorilla, bovini, ovini, caprini, suini, cane, gatto, castoro, marmotta, lince, cane della prateria, porcellino d'India
Assemblaggio B	Uomo, bovini, cane, gatto, coniglio, cincillà, castoro, ratto, ratto muschiato
Assemblaggio C	Cane
Assemblaggio D	Cane, gatto
Assemblaggio E	Artiodattili (bovini, equini, ovini, caprini, suini, alpaca)
Assemblaggio F	Gatto
Assemblaggio G	Ratto

Tabella 3. Assemblaggi di *Giardia duodenalis* attualmente riconosciuti dalla comunità scientifica internazionale.

Giardia si presenta in due distinte forme biologiche: le cisti (forma di resistenza, figura 19) presenti nel passaggio da un ospite ad un altro ed i trofozoiti (forma vegetativa, figura 20) nell'intestino dell'ospite.

Le cisti hanno forma ovoidale (11-15 μm x 7-10 μm), sono rigide, dotate di 4 nuclei e protette da una parete spessa 0,3-0,5 μm .

I trofozoiti presentano simmetria bilaterale, sono a forma di lacrima/aquilone, lunghi 10-20 μm e larghi 5-10 μm . Sulla faccia ventrale sono dotati di una depressione reniforme, il disco adesivo, struttura concava profonda fino a 0,4 μm che aderisce alla mucosa intestinale dell'ospite, dalla quale assume il nutrimento per pinocitosi. I trofozoiti, inoltre, sono provvisti di quattro paia di flagelli e di uno o due corpi mediani a forma di artiglio.



Figura 19. Cisti.



Figura 20. Trofozoita.

CICLO BIOLOGICO

Il ciclo biologico di *Giardia* è di tipo diretto ed ha inizio con l'ingestione delle cisti da parte dell'ospite.

Le cisti costituiscono la forma infettante; vengono eliminate all'esterno con le feci degli animali e trasmesse all'ospite direttamente—mediante un contatto oro-fecale—, oppure indirettamente, attraverso l'ingestione di acqua o alimenti contaminati.

Una volta ingerite, a livello duodenale, per azione dei succhi gastrici (pH ottimale compreso fra 1,3 e 2,7) e degli enzimi digestivi (proteasi pancreatiche), avviene il processo di escistazione, che dura circa dieci minuti. Da ogni cisti si liberano due trofozoiti i quali cominciano a replicare ripetutamente per scissione binaria. I trofozoiti possono trovarsi liberi nel lume intestinale oppure possono aderire all'epitelio della mucosa attraverso una struttura nota come disco adesivo.

In caso di ipocloridria possono stabilirsi nello stomaco ed essere rinvenuti, a volte, anche

nella colecisti e nei dotti biliari. In alcuni casi possono diventare così numerosi da coprire interamente alcune aree della struttura nota come disco adesivo mucosa intestinale, creando una vera e propria barriera meccanica che ostacola l'assorbimento dei principi nutritivi.

Durante il passaggio attraverso il colon, i trofozoiti iniziano il processo di incistamento, ritraggono i flagelli, il citoplasma si condensa e comincia ad essere prodotta la parete cistica. Le cisti sono infine escrete già infettanti con le feci dell'ospite. La dose infettante è piuttosto bassa (10-25 cisti).

La durata complessiva del ciclo vitale è compresa tra i quattro e i quindici giorni.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

La patogenesi dell'infezione da *Giardia* non è stata del tutto chiarita.

Inizialmente, i trofozoiti colonizzano la parte prossimale dell'intestino tenue dove aderiscono alle cellule epiteliali della mucosa, e l'adesione dei trofozoiti ai villi causa soltanto lieve e reversibile irritazione.

Successivamente, con l'esame istologico, è possibile rilevare un rigonfiamento degenerativo delle cellule epiteliali e piccole ulcerazioni a carico dei microvilli che appaiono accorciati. Con il progredire dell'infezione le lesioni sono caratterizzate da scomparsa parziale o totale delle cellule epiteliali, appiattimento ed ispessimento dei villi, edema e infiltrazioni focali della lamina propria, di linfociti, plasmacellule e leucociti polimorfonucleati.

Sono state avanzate diverse ipotesi sulle alterazioni funzionali degli enterociti, sul trasporto di acqua ed elettroliti e sulla riduzione dell'assorbimento di lipidi, carboidrati, protidi e talvolta di cianocobalamina e acido folico.

Secondo alcuni autori, sembra che la presenza dei trofozoiti su ampie aree della mucosa duodenale impedisca, dal punto di vista meccanico, l'assorbimento di tali sostanze. Mentre per altri, sarebbe l'ipersecrezione di muco indotta dalla penetrazione del protozoo nelle cripte ghiandolari a comprometterne l'assorbimento. Infine, altri ancora, suggeriscono che i trofozoiti secernano tossine sulla mucosa intestinale, capaci di causare una riduzione diffusa degli enterociti, inibendo in tal modo l'attività enzimatica ed il trasporto dei nutrienti a livello dei microvilli. Infatti, sono stati trovati vacuoli lisosomiali sulla superficie dorsale e ventrale del trofozoita. Questi vacuoli non sono stati ben caratterizzati,

ma contengono enzimi idrolitici e probabilmente altre molecole che potrebbero agire come tossine, quando secrete nel lume intestinale.

L'infezione decorre spesso in forma asintomatica ed in questi casi è svelabile soltanto con la ricerca delle cisti nelle feci. Nei cuccioli di cane e nelle forme acute, il sintomo principale è la diarrea. La diarrea può manifestarsi in modo variabile, da lieve a grave, e può essere persistente, intermittente o autolimitante. L'aspetto della diarrea è tipicamente paragonabile a quello delle "feci di vacca", senza sangue né muco; tuttavia, esiste una sostanziale variabilità.

Talvolta, a causa delle lesioni a carico dei microvilli sostenute dai trofozoiti si può manifestare malassorbimento caratterizzato da steatorrea, perdita di peso, carenze di acido folico, cianocobalamina, trigliceridi, carboidrati e protidi. Questi disturbi digestivi sono responsabili nei cuccioli di disturbi della crescita e di letargia.

Nei cani adulti l'infezione decorre quasi sempre in forma inapparente e pertanto questi costituiscono la principale fonte d'infezione e contaminazione ambientale.

Nei soggetti immunocompetenti in effetti, la moltiplicazione del protozoo è rallentata e l'effetto patogeno è limitato o assente, sembra grazie alla produzione di IgA che prevencono l'adesione del trofozoita alle cellule ospiti.

Purtroppo gli animali rimangono "serbatoi" e quindi diffusori del parassita ed è sufficiente anche una temporanea riduzione delle difese immunitarie per rendere la malattia clinicamente manifesta anche nell'animale adulto.

Nell'uomo

L'infezione da *Giardia* è una antropozoonosi cosmopolita a trasmissione diretta ed indiretta.

Risale al 1979 la decisione della *World Health Organization* (WHO) di inserire *Giardia* tra i possibili agenti di zoonosi.

La trasmissione di *Giardia* avviene per via oro-fecale e può essere sia indiretta attraverso l'ingestione accidentale di cisti con acqua ed alimenti contaminati, che diretta (sessuale e non) quando i livelli di igiene sono bassi come avviene nelle comunità sottosviluppate. L'acqua (sia quella da bere che quella ad uso ricreazionale) ricopre quindi un ruolo molto importante come veicolo di trasmissione dell'infezione.

Il rischio per l'uomo è rappresentato dagli assemblaggi A e in misura minore B di

G.duodenalis. Sebbene l'uomo costituisca il principale serbatoio di infezione nella trasmissione uomo-uomo, si ritiene che diversi mammiferi domestici e selvatici possono fungere da *reservoirs*.

Giardia, insieme a *Cryptosporidium*, è il più comune protozoo responsabile di enteriti diarroiche acute o croniche soprattutto nei bambini di età inferiore ai 5 anni e nei soggetti immunodepressi e malnutriti; i due protozoi sono anche i più frequenti agenti parassitari della "diarrea del viaggiatore". *Giardia* è anche responsabile di epidemie causate dalla presenza di cisti nelle reti idriche/acquedotti.

Numerose infezioni da *Giardia* nell'uomo sono asintomatiche. Il 40-50% delle persone infette sviluppa diarrea acuta (senza sangue e muco), accompagnata da nausea, anoressia, malassorbimento e perdita di peso

Nell'uomo, vi è una forte relazione tra il quadro clinico e lo stato immunitario del soggetto parassitato; difatti, la giardiosi, come la cryptosporidiosi, è un'infezione opportunistica.

I farmaci più utilizzati per il trattamento dell'infezione da *Giardia* nell'uomo sono i nitroimidazoli, metronidazolo e tinidazolo, la paramomicina e l'albendazolo.

La prevenzione si basa sull'adozione delle misure igienico ambientali normalmente utilizzate contro le infezioni a trasmissione oro-fecale.

Le cisti di *Giardia* sopravvivono per lunghi periodi nelle acque clorate alle concentrazioni normalmente utilizzate per la potabilizzazione. Pertanto, le misure preventive prevedono l'accurato lavaggio di frutta e verdure che si consumano crude e, nelle zone maggiormente a rischio, la bollitura dell'acqua destinata all'alimentazione.

DIAGNOSI

La sintomatologia clinica non è indicativa.

La diagnosi tradizionale si basa sull'esame copromicroscopico che consente di mettere in evidenza le tipiche cisti di *Giardia* nelle feci degli ospiti infetti. La tecnica consigliata è la flottazione in centrifuga, con utilizzo di una soluzione a base di zinco solfato. Colorazioni tricromiche o con ematossilina ferrica sono utili per la messa in evidenza delle cisti.

Tuttavia, la diagnosi può prevedere anche la messa in evidenza delle cisti mediante immunofluorescenza diretta (IFA, figura 21) o dei coproantigeni del parassita mediante tecniche ELISA applicata alle feci.

Nell'uomo sono anche consigliate altre tecniche diagnostiche quali l'esame endoscopico

con eventuale biopsia o l'esame microscopico dell'aspirato duodenale.

Per l'identificazione genotipica delle diverse specie di *Giardia* e/o i diversi assemblaggi di *G. duodenalis* è possibile utilizzare la tecnica PCR-RFLP o altre tecniche molecolari.

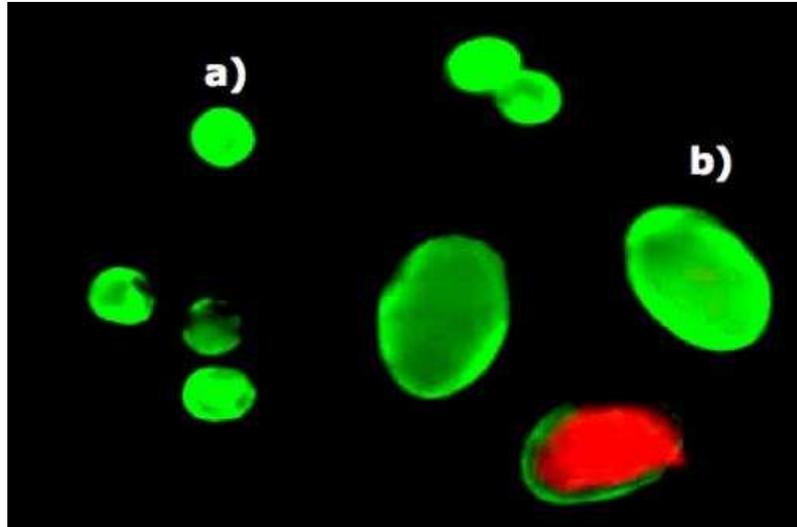


Figura 21. Oocisti di *Cryptosporidium* (a) e cisti di *Giardia* (b) evidenziate in seguito ad immunofluorescenza.

LOTTA

I programmi di profilassi per essere efficaci nei confronti di tale malattia parassitaria devono agire a livello di 3 differenti fattori:

ANIMALI: gli animali dovrebbero essere allevati in ambienti appropriati, evitando condizioni di sovraffollamento e di contatto permanente con il terreno. I locali destinati agli animali devono essere periodicamente puliti con idonei disinfettanti, e devono essere rispettate le norme igieniche di base. I soggetti con sintomatologia sospetta devono essere isolati per evitare che le loro feci possano costituire causa di contagio per altri animali.

AMBIENTE: bisogna ridurre il più possibile il grado di contaminazione ambientale. A tal fine molto importante risulta essere la rimozione meccanica delle feci degli animali. Questo deve essere fatto il più frequentemente possibile e nel rispetto delle norme igieniche basilari. Nelle regioni a clima caldo-umido questa operazione deve essere effettuata assai frequentemente poiché lo sviluppo degli stadi infestanti avviene più rapidamente. Inoltre si deve ricordare che la pioggia e l'attività degli insetti contribuiscono

alla disgregazione meccanica delle feci e alla dispersione del materiale parassitario nell'ambiente.

Infine è importante evitare la contaminazione delle risorse idriche (fiumi, laghi, acquedotti) con materiale fecale animale e umano.

UOMO: la prevenzione della giardiosi si basa sul rispetto delle norme igieniche di base.

Si deve:

- evitare di bere acqua non potabile (farla bollire o sottoporla ad adeguate operazioni di potabilizzazione chimica o meccanica);
- evitare di mangiare frutta e verdura mal lavata;
- lavarsi accuratamente le mani;
- realizzare un adeguato programma di educazione del personale di asili e nosocomi.

4.2.3 Criptosporidiosi

EZIOLOGIA

L'agente eziologico è un protozoo di piccole dimensioni (4-6 micron di diametro) che causa un'infezione parassitaria di importanza sia veterinaria che medica che colpisce le cellule epiteliali del tratto gastrointestinale, l'epitelio dei condotti biliari e del tratto respiratorio sia dell'uomo che di oltre 45 specie di vertebrati, tra cui mammiferi (fra cui cani, gatti, roditori, bovini, ovini), rettili, volatili.

I parassiti sono normalmente presenti nell'intestino di vertebrati dai quali possono essere trasmessi all'uomo. Le specie note sono 20; *Cryptosporidium parvum* è la principale specie patogena per l'uomo, *C.felis*, *C.muris*, *C.meleagridis* possono causare malattia in pazienti immunodepressi.

C. parvum	C. muris	C. andersoni	C. bailey	C. nesorum	C. serpentis	C. wairi	C. meleagritis	C. felis	C. saurophilum
Mammiferi	Roditori	Ruminanti	Uccelli	Pesci	Serpenti	Cavie	Uccelli	Gatto	Lucertole
Intestino	Stomaco	Abomaso	Borsa, intestino, cloaca, trachea	Stomaco e intestino	Stomaco	Intestino	Intestino	Intestino	Intestino

Tabella 4. Principali specie di *Cryptosporidium*.

CICLO BIOLOGICO

Il ciclo biologico di *Cryptosporidium* è simile a quello di altri coccidi intestinali anche se la sporulazione avviene nell'ospite. Le oocisti sono molto piccole (4,0-4,5 μm), contengono 4 sporozoit (figura 22) e vengono emesse con le feci. In seguito all'ingestione gli sporozoit invadono il bordo dei microvilli degli enterociti dove i trofozoi si trasformano in schizonti contenenti 4-8 merozoi. La gametogonia segue dopo una o due generazioni di schizonti e le oocisti vengono prodotte dopo circa 72 ore.

Sono presenti due tipi di oocisti:

- Primo tipo: rappresenta la maggior parte delle oocisti; ha una parete molto spessa e viene espulso con le feci;
- Secondo tipo: ha la parete sottile e rilascia gli sporozoit direttamente nell'intestino, provocando l'autoinfezione.

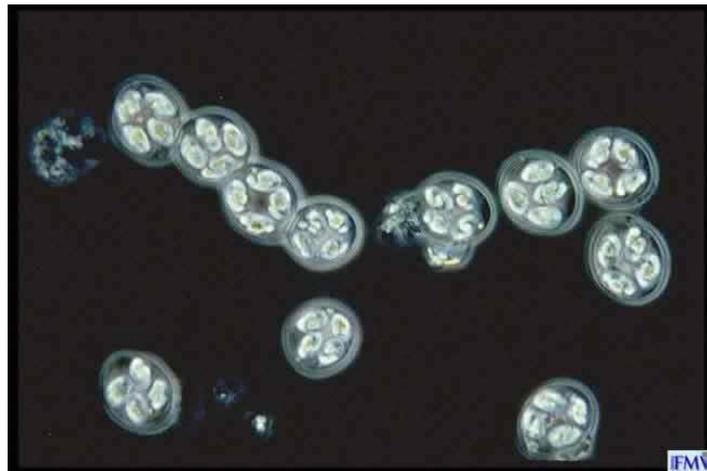


Figura 22. Cisti di *Cryptosporidium* (www.antropozoonosi.it).

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

La patogenesi dell'infezione da *Cryptosporidium* non è chiara. Gli schizonti si riproducono all'interno di una vescicola parasitofora che deriva dai microvilli intestinali. Nonostante non si verifichi la rottura della cellula, caratteristica delle infezioni da coccidi, le alterazioni della mucosa dell'ileo sono ben evidenti e sono caratterizzate dalla riduzione delle dimensioni dei villi, rigonfiamento ed eventuale fusione dei villi colpiti; tali alterazioni possono modificare la funzionalità di diversi enzimi di membrana.

Per quanto riguarda la sintomatologia, la malattia provoca anoressia e diarrea, spesso a carattere intermittente, che possono ritardare la crescita degli animali affetti. Le feci diarroiche si presentano solitamente da sciolte a acquose, di colore chiaro. I cuccioli possono presentarsi in buona salute e continuare ad alimentarsi oppure possono apparire depressi, in funzione della gravità della condizione patologica. I cani e i gatti possono eliminare oocisti senza dimostrare alcun segno clinico.

Nell'uomo

Il sintomo principale nell'uomo è rappresentato da diarrea profusa ed acquosa preceduta, nei bambini, da anoressia e vomito. Il periodo di incubazione è di 7-10 gg (5-28 dipendente dalla dose infettante). La diarrea è associata spesso a dolori addominali. Meno frequentemente sono presenti sintomi di malessere generale, febbre, anoressia e vomito. Le infezioni asintomatiche sono piuttosto comuni e costituiscono una potenziale fonte di contagio. I sintomi sono solitamente di tipo altalenante e nella maggior parte dei soggetti immunocompetenti si risolvono entro 30 giorni, mentre nell'immunocompromesso, incapace di liberarsi dei parassiti, la malattia è potenzialmente mortale. Secondo alcuni studi, la Criptosporidiosi è responsabile fino al 6% dei casi di diarrea nell'immunocompetente e fino al 24 % dei casi di diarrea in corso di AIDS. Qualora vi sia interessamento delle vie biliari si possono presentare i sintomi di colecistite. Si possono ancora verificare: colangite, epatite, pancreatite e malattia o colonizzazione respiratoria.

Il parassita completa lo stadio di sviluppo sessuato e asessuato nello stesso ospite l'uomo, come qualsiasi altro ospite recettivo, si infetta ingerendo le oocisti di criptosporidi.

Una volta ingerita, l'oocista si excista nel tratto gastrointestinale, e rilascia gli sporozoiti infettanti. Gli sporozoiti si legano alla membrana apicale delle cellule epiteliali, e stimolano la protrusione della membrana dell'ospite a formare un vacuolo, così che il parassita diventa intracellulare, ma resta extracitoplasmatico.

Lo sporozoita si riproduce in maniera asessuata a formare merozoiti. Questi vengono rilasciati nell'intestino, infettano altre cellule epiteliali e possono maturare a gametociti, in grado di produrre oocisti, in questo modo, si può avere un'autoinfezione con infezioni massive e persistenti.

L'attacco del criptosporidio ai microvilli intestinali provoca di per sé malassorbimento.

DIAGNOSI

Si basa sul rilievo anamnestico (solitamente vengono colpiti cuccioli di cane con meno di sei mesi), sulla sintomatologia e sulla diagnosi di laboratorio, partendo da un campione di feci.

In un campione che contiene molte oocisti, uno striscio diretto può essere colorato con il metodo Ziehl-Neelsen: le oocisti di *Cryptosporidium* sono acido-resistenti, e se colorate con questo metodo appaiono come “ciambelle” rosse (figura 23).

Si possono inoltre utilizzare metodi di immunofluorescenza e in commercio si trovano kit per l'identificazione immunologica. L'identificazione a livello di specie/assemblaggio richiede l'utilizzo di tecniche molecolari (PCR).

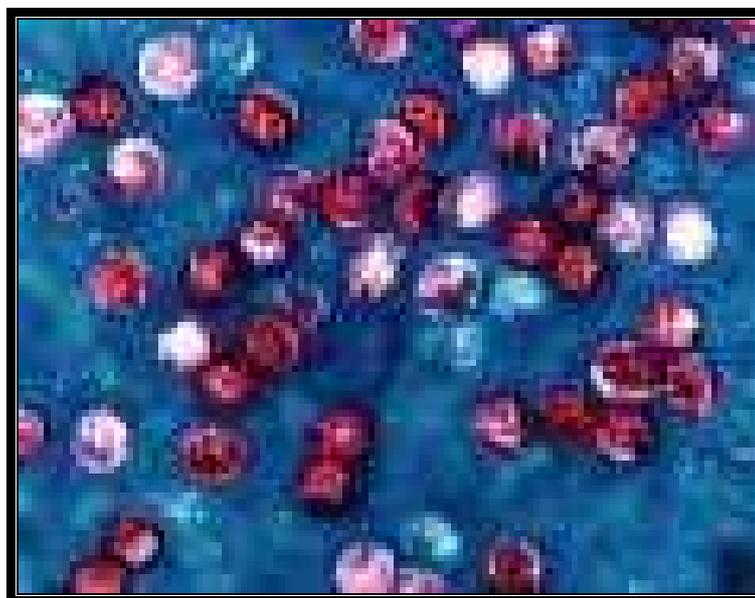


Figura 23. Oocisti di *Cryptosporidium* evidenziate mediante metodica Ziehl-Neelsen (www.lookfordiagnosis.com).

LOTTA

L'infezione è difficile da controllare data la resistenza delle oocisti alla maggior parte dei disinfettanti, ad eccezione della formalina e dell'ammoniaca.

Per quanto riguarda in cane, non esiste un trattamento antiprotozoario efficace anche se una certa attività è stata osservata con l'uso della spiramicina.

Uomo: tutte le infezioni da *Cryptosporidium* sono causate dall'ingestione/inalazione delle oocisti; ne segue che le misure di prevenzione sono basate sull'evitare il contatto dell'ospite con il microrganismo.

Particolare attenzione va posta alla contaminazione di cibo e acqua potabile: le oocisti possono essere presenti nelle acque di superficie (laghi, fiumi, canali) e addirittura nelle piscine, permanendo vitali in quanto estremamente resistenti all'azione del cloro. Oltre alla trasmissione per ingestione di alimenti, recentemente, è stato dimostrato il rischio di trasmissione con cibi manipolati da operatori infetti e la presenza di oocisti del parassita in succhi di frutta.

Le oocisti sono inattivate da: congelamento, bollitura, formalina, alte concentrazioni di ammoniacca e ipoclorito di sodio. Le oocisti sono resistenti alle tecniche di purificazione dell'acqua con filtrazione (sono necessari filtri idonei con maglie non superiori a 1 µm) e clorazione standard delle acque, agli antisettici e a gran parte dei disinfettanti.

4.3 MALATTIE DA ARTROPODI

Insecta: hanno 3 paia di arti, un paio di antenne e la testa, il torace e l'addome sono distinti.
Arachnida: gli adulti hanno 4 paia di arti, non hanno antenne e il corpo è suddiviso in cefalotorace e addome. Le parti buccali sono modificate e comprendono due paia di appendici chiamate rispettivamente cheliceri –per fendere i tessuti- e palpi –organi di senso.

4.3.1 Pediculosi

EZIOLOGIA

PHYLUM:	Arthropoda
CLASSE:	Insecta
ORDINE:	Phthiraptera
SOTTORDINI:	a) Anoplura: pidocchi succhiatori parassiti solo dei mammiferi b) Mallophaga: pidocchi masticatori, parassiti di mammiferi e uccelli

I pidocchi sono insetti altamente specie specifici e sono ectoparassiti permanenti. Hanno un corpo appiattito dorso-ventralmente e hanno dimensioni e forma variabili. La maggior parte non ha occhi e, quando presenti, sono occhi primitivi in grado solo di individuare le sorgenti di luce. Gli arti terminano con artigli: i pidocchi dei mammiferi hanno un solo artiglio mentre quelli degli uccelli ne hanno due.

I più comuni pidocchi del cane e del gatto sono *Trichodectes canis*, pidocchio masticatore, e *Linognathus setorus*, pidocchio succhiatore.

CICLO BIOLOGICO

Gli adulti vivono circa un mese e rilasciano 200-300 uova percolate di colore biancastro, visibili ad occhio nudo adese ai peli o alle setole sulla cute degli ospiti. Dall'uovo schiude una ninfa simile all'adulto ma di dimensioni molto più piccole. L'adulto si sviluppa dopo 3 mute. L'intero ciclo da uovo ad adulto dura 2-3 settimane.

I pidocchi dei mammiferi possono cibarsi di forfore, scaglie di materiale dermico e croste di sangue mentre quelli degli uccelli, a differenza dei precedenti, sono in grado di digerire la cheratina e possono cibarsi sulle piume e sulle penne.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

Infestazioni gravi si osservano soprattutto negli animali abbandonati o denutriti ma possono essere presenti anche su soggetti debilitati.

Nel cane i problemi più gravi sono generalmente conseguenti alle infestazioni da *Trichodectes* anche se talvolta *Linognathus* può essere causa di forme di anemia. Infatti *Trichodectes* è un pidocchio molto attivo e con i suoi movimenti provoca intenso prurito spesso causa di autolesioni negli animali con escoriazioni sulla pelle e perdita di pelo.

In caso di gravi infestazioni sostenute da entrambe le specie i cuccioli possono morire per anemia e debilitazione.

I sintomi clinici più frequenti sono nervosismo e grattamento pressoché continuo, traumi autoindotti, aree alopeciche e peli spezzati. Nelle infestazioni gravi gli animali possono presentarsi fortemente debilitati.

DIAGNOSI

Si basa sulla evidenziazione della presenza di uova, facilmente osservabili sul mantello. I due pidocchi sono facilmente differenziabili: *Trichodectes* è piccolo e giallastro mentre *Linognathus* è più grande e di colore bluastro. Inoltre è consigliabile strappare i peli che sembrano avere masserelle bianche appiccicate ed esaminare i fusti piliferi alla ricerca di uova cementate al fusto.

LOTTA

Le infestazioni da pidocchi sono di norma trattate con polveri, spray o shampoo a base di piretrine o piretroidi sintetici, organofosfati o carbamati. Anche i vecchi preparati a base di piretro e di benzil benzoato sono tuttora efficaci. Le formulazioni a base di piretro e piretroidi microincapsulati e sinergizzati con il piperonil butossido (inibitore della attività microsomiale degli artropodi) consentono una attività più prolungata.

4.3.2 Pulicosi

EZIOLOGIA

PHYLUM:	Arthropoda
CLASSE:	Insecta
ORDINE:	Siphonaptera
GENERE:	Ctenocephalides



Figura 24. *Ctenocephalides canis*
(www.lookfordiagnosis.com).

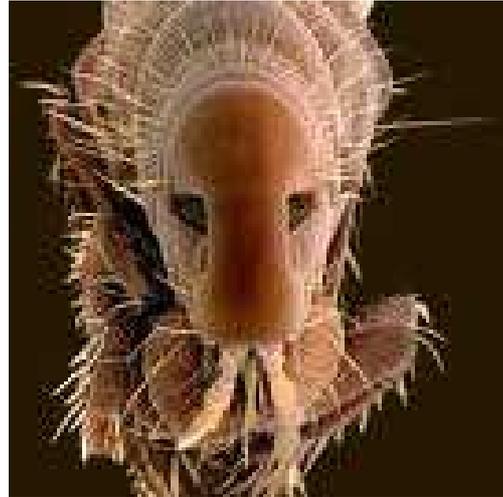


Figura 25. *Ctenocephalides canis*, particolare
(www.telegraph.co.uk).

Le pulci (figure 24 e 25) sono insetti la cui importanza non è solo dovuta agli effetti diretti da essi provocati agli ospiti, ma anche per l'azione vettoriale nei confronti di vari agenti di malattia.

Esse sono di color bruno scuro, senza ali con il corpo compresso lateralmente che permette loro di muoversi agevolmente tra il pelo degli ospiti. Gli occhi, quando presenti, sono semplici macchie fotosensibili e le antenne, corte, sono reclinate. Il terzo paio di arti è molto più sviluppato degli altri e consente di spiccare il salto per raggiungere l'ospite. La testa può presentare sul bordo posteriore (pronatale) o ventrale (genale) file di spine scure chiamate ctenidia che rappresentano le caratteristiche morfologiche più importanti per l'identificazione.

CICLO BIOLOGICO

Le uova, ovoidali e lisce, vengono deposte sul suolo o sull'ospite da dove cadono a terra. La schiusa avviene in 2-7 giorni a seconda della temperatura ambientale. Le larve, vermiformi e ricoperte di peli, si cibano di detriti organici e delle feci degli adulti che contengono emoglobina necessaria per le successive fasi di sviluppo e che conferisce loro un colore brunastro. La larva muta due volte e lo stadio finale è lungo circa 5 mm. I tempi delle mute e la permanenza allo stadio di pupa dipendono da fattori di temperatura e umidità.

Buona parte del ciclo della pulce si svolge fuori dall'ospite; gli adulti possono

sopravvivere fino a 6 mesi lontano dall'ospite tra un pasto e l'altro. In genere la durata media della vita di una pulce si aggira sui 2 anni.

La maggior parte delle pulci si alimenta per pochi minuti e poi si sposta verso un'altra parte del corpo per riprendere il pasto o per scendere a terra alla ricerca di un nuovo ospite. Pochi generi, come ad esempio *Ctenocephalides*, conducono allo stadio adulto vita parassitaria permanente.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

C.canis è presente soprattutto nel cane, *C.felis* invece è molto più diffuso: si rinviene comunemente sul gatto e sul cane e in assenza degli ospiti naturali o in caso di infestazione ambientale elevata aggredisce anche l'uomo. Sono ospiti intermedi di *Dipylidium caninum*: la larva con il suo apparato buccale rompe l'uovo del cestode, ingerisce l'embrione e la larva esacanta si sviluppa a cisticercoide contemporaneamente allo sviluppo della pulce. La pulce adulta alberga il cisticercoide nella muscolatura e l'ospite si infesta quando ingerisce accidentalmente l'insetto o le sue parti durante l'attività di pulizia o mordendosi e leccandosi.

L'infestazione da pulci si manifesta con una varietà di quadri clinici determinati da numerosi fattori che comprendono il singolo animale e il numero di pulci. Esistono tuttavia 2 tipi principali di quadro clinico, che dipendono dal fatto che l'ospite sia sensibilizzato o no agli allergeni presenti nella saliva delle pulci.

Nell'animale sensibilizzato il carico di pulci è di solito più basso, in quanto l'animale può essere in grado di allontanare le pulci dal mantello in modo molto efficiente.

In ogni caso, la lesione primaria è una papula conseguente ad una singola puntura di pulce. Può tuttavia essere difficile rinvenire le papule poiché il trauma autoindotto associato rende più evidenti le lesioni secondarie. Sintomi comuni sono: prurito, peli spezzati, croste, aree alopeciche tipicamente sulla parte caudale del dorso (figura 26).



Figura 26. Dermatite allergica da pulci
(www.astrovet.blogspot.com).

Nell'uomo

Pulex irritans è una specie che si è adattata ad alimentarsi sull'uomo; in alcune aree è facilmente rinvenibile anche su cane e gatto. In mancanza dell'ospite preferenziale (cane e/o gatto), *C. felis* e *C. canis* attaccano facilmente anche l'uomo. Le punture si manifestano come minute macule circondate da una reazione eritemato-pomfoide (figura 27). In alcuni casi, specialmente nei bambini, si instaura una componente essudativa che origina lesioni eritemato-vescicolari.



Figura 27. Morsi di pulce (uomo); (www.frogservice.it).

DIAGNOSI

Oltre alla ricerca dei parassiti adulti nel pelo dell'animale, può essere effettuata la pettinatura del mantello per raccogliere i detriti: si posa un campione di detriti su carta bagnata: attorno ai granuli neri si vedrà un anello rosso, dovuto alla liberazione di sangue non digerito presente nelle feci delle pulci. Quando si sospetta un'ipersensibilità, ma non sono evidenti pulci, possono essere condotti test ematici o cutanei per confermare l'ipersensibilità.

LOTTA

Il trattamento specifico si basa sull'uso di insetticidi dotati di rapida azione abbattente associati a composti con attività residuale in modo da proteggere gli animali da successive reinfestazioni.

Le associazioni più efficaci sono generalmente ottenute tramite piretro o piretrine sintetiche e piretroidi sinergizzati dal piperonil butossido ed eventualmente formulati in microcapsule. La loro efficacia è elevata e sono in grado di proteggere gli animali da episodi di reinfestazione per circa 3 settimane. Efficaci sono anche i carbamati e gli organofosfati, ma la loro tossicità è più elevata. Il fipronil e l'imidacloprid sono molecole formulate in spray o in spot-on ed associano una buona attività abbattente con l'attività residuale in grado di proteggere gli animali per 1-2 mesi.

Per quanto riguarda il controllo ambientale, di grande aiuto sono i regolatori di crescita degli insetti quali il metoprene e il lufenuron. È necessario inoltre il massimo rispetto delle più banali norme igieniche di pulizia e l'uso frequente dell'aspirapolvere può rimuovere parte della popolazione a vita libera. Larga parte del rischio di infezione deriva infatti dal reservoir di forme a vita libera presente nell'ambiente di vita del cane e del gatto tenuto conto che non più del 3-5 % dell'intera popolazione di pulci è presente sull'ospite.

In caso di allergia da pulci l'uso corretto dei moderni presidi dotati di buona attività abbattente e residuale è generalmente sufficiente per il ristabilimento dello stato di salute degli animali. Nei casi gravi un trattamento topico iniziale con corticosteroidi può accelerare il processo di guarigione. Nei soggetti allergici il trattamento va mantenuto durante tutto l'anno in modo da tenere costantemente i parassiti al di sotto della soglia a rischio di manifestazioni clinicamente evidenti.

4.3.3 Infestazioni da zecche

EZIOLOGIA

PHILUM:	Arthropoda
CLASSE:	Arachnida
ORDINE:	Acarina

Con il termine zecche sono comunemente indicate due famiglie:

- 2) Ixodidae → sono le zecche dure, in quanto provviste di uno scudo chitinoso che copre l'intera superficie dorsale dei maschi adulti. Nelle femmine adulte, nelle larve e nelle ninfe lo scudo si estende solo per una piccola area in modo da permettere il rigonfiamento dell'addome dopo il pasto di sangue.
- 2) Argasidae → sono le zecche molli, sprovviste dello scudo, parassiti degli uccelli.

Gli ixodidi sono importanti vettori di protozoi, batteri, virus e rickettsie. I generi *Ixodes*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Haemaphysalis* sono i più importanti in Europa.

CICLO BIOLOGICO

Le zecche presentano 4 stadi evolutivi: l'uovo, la larva, la ninfa e l'adulto maschio o femmina. La larva, la ninfa e l'adulto femmina necessitano obbligatoriamente di un pasto di sangue.

Gli ixodidi sono parassiti temporanei e il periodo che passano sull'ospite è relativamente breve rispetto alla loro sopravvivenza.

Le uova sono deposte in numero variabile (da 1000 a 10.000) in un'unica massa; di colore bruno-rosato sono visibili ad occhio nudo (0.5 mm). Dopo qualche giorno dalla schiusa la larva inizia la ricerca dell'ospite. La metamorfosi ha luogo dopo il pasto di sangue e gli stessi fenomeni si ripresentano fino allo stadio di adulto.

Le zecche hanno diversi tipi di ciclo evolutivo a seconda del tipo e del numero di ospiti necessari al loro sviluppo. La durata e le modalità del ciclo sono influenzati da fattori esterni quali il clima, l'umidità e la temperatura.

Il ciclo “monofasico” è il più specifico e il meno frequente. È anche quello di più breve durata, non essendoci la necessità per la zecca di ricercare un nuovo ospite ad ogni stadio evolutivo. Le zecche che presentano questo ciclo sono sempre *monotrope* poiché hanno la stessa specificità per la scelta dell’ospite in tutti gli stadi.

Il ciclo “difasico” (tipico ad esempio di *Rhipicephalus bursa*) prevede la scelta di due ospiti: larva e ninfa si sviluppano sullo stesso ospite. I due ospiti possono appartenere alla stessa specie (zecche *monotrope*) o a due specie differenti (zecche *ditrope*).

Il ciclo “trifasico” implica la ricerca di un nuovo ospite ad ogni stadio ed è di gran lunga il ciclo più comune (90%) (Adelus, 1995). Presentano questo tipo di ciclo le zecche *telotrope*, le cui forme immature sono ubiquitarie e gli adulti selettivi nella scelta dell’ospite, come *Ixodes ricinus* e *Rhipicephalus sanguineus*.

La fecondazione ha luogo con l’accoppiamento sull’ospite o sul terreno a seconda che il pasto di sangue sia necessario o meno alla spermatogenesi.

Sono i feromoni, sostanze attive a bassissima concentrazione e secrete essenzialmente dalle femmine, che consentono il richiamo, l’attrazione sessuale e la differenti fasi della fecondazione.

Dopo il pasto di sangue e un periodo di durata variabile chiamato pre-deposizione, si ha l’ovodeposizione che avviene sul terreno. Le uova sono deposte in un’unica massa in un periodo variabile dai 5 ai 20 giorni, sono molto numerose (300 uova in media), fatto che compensa i rischi del ciclo dovuti a morte per inanizione o a causa delle condizioni climatiche. La femmina muore dopo la deposizione.

La durata dell’incubazione varia sempre in rapporto alle condizioni climatiche. Qualche giorno dopo la schiusa, la larva cerca attivamente il suo ospite, si fissa, compie il pasto di sangue e subisce la metamorfosi in ninfa.

Anche se il periodo di attività varia in relazione alla specie e allo stadio evolutivo, i fattori climatici condizionano fortemente la presenza della zecca nell’ambiente. La maggior parte delle specie ha essenzialmente bisogno di umidità (50-70%) per assicurare la sopravvivenza delle uova e delle larve (Adelus, 1995).

La temperatura è un fattore dinamico determinante per l’attività delle zecche; al di sotto di certi valori, l’attività rallenta fino ad entrare in diapausa per più settimane o più mesi. In tal modo un ciclo trifasico, la cui durata minima è di 20 settimane, può raggiungere tempi anche fino a quattro anni.

Questo spiega il carattere stagionale delle infestazioni e delle malattie trasmesse da zecche, che presentano generalmente un picco primaverile ed uno autunnale.

Le zecche sono parassiti ematofagi obbligati che compiono un solo pasto di sangue per ogni stadio evolutivo; il comportamento e la fisiologia della zecca sono, quindi, legati alla ricerca dell'ospite e al pasto di sangue.

La ricerca dell'ospite è guidata dall'*organo di Haller* situato sul primo paio di arti. Quest'organo determina la caratteristica posizione delle zecche in attesa di un ospite. L'*organo di Haller* è in grado di rilevare le variazioni di temperatura, di pressione e di anidride carbonica nell'ambiente circostante. Quando una zecca identifica la presenza di un potenziale ospite, vi si lascia cadere sopra e si fissa nella cute; le regioni a pelle sottile sono in generale quelle privilegiate. Gli adulti delle specie con rostro lungo, come *Ixodes*, si fissano a livello di zona giugulare, dell'incavo ascellare, dell'inguine, delle mammelle, dello scroto e dell'ano. Le specie con rostro più corto, come *Rhipicephalus*, si riscontrano più facilmente sopra o all'interno del padiglione auricolare, attorno all'ano o sotto la coda. Nel corso della penetrazione nella cute, le ghiandole salivari producono una secrezione biancastra che permette una fissazione solida della zecca al tegumento dell'ospite.

All'estremità del rostro si forma una "cavità" attraverso la quale la zecca si nutre con una suzione rapida alternata a secrezioni salivari. Il pasto è lento all'inizio per poi intensificarsi nella femmina gravida. Solo le zecche femmine, le larve e le ninfe compiono un pasto di sangue completo, per i maschi è sufficiente una piccola quantità di sangue, talvolta anche solo di linfa (*Ixodes*).

La cronologia del pasto di sangue è importante per due motivi: è spesso durante il periodo di suzione lenta che le femmine sono fecondate; è alla fine del periodo di suzione rapida che eventuali agenti patogeni vengono inoculati, quando il rigurgito delle secrezioni salivari è abbondante.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

Le infestazioni al nord dell'arco alpino presentano due picchi stagionali: uno tra marzo e giugno e uno da agosto a novembre; in Italia tendono invece ad aumentare da maggio a luglio-agosto per poi decrescere verso settembre-ottobre.

Spesso i proprietari dei cani notano una singola zecca femmina piena di sangue, che appare come un nodulo grigio attaccato al loro animale. Le zecche si infliggono nella cute dell'ospite con il loro apparato buccale e normalmente non si spostano all'interno del mantello dell'animale.

La sottrazione di sangue e le lesioni dermatologiche dovute alla fissazione sono la base dell'azione patogena delle zecche.

A seguito di un'infestazione da zecche, si possono definire tre livelli di patogenicità diretta o indiretta:

- reazione di ipersensibilità: si tratta di una reazione infiammatoria dell'ospite a seguito della puntura della zecca; nel corso della prima infestazione la reazione è conseguente a meccanismi infiammatori non specifici, con aumento della concentrazione di istamina e serotonina. Nelle reinfestazioni compaiono spesso fenomeni di ipersensibilità che causano una reazione più violenta e più precoce dominata da un'infiltrazione di basofili e di eosinofili;
- inoculazione di tossine: alcune specie di zecche possono inoculare tossine neurotropiche, il cui effetto è tanto più attivo quanto più il morso è in prossimità di un ramo nervoso importante;
- introduzione di agenti patogeni: le zecche possono essere portatrici di un grande numero di germi, ma ogni specie di zecca ha generalmente un ruolo vettore principale riguardo ad un ospite definito e in un ambiente definito. *Ixodes ricinus* è vettore principale di *Borreliosi* o "Malattia di Lyme", mentre *Rhipicephalus sanguineus* invece è il principale vettore di *Ehrlichiosi* e *Babesiosi* detta anche *Piroplasmosi*.

DIAGNOSI

Si attua con il rinvenimento sul corpo del cane di una o più zecche, che solitamente sono femmine adulte.

LOTTA

Il controllo degli Ixodidi è basato sull'uso di prodotti acaricidi somministrati in forma di bagni, spray o spot-on.

I trattamenti dovrebbero essere effettuati prima di portare gli animali in aree riconosciute a rischio in modo da prevenire e controllare gli episodi di infestazione.

Per i cani e per i gatti sono disponibili numerosi prodotti a base di esteri fosforici, carbamati e associazioni di piretrine e piretroidi in diverse formulazioni dotati di elevata attività abbattente e residuale. Questi ultimi sono da preferire per la più bassa tossicità. Buoni risultati possono essere ottenuti anche tramite l'utilizzo del fipronil, in grado di proteggere gli animali per circa 30 giorni. Le avermectine/milbemicine sono caratterizzate da elevata attività residuale e possono essere impiegate in piani di controllo ed eradicazione. Sono inoltre a disposizione collari impregnati di varie sostanze acaricide, anche se il loro impiego sta man mano diminuendo.

Controllo delle zecche a un ospite: si basa sull'impedire alle femmine di raggiungere lo stadio maturo, quando sono piene di uova, in modo da prevenire e limitare la deposizione delle uova nell'ambiente. In teoria se il trattamento acaricida viene effettuato ogni 21 giorni durante la stagione delle zecche, il controllo dovrebbe essere pienamente efficace.

Controllo delle zecche a due o tre ospiti: si basa anch'esso sul prevenire la maturazione delle femmine e la deposizione delle uova. I trattamenti dovrebbero essere effettuati a scadenza settimanale.

4.3.4 Infestazioni da acari

PHILUM:	Arthropoda
CLASSE:	Arachnida
ORDINE:	Acarina
FAMIGLIA:	Sarcoptidae
GENERI:	Sarcoptes Notoedres Knemidocoptes
FAMIGLIA:	Demodicidae
GENERE:	Demodex

Gli acari sono dei piccoli artropodi, spesso di dimensioni inferiori a 1 mm. Con poche eccezioni passano la maggior parte della vita in forma parassitaria sulla cute degli ospiti

causando patologie indicate con il termine di Rogna.

Sono parassiti obbligati e spesso compiono l'intero ciclo vitale sull'ospite e la via più importante di diffusione è il contatto.

4.3.4.1 Rogna sarcoptica

EZIOLOGIA

Sostenuta da acari appartenenti alla specie *Sarcoptes scabiei*, che comprende numerose varietà di solito ospite-specifiche.

S. scabiei ha corpo tondeggiante con un diametro che può raggiungere 0,4 mm e zampe corte che sporgono appena dai margini del corpo. Possiede numerose pieghe trasversali e scaglie triangolari sul dorso.

CICLO BIOLOGICO

La femmina fecondata scava gallerie negli strati più superficiali dell'epidermide nutrendosi dei liquidi interstiziali provenienti dai tessuti danneggiati. Le uova deposte nelle gallerie si schiudono dopo 3-5 giorni e le larve esapodi che ne fuoriescono si dirigono verso la superficie cutanea dove si rintanano negli strati superficiali dell'epidermide creando una "tasca" all'interno della quale si trasformano in ninfe e adulti. I maschi si dirigono alla ricerca delle femmine sia all'interno delle "tasche" sia sulla superficie cutanea. La femmina feconda inizia a scavare nuove gallerie e il ciclo si completa in 17-21 giorni.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

La sede preferenziale degli acari è rappresentata da orecchie, muso garretto e gomito. Le lesioni si manifestano nelle fasi iniziali con eritema seguito dalla formazione di papule, scaglie, croste e alopecia.

Il sintomo principale è un intenso prurito e frequenti sono i danni causati da

autotraumatismi. Il prurito insorge dopo una settimana circa dall'infestazione primaria, nella maggior parte dei casi prima che le lesioni cutanee siano evidenti. L'intensità del prurito è esacerbata dall'insorgenza di una reazione di ipersensibilità cutanea agli allergeni liberati dal parassita rappresentati in larga parte dai cataboliti.

Nei casi trascurati può essere interessata l'intera superficie corporea e si osserva abbattimento; i soggetti sono emaciati ed emanano un odore caratteristico intensamente acido.

Nell'uomo

Sebbene l'uomo possa essere interessato dalla varietà di *S. scabiei* che interessa il cane (comunque con guarigione spontanea negli individui immunocompetenti), la malattia può assumere carattere anche grave se sostenuta da *Sarcoptes scabiei var.Hominis*.

La malattia è diffusa in tutto il mondo; il contatto può essere diretto, talora per via di contatti sessuali oppure mediato dalle lenzuola, indumenti, sacco a pelo, ecc., oppure da animali domestici.

L'incubazione è variabile da alcuni giorni a più settimane.

L'acaro, una volta allontanato dalla pelle, soccombe in pochi giorni.

Le lesioni pruriginose, che si manifestano con intenso prurito tipicamente al momento di coricarsi, è riscontrabile nelle regioni anatomiche degli spazi interdigitali delle mani, dei polsi, delle ascelle, delle regioni peri-capezzolari e della regione dei glutei.

A livello degli organi genitali, se il processo dell'affezione dura da alcune settimane, si manifesteranno delle lesioni nodulari rosse estremamente pruriginose a livello del prepuzio e, talvolta, dello scroto: sono zone anatomiche molto significative per un decorso cronico della scabbia.

DIAGNOSI

Criteri importanti per la diagnosi sono:

- 1) bordi delle orecchie sono spesso i primi ad essere colpiti e una loro stimolazione provoca facilmente il riflesso di trattamento;

- 2) il prurito è sempre intenso. Nei casi di dermatiti non pruriginose la possibilità di rogna sarcoptica può essere esclusa;
- 3) è una malattia altamente contagiosa ed è difficile che in gruppi di cani che vivono a stretto contatto sia colpito un solo soggetto.

La conferma del sospetto diagnostico si ottiene mediante l'esame microscopico del raschiato cutaneo, da effettuarsi con una lama di bisturi intorno al bordo di una lesione. L'evidenziazione dell'acaro a volte è difficile; occasionalmente si possono osservare passerelle fecali e uova. Per confermare la diagnosi sono inoltre disponibili test sierologici per rilevare gli anticorpi anti-*Sarcoptes*.

Nell'uomo la valutazione clinica mette in evidenza delle lesioni cutanee caratterizzate da un "cunicolo" che costituisce in via sotto-epidermale la zona dove risiede la femmina fecondata di *Sarcoptes*. Trattasi di un piccolo canale sottocutaneo tortuoso della lunghezza variabile da alcuni millimetri a mezzo centimetro il più delle volte presente negli spazi interdigitali delle mani.

Il medico cercherà di mettere in evidenza microscopicamente l'agente causale prelevando dell'epidermide a livello interdigitale, ma non sempre questa tecnica è sufficiente per accertare la presenza del parassita ed è per questo che la scabbia, anche solo sospettata, va comunque curata.

LOTTA

Il trattamento si basa su trattamenti topici (bagni o spot-on) con sostanze acaricide a scadenza settimanale per almeno 4 settimane proseguendo, se necessario, fino alla scomparsa delle lesioni.

Poiché la malattia è altamente contagiosa i cani dovrebbero essere isolati e i proprietari avvisati che la guarigione richiede tempi lunghi. Per evitare la diffusione sarebbe opportuno trattare anche gli altri cani che vivono a contatto.

La terapia nell'uomo prevede applicazioni di anti-parassitari; la cura sarà completata dal cambio di tutta la biancheria e le lenzuola dopo aver terminato la stessa.

In soggetti con cute secca la terapia anti-parassitaria crea un'irritazione: il paziente risentirà ancora del prurito non più dovuto alla scabbia, ma ad un'esacerbazione della dermatite eczematoide.

In questo caso il medico prescriverà una cura sintomatica.
Tutte le manifestazioni devono scomparire entro una settimana.

4.3.4.2 Rogna demodettica

EZIOLOGIA

Sostenuta da acari appartenenti al genere *Demodex*, in grado di originare malattia anche grave soprattutto nella specie canina. Tali acari hanno corpo affusolato, lungo fino a 0,2 mm, spesso descritti come “a forma di sigaro”, con quattro abbozzi di arti nella parte anteriore.

CICLO BIOLOGICO

Demodex vive come commensale nei follicoli piliferi e nelle ghiandole sebacee della maggior parte dei mammiferi senza di norma manifestare predilezioni per determinate aree del corpo.

Questi acari completano il ciclo vitale all'interno del follicolo o della ghiandola dove si localizzano numerosi con la caratteristica posizione della testa rivolta verso il basso. *Demodex* raggiunge una localizzazione molto più profonda rispetto a *Sarcoptes* ed è difficile da trattare con acaricidi ad uso topico.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA

A causa della localizzazione profonda del parassita la trasmissione dell'infestazione per contatto è praticamente impossibile. Solitamente l'acaro viene trasmesso durante l'allattamento nel corso delle prime settimane di vita. Gli acari che vivono come commensali sulla cute della madre possono essere trasmessi ai cuccioli specialmente nelle aree in cui il contatto è maggiore come il muso, la regione orbitale e gli arti anteriori dove si manifestano inizialmente le lesioni.

Nelle fasi iniziali dell'infestazione si può osservare una modesta perdita di pelo sulla testa e sugli arti anteriori seguita da ispessimento cutaneo. Il parassita può rimanere localizzato a queste aree e la malattia risolversi spontaneamente senza alcun trattamento. In alcuni casi invece le lesioni si diffondono a tutto il corpo dando luogo a forme generalizzate. Sulla base degli aspetti clinici le forme generalizzate vengono distinte in:

- 1) Forma squamosa: è quella meno grave; la cute si presenta leggermente eritematosa, alopecica, con desquamazioni e ispessimento;
- 2) Forma pustolosa (o demodicosi follicolare): è più grave ed è determinata dall'insorgenza di sovrainfezioni batteriche (di solito da *Staphilococcus* spp). La cute si presenta ispessita e grinzosa con numerose pustole da cui trasudano siero, pus e sangue (da cui il nome "rogna rossa"). I cani colpiti hanno un caratteristico odore sgradevole. Gli esiti delle lesioni possono essere così gravi da indurre i proprietari (gli allevatori) a richiedere l'eutanasia.

Caratteristica importante della Rogna demodectica è la totale assenza di prurito.

La patogenesi è molto complessa; la compromissione del sistema immunitario riveste un ruolo di fondamentale importanza. Si ritiene che certe cagne possano trasmettere genericamente carenze del sistema immunitario ai cuccioli che risultano quindi più suscettibili all'infestazione. L'acaro stesso può causare una immunodeficienza cellulo-mediata che sopprime la normale funzionalità dei linfociti T. La rogna può anche insorgere con farmaci che interferiscono sulla funzionalità immunitaria o per altri fattori.

DIAGNOSI

La diagnosi basa sull'esame microscopico del raschiato cutaneo eseguito in profondità, in modo da raccogliere gli acari nei follicoli e nelle ghiandole sebacee: utilizzando una lama da bisturi, effettuare il raschiamento della cute fino a procurare un leggero sanguinamento.

LOTTA

Data la localizzazione profonda i parassiti sono relativamente protetti nei confronti degli acaricidi utilizzati per via topica. I trattamenti devono essere ripetuti e protratti nel tempo e

i miglioramenti si manifestano lentamente.

Nelle forme squamose localizzate la guarigione può avvenire in 1-2 mesi mentre nelle forme generalizzate pustolose la prognosi è riservata ed i trattamenti richiedono almeno 3 mesi.

Prima dell'applicazione di qualsiasi acaricida i cani dovrebbero essere tosati, lavati con detergenti anti-seborroici ed asciugati accuratamente.

Tra gli acaricidi quello più utilizzato è l' amitraz, che deve essere applicato una o due volte ogni 14 giorni. Gli animali devono essere accuratamente bagnati in tutte le parti del corpo con la soluzione acaricida (meglio se immersi) insistendo sulle aree lesionate.

Nei casi di mancata risposta si può ricorrere all'uso di avermectine per via o orale o parenterale.

4.4 DERMATOFITOSI

EZIOLOGIA

Le dermatofitosi sono infezioni contagiose superficiali della cute che interessano peli, strato corneo e unghie, causate da funghi cheratinofilici e cheratinolitici, i dermatofiti. Colpiscono molte specie animali, compreso l'uomo; presentano un quadro clinico molto vario la cui caratteristica principale è un' alopecia solitamente non pruriginosa e con diversi gradi d'infiammazione. Rappresentano malattie contagiose e si ritrovano con maggiore frequenza in animali che vivono in collettività, a stretto contatto tra di loro.

Gli animali malati sono un problema di salute pubblica poiché i dermatofiti isolati dagli animali sono agenti di zoonosi.

Il termine fungo include lieviti e muffe. I funghi sono organismi eucarioti, immobili, chemiosintetici ed eterotrofi, privi di clorofilla, possono crescere nella forma di lieviti, unicellulari, o muffe, pluricellulari e filamentosi, oppure possono presentarsi con entrambe le forme. Possono riprodursi mediante riproduzione sessuata (forma perfetta o telomorfa) e/o asessuata (forma imperfetta o anamorfa). La forma riproduttiva che origina dalla riproduzione asessuata viene definita conidio (plurale conidi) mentre la forma sessuata origina spore.

I funghi vengono tradizionalmente identificati e classificati secondo il loro metodo di produzione dei conidi e delle spore, secondo la loro dimensione e il colore dei conidi e secondo il tipo di ife prodotte e il loro aspetto macroscopico (De Hoog et al, 2000).

Un singolo filamento vegetativo di un fungo è chiamato ifa mentre una massa di ife forma il micelio.

I miceti sono largamente diffusi nell'ambiente; essi vivono come saprofiti negli strati superficiali del suolo e nel materiale organico in decomposizione o, come commensali, in vari organismi animali. Alcune specie sono in grado di provocare nell'uomo, negli animali e nelle piante, malattie che vengono denominate micosi (Polonelli et al., 1993).

CLASSIFICAZIONE DERMATOFITI

Per convenzione la classificazione dei miceti si basa sulla modalità di riproduzione sessuata o perfetta, ripartendo i miceti patogeni in quattro gruppi: Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota, Deuteromycota.

I dermatofiti appartengono al gruppo degli Ascomycota ed in particolare ai tre generi *Microsporum*, *Trichophyton* ed *Epidermophyton*.

In base al loro habitat naturale, possono essere suddivisi in tre gruppi (Scott et al, 2001):

Geofili: generalmente saprofiti, sono ben adattati a vivere e a replicarsi nel suolo dove decompongono materiale cheratinico fornito da peli e squame cutanee provenienti da animali o dall'uomo. Per i dermatofiti geofili non si verifica trasmissione interumana, ma la fonte di contagio rimane l'ambiente.

Antropofili: sono completamente adattati al parassitismo sull'uomo, sono quelli più facilmente trasmissibili per contatto interumano. Queste specie non si riscontrano nel suolo allo stato saprofitario e solo molto raramente possono infettare gli animali. Sono adattati all'uomo, possono sopravvivere nell'ambiente ma generalmente non vi si replicano.

Zoofili: sono funghi adattati al mondo animale e sono tutti agenti di zoonosi. Non sono specie-specifici, ma hanno un "ospite serbatoio" rappresentato talvolta da una sola specie essenziale.

Nella maggior parte dei casi le dermatofitosi canine e feline sono causate da *M. canis*.

MORFOLOGIA E RIPRODUZIONE

L'unità strutturale delle muffe (miceti pluricellulari) è rappresentata dall'ifa, che si forma dall'unione di più cellule fungine. Le ife insieme formano il micelio, che può essere morfologicamente distinto in due parti: micelio vegetativo, con prevalenti funzioni di assorbimento di materiale nutritivo dal terreno e micelio aereo, responsabile dell'aspetto tipico della colonia.

Microscopicamente i dermatofiti producono in coltura due tipi di spore: macroconidi, pluricellulari, e microconidi. Le prime hanno dimensioni di diverse decine di μm , forma allungata, lanceolata, clavata, fusiforme e contengono camere tra loro separate da setti trasversali. I microconidi sono piccole cellule singole, globose o clavate, talora riunite a gruppi, del diametro di circa 2-5 μm .

Prendendo come esempio *Microsporum canis*, dermatofita zoofilo, le colture hanno aspetto simile ad una fine stella d'amianto traslucida, che, in fase di coltura più avanzata, assume l'aspetto caratteristico di disco cotonoso con un colore che varia dal bianco al camoscio al centro e giallo arancio alla periferia e sul retro della coltura (Figura 28).



Figura 28 Aspetto macroscopico di *M.canis* (Istitute Pasteur Parigi, 2007).

Microscopicamente *M.canis* presenta macroconidi settati, con pareti spesse, di dimensioni 30-40 μm x 6-10 μm , a forma di fuso, contenenti 6 o più cellette al loro interno (figura 29). Spesso nella parte apicale è presente una protuberanza, simile ad una mazza ferrata, talvolta leggermente incurvata come l'abbozzo di un uncino. I microconidi sono lunghi e sottili, clavati o piriformi, generalmente poco numerosi.



Figura 29. Aspetto microscopico di *M.canis* (Istitute Pasteur Parigi, 2007).

I dermatofiti sono funghi che possiedono una forma sessuata ed una forma asessuata: la prima ha poco interesse nella pratica clinica, mentre la forma asessuata è l'unica implicata nella dermatofitosi.

La temperatura ideale di sviluppo è compresa fra 24 e 30°C, tuttavia certi miceti termofili si sviluppano meglio a 37-40°C; inoltre mentre molti funghi si sviluppano nell'arco di 24-48 ore, altri hanno una crescita molto lenta e possono richiedere anche 3-4 settimane.

Il pH ideale di sviluppo è attorno alla neutralità, ma resistono anche a pH compreso fra 3 e 10.

Diverse specie di dermatofiti sono state isolate da animali domestici, sia tenuti in cattività che allevati allo stato brado, ma spesso una specie fungina è associata ad un particolare ospite: *M. canis* al gatto (più raramente al cane), *T. mentagrophytes* ai roditori, *Trichophyton equinum* al cavallo, *T. verrucosum* ai bovini, ma può infettare facilmente altri ospiti.

I dermatofiti, specialmente *M. canis*, possono anche venire isolati da animali asintomatici che fungono da carriers. Questa situazione si verifica molto più frequentemente nel gatto che nel cane (Chermette et al, 2008).

Le dermatofitosi sono più comuni nei periodi caldi, in ambienti umidi, condizioni che favoriscono l'insorgere dell'infezione in molti animali. Bagni eccessivi o eccessiva pulizia dell'animale possono predisporre all'insorgenza di una micosi, in quanto vengono rimosse le barriere cutanee naturali, quali sebo, le cellule morte superficiali ecc.

M.canis è segnalato ovunque nel mondo come responsabile di dermatofitosi nell'uomo.

Numerosi studi compiuti a partire dagli anni '80 confermano che le specie più rappresentate sono di origine zoofila, con *M.canis* al primo posto, soprattutto nell'area mediterranea.

In Europa è stato riscontrato che le dermatofitosi sono più comuni nei Jack Russel terrier, negli Yorkshire terrier (soprattutto *M. canis*) e nei Pechinesi (soprattutto *M. canis*)

PATOGENESI

La dermatofitosi può essere contratta direttamente per contatto con persone o animali infetti, o in maniera indiretta attraverso l'esposizione ad ambienti od oggetti contaminati quali collari, spazzole, giochi, giacigli. L'infezione si trasmette attraverso le spore a un ospite suscettibile. Gli elementi infettanti sono gli artroconidi (o artrospore), che derivano dalla segmentazione e dalla frammentazione delle ife fungine e sono molto resistenti nell'ambiente, dove possono sopravvivere vitali fino a 18 mesi. La trasmissione di *M.canis* avviene soprattutto attraverso il contatto con animali infetti.

L'esposizione al contagio non significa che automaticamente si instauri l'infezione, poiché le spore possono venire asportate con la toelettatura personale (specie nel gatto), oppure persistere senza colonizzare lo strato corneo intatto, grazie alle difese immunitarie aspecifiche del soggetto (in tal caso le spore sono presenti sul pelo dell'animale ma in questa sede non vi è attività riproduttiva) o competere senza successo con la flora cutanea residente.

Infatti l'infezione dermatofitica è strettamente condizionata dall'intervento combinato di due fattori fondamentali: la capacità patogena del micete e la capacità difensiva delle strutture che esso aggredisce. Le ife fungine non possono generalmente penetrare la cute integra: traumi cutanei anche lievi facilitano infatti l'insorgere dell'infezione. La cute asciutta e le proprietà fungistatiche del sebo cutaneo rappresentano i meccanismi di difesa naturali dell'individuo (Greene, 2006).

Per provocare l'infezione le spore devono penetrare nell'epidermide o nei follicoli piliferi. L'azione meccanica si compie a carico della superficie cornea, del pelo e dell'unghia.

Sullo strato corneo dell'epidermide, le ife miceliali si insinuano negli spazi inter-cellulari dove trovano il nutrimento necessario e solo raramente penetrano nelle cellule cheratinizzate.

Dopo essersi moltiplicati sulla superficie epidermica, i dermatofiti penetrano nel follicolo

pilifero, dove formano un manicotto di ife visibili solo microscopicamente; queste ife penetrano all'interno del pelo.

L'azione di invasione del pelo da parte dei dermatofiti è resa possibile grazie al corredo enzimatico che questi organismi possiedono, veri e propri fattori di virulenza fungina. Il numero e la quantità degli enzimi prodotti varia e questo potrebbe spiegare, in parte, la variabilità delle presentazioni cliniche. Un enzima extra-cellulare comune ai dermatofiti è la cheratinasi che permette loro di demolire la cheratina.

L'infiammazione cutanea è dovuta alla presenza di tossine prodotte nello strato corneo cutaneo, che provoca una sorta di dermatite da contatto.

Il grado di risposta infiammatoria che si presenta nell'ospite gioca un ruolo fondamentale nel determinare il tipo di lesioni cliniche e nel porre fine all'infezione. Una dermatofitosi in cani e gatti in buona salute è spesso autolimitante.

La risposta immunitaria interferisce con la crescita del dermatofita, che di conseguenza si sposta in modo centrifugo, colonizzando nuove zone cutanee, con la formazione delle tipiche lesioni circolari.

Poiché i dermatofiti sopravvivono solo nelle zone del pelo già cheratinizzato, dopo circa una settimana si stabilisce un equilibrio fra produzione di cheratina e crescita fungina. L'infezione si interrompe quando il pelo entra in fase telogena e cade o quando si sviluppa una risposta immunitaria specifica. (Noli, Scarampella, 2002).

La presenza di altre patologie e la riduzione delle difese dell'organismo possono aumentare la suscettibilità; l'incidenza di micosi cutanee aumenta nei pazienti malnutriti, con parassitosi o debilitati, specialmente in gatti che hanno smesso di toelettarsi. Anche i pazienti sottoposti a chemioterapia sono ad alto rischio. L'iperadrenocorticismismo o l'utilizzo di terapie cortisoniche può favorire l'insorgenza di micosi perché i corticosteroidi hanno un effetto immunosoppressore

Animali giovani o molto vecchi sono caratterizzati da una minore efficienza del sistema immunitario e vengono quindi interessati più spesso da tali patologie. Nei cuccioli e nei gattini le dermatofitosi sono molto frequenti e spesso si presentano in concomitanza a infestazioni parassitarie da pulci o acari della rogna (demodicosi).

Tra gli altri fattori che favoriscono l'infezione fungina vengono inclusi i traumi della cute (lesioni cutanee da morso, grattamento o lesioni da ectoparassiti) e tutte quelle patologie pre-esistenti che causano un aumento dell'umidità superficiale o bagni eccessivi che ne indeboliscono le difese cutanee.

C'è inoltre una forte convinzione clinica che gli animali a pelo lungo sono più colpiti dalle

infezioni fungine.

Il clima e la stagione sembrano anch'essi giocare un ruolo determinante nelle dermatofitosi: *M.canis* sembra avere una maggior incidenza in presenza di un clima caldo umido (la germinazione delle spore è termo-dipendente, valori ottimali compresi tra 24°C e 30°C); si riscontrano, inoltre, più frequentemente in autunno (Galuppi et al., 2002).

Il contatto con altri animali è un fattore da non sottovalutare: questo spiega l'alta prevalenza, nei soggetti che vivono in canili o gattili.

SINTOMATOLOGIA

La dermatofitosi è una malattia pleomorfa e non può essere diagnosticata basandosi esclusivamente sui rilevamenti clinici. Si tratta primariamente di una malattia follicolare e i principali segni clinici comprendono la perdita del pelo, la produzione di scaglie e di croste, mentre la presenza di prurito è variabile. Alcuni pazienti sviluppano la lesione tipica ad anello, caratterizzata dalla zona centrale alopecica e alla periferia papule follicolari e infiammazione.

Le lesioni possono essere singole o multiple e localizzate in qualsiasi parte dell'animale, anche se le parti anteriori del corpo e la testa sembrano essere più frequentemente coinvolte (figura 30). Generalmente l'estensione delle lesioni è centrifuga.

La cute può essere normale o arrossata con squame o croste, oppure umida per la presenza di essudato. Il periodo di incubazione si aggira attorno alle 2-4.

Può a volte svilupparsi un tipo di lesione denominata "kerion". La lesione si presenta come una zona di flogosi acuta, edematosa ed umidiccia, che trasuda materiale purulento, in cui si è verificata una compartecipazione di infezione fungina e batterica.

Sono stati descritti anche episodi di onicomicosi in cui le unghie appaiono deformate, asciutte e fragili (Muller et al., 1994).



Figura 30. Esempio di lesione micotica, in un cane: alopecia multifocale, localizzata nella regione della testa (Da Drout et al., 2009).

DIAGNOSI

La visita clinica può fornire un sospetto di dermatofitosi, ma la conferma la si ha solo con degli esami più approfonditi.

Tra le tecniche di laboratorio maggiormente utilizzate vi sono: fluorescenza alla lampada di Wood, esame microscopico a fresco, esame colturale e tecniche istologiche.

Fluorescenza alla lampada di Wood

La lampada di Wood è una lampada a raggi ultravioletti di lunghezza d'onda pari a 253.7 nm; l'esame viene effettuato al buio, passando la lampada, opportunamente preriscaldata, sulla superficie corporea dell'animale. L'esame con la lampada di Wood è molto utile per cercare *M. canis* in infezioni cutanee sospette in cani, gatti e conigli. Infatti, sotto i raggi di luce ultravioletta emessa dalla lampada, circa il 50% dei ceppi di *M. canis* (Greene, 2006) emette una fluorescenza di colore verde mela.

In caso di positività la presenza di fluorescenza deve essere apprezzabile esclusivamente lungo l'asse dei peli e qualunque fluorescenza che compaia a carico di materiale crostoso o a carico delle unghie è da ritenere falsa. (Marchetti et al., 2000).

Esame microscopico a fresco

Il prelievo del materiale va eseguito con estrema attenzione e possibilmente alla periferia della lesione dove la carica fungina è maggiore; anche perché, probabilmente, il centro della lesione è in via di guarigione e quindi non sarebbe possibile isolare il fungo.

I peli possono venire strappati con pinzette, nel senso di crescita del pelo stesso in modo da ottenere la radice intatta, oppure tagliati con forbici o rasati con bisturi. Le squame cutanee si raccolgono con la lama del bisturi. Il materiale prelevato può essere osservato “a fresco”, in olio di vaselina, o dopo essere stato digerito con una soluzione di clorolattofenolo o con idrossido di potassio o di sodio al 10%.

Un'altra tecnica per esaminare il materiale a fresco è lo “**scotch test**” che consiste nel far aderire lo scotch direttamente sulla lesione dell'ospite e montarlo successivamente su un vetrino portaoggetti con blu di metilene e copri oggetto per effettuare l'osservazione microscopica.

Esame colturale

L'esame colturale rimane il gold standard per la diagnosi di dermatofitosi e l'unico metodo sicuro per identificare, dal punto di vista fenotipico, la specie fungina coinvolta.

Tecniche istologiche

L'esame istopatologico delle biopsie cutanee prelevate dalle lesioni può confermare la diagnosi di dermatofitosi in circa l'80% dei casi.

Il campione consiste in una porzione di tessuto prelevato chirurgicamente in vivo. Nei campioni istopatologici si può notare la presenza di spore attorno al fusto del pelo e delle ife al suo interno.

LOTTA

Interventi farmacologici

La dermatofitosi in cani in buona salute e in gatti con il pelo corto spesso va incontro a remissione spontanea dei sintomi e si risolve completamente entro 3 mesi.

Tuttavia, ogni qual volta si riscontri un'infezione da dermatofiti è raccomandato il trattamento antifungino per ridurre le possibilità d'infezione per altri animali e per l'uomo e la disseminazione delle forme infettanti nell'ambiente.

Il regime ideale di trattamento comprende tre elementi: il trattamento topico, per ridurre la contaminazione del mantello, ma anche dell'ambiente circostante; il trattamento sistemico, per contribuire alla risoluzione veloce dell'infezione; il controllo ambientale, per evitare che altri animali e/o persone vengano a contatto con il fungo patogeno (Greene, 2006) e che l'animale si possa re-infettare.

Il trattamento topico da solo ha poca efficacia se le lesioni sono molto estese o se si tratta di un'infezione generalizzata. Se possibile, si consiglia di associare il trattamento topico come adiuvante alla terapia sistemica.

Sono disponibili molti prodotti per il trattamento topico delle dermatofitosi. Creme e lozioni possono venire impiegate nel caso di lesioni focali.

Tali trattamenti dovrebbero essere eseguiti su tutto il corpo dell'animale con una frequenza di due/tre volte a settimana.

L'etilconazolo è un ottimo antifungino nelle dermatofitosi da *M.canis*; ha però degli effetti collaterali tra cui: ipersalivazione, anoressia, perdita di peso, vomito, debolezza muscolare idiopatica e un aumento della concentrazione dell'ALT nel siero.

I farmaci per uso sistemico utilizzati attualmente per le micosi sono la griseofulvina, il chetoconazolo, l'itraconazolo, la terbinafina. È stato ipotizzato anche l'uso del lufenuron, principio che inibisce la sintesi di chitina, come antimicotico, ma attualmente non esistono prove di una sua efficacia in tal senso.

Griseofulvina

È un farmaco ancora di frequente utilizzo nelle dermatofitosi di cane e gatto. Agisce a livello dei microtubuli delle cellule fungine, inibendone la mitosi (Noli e Scarpella, 2002); ha perciò un'azione fungistatica, in quanto agisce sulle cellule in fase proliferativa. Dato questo meccanismo d'azione andrebbe somministrato solo nei soggetti con un

sistema immunitario efficiente.

Itraconazolo

L'itraconazolo ha un'azione più specifica e di maggiore efficacia nei confronti della parete cellulare dei funghi ed attualmente rappresenta il farmaco di prima scelta nelle dermatofitosi. Questo farmaco ha la caratteristica di accumularsi nello strato corneo, dove persiste fino a 2-4 settimane dopo la sospensione della terapia. È l'unico antimicotico per uso sistemico registrato per l'utilizzo veterinario in Italia.

Chetoconazolo

Il chetoconazolo è un imidazolo fungistatico che agisce inibendo la sintesi dell'ergosterolo, componente essenziale delle membrane cellulari dei funghi.

Terbinafina

La terbinafina è un agente fungicida particolarmente efficace sui dermatofiti (Noli e Scarampella, 2002). È un farmaco non registrato in medicina veterinaria; danneggia la parete cellulare del fungo e inibisce la sintesi dell'ergosterolo.

Lufenuron

È un farmaco che inibisce la sintesi, la polimerizzazione e la deposizione della chitina. Viene impiegato nella prevenzione delle infestazioni da pulci e agisce interrompendo lo sviluppo larvale dell'insetto (Noli e Scarampella, 2002). Dal momento che la chitina è un costituente della parete cellulare dei funghi, è stata ipotizzata l'efficacia del lufenuron nel trattamento delle dermatofitosi.

In generale cani e gatti con dermatofitosi andrebbero trattati fino alla completa risoluzione dei segni clinici e fino a quando due colture fungine consecutive non siano negative.

Interventi ambientali e prevenzione

Il materiale cutaneo infetto disperso nell'ambiente può rimanere infettante per molto tempo, anche per anni. La decontaminazione ambientale comprende un'accurata pulizia e l'applicazione di agenti disinfettanti nell'ambiente coinvolto. Il fine a cui si vorrebbe

arrivare applicando disinfettanti è quello di inattivare gli elementi fungini infettanti (micelio, spore) presenti su peli, croste e scaglie, dispersi nell'ambiente.

Dal momento che i contatti con animali infetti o con l'ambiente contaminato rappresentano il maggior rischio d'infezione, il modo migliore per evitare l'infezione è prevenire questi contatti. Questa strategia profilattica è molto semplice, ma non è sempre attuabile, in quanto non sempre i soggetti infetti mostrano segni clinici della malattia così eclatanti, anzi, capita spesso che la fonte di contagio sia proprio rappresentata da un animale portatore asintomatico.

Inoltre prima di introdurre nuovi animali in un ambiente è opportuno sottoporli a un controllo micologico, che deve essere effettuato anche a carico di animali che non presentano lesioni evidenti.

Per quanto riguarda l'uomo, nella prevenzione delle dermatofitosi, è di fondamentale importanza il rispetto delle norme igienico-sanitarie di base. Nei confronti delle dermatofitosi di origine zoonosica molto efficace, ai fini della prevenzione del contagio, è l'igiene personale e, in particolare, lavarsi le mani con sapone, preferibilmente a base di zolfo, dopo ogni contatto con animali infetti o potenzialmente tali o con oggetti con cui questi animali possono essere entrati in contatto.

È buona norma isolare gli animali malati o con infezione sospetta in attesa dei risultati; pulire, lavare e disinfettare accuratamente l'ambiente con soluzioni di ipoclorito di sodio allo 0,5% o formaldeide. Per poter proteggere gli animali (a rischio) da una futura infezione è stato proposto l'utilizzo preventivo di un antifungino. Tuttavia non è stato dimostrato se questo utilizzo sia efficace. Studi effettuati sugli uomini hanno dimostrato che l'assunzione di griseofulvina per via orale a scopo profilattico per le dermatofitosi non è efficace. Un trattamento topico – bagni o spugnature su tutto il corpo - potrebbe essere applicato su un soggetto venuto a contatto con un animale o con un ambiente infetto.

PARTE SPERIMENTALE

Capitolo 5.

MATERIALI E METODI

La ricerca è stata condotta nel periodo novembre 2008–giugno 2009, in collaborazione con i Servizi Veterinari dell’ASS 4 “Medio Friuli”, grazie ai quali è stato possibile attuare il prelievo di diversi campioni biologici, con l’Università degli studi di Udine –Dipartimento di Scienze degli alimenti, sezione Patologia Veterinaria-, dove sono stati eseguiti gli esami copromicroscopici, e con l’Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie –Laboratorio di parassitologia ed Ecopatologia, nelle cui strutture sono state effettuate le analisi micologiche.

5.1 TERRITORIO DI INDAGINE

L’indagine ha interessato cani catturati nel territorio dell’ASS 4 “Medio Friuli”, in provincia di Udine.

Con una popolazione (al 3.12.07) di circa 347.000 abitanti distribuiti su 1.807 kmq di superficie, essa comprende i seguenti distretti sanitari (figura 31) e i Comuni elencati nella tabella 5:

- Tarcento;
- Cividale;
- San Daniele;
- Udine;
- Codroipo.

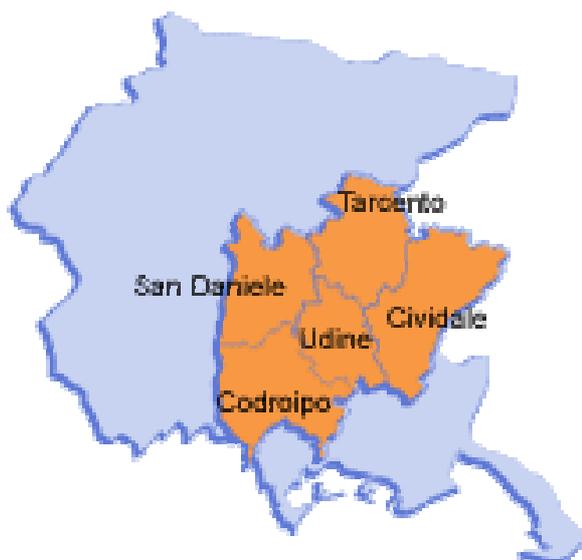


Figura 31. Distretti sanitari dell'ASS 4 "Medio Friuli".

Distretto sanitario	Comuni
Tarcento	Attimis, Cassacco, Faedis, Lesevera, Magnano in Riviera, Nimis, Povoletto, Reana del Rojale, Tarpana, Tarcento, Tricesimo
Cividale	Buttrio, Cividale del Friuli, Corno di Rosazzo, Drenchia, Grimacco, Manzano, Moimacco, Premariacco, Prepotto, Pulfero, Remanzacco, San Giovanni al Natisone, San Leonardo, San Pietro al Natisone, Savogna, Stregna, Torreano
San Daniele	Buja, Colloredo di Montalbano, Coseano, Dignano, Fagagna, Flaibano, Forgaria del Friuli, Majano, Moruzzo, Ragogna, Rive d'Arcano, San Daniele, San Vito di Fagagna, Treppo Grande
Udine	Campoformido, Martignacco, Pagnacco, Pasian di Prato, Pradamano, Pavia di Udine, Pozzuolo del Friuli, Tavagnacco, Udine
Codroipo	Brasiliano, Bertiole, Camino al Tagliamento, Castions di Strada, Codroipo, Lestizza, Mereto di Tomba, Mortegliano, Sedegliano, Talmassons, Varmo

Tabella 5. Comuni compresi nei distretti sanitari dell'ASS 4 "Medio Friuli".

5.2 MODALITÀ DI PRELIEVO

I campioni di feci sono stati prelevati all'interno del box prima delle pulizie giornaliere e conservati in un contenitore sterile in frigorifero, a temperatura non superiore ai 4°C. Sono stati prelevati campioni fecali individuali; per far ciò si è richiesta la collaborazione del personale dell'Azienda Sanitaria addetto alla pulizia dei box.

I campioni da destinare all'esame micologico sono stati raccolti utilizzando idonee spazzole di plastica, pulite e micologicamente sterili (metodo di McKenzie). I cani sono stati accuratamente spazzolati su tutta la superficie corporea, raccogliendo frammenti di cute ed eventuali lesioni cutanee riferibili a dermatomicosi. Tutti i campioni sono stati conservati a temperatura ambiente, all'interno di un sacchetto di nylon, e portati al laboratorio entro i 10 giorni successivi al prelievo.

Ogni campione prelevato (sia i contenitori per le feci che le spazzole degli esami micologici) è stato contrassegnato con il codice di cattura dell'animale (Allegato 1), composto da un numero progressivo e da una lettera indicante l'anno. Al momento dei prelievi è stata inoltre compilata una scheda identificativa dell'animale, in cui sono stati indicati il segnalamento del cane (razza, sesso, taglia, età stimata, tipo di mantello), la data e il codice di cattura, il comune di provenienza, la presenza o meno del microchip, e un sommario Esame Obiettivo Generale (Sviluppo scheletrico e costituzione, stato di nutrizione e tonicità muscolare, stato del sensorio, atteggiamenti e segni particolari, cute e connettivo sottocutaneo, mucose apparenti, linfonodi esplorabili).

Con i campioni fecali raccolti sono state costituite tre aliquote conservate come segue:

- una refrigerata (+ 4°C), per l'esecuzione degli esami copromicroscopici;
- una in formalina 10%, per l'esecuzione dei test IFA finalizzati alla ricerca delle cisti di *Giardia* e oocisti di *Cryptosporidium*;
- una congelata (- 20°C), da destinare a tecniche biomolecolari per la ricerca e la tipizzazione di *Giardia*.

L'esame copromicroscopico qualitativo è stato effettuato entro una settimana dal prelievo.

CANE	GATTO	Razza: Met, tra le razze:	M	F	Taglia:	Età:
Mantello: lung: lungo medio corto raso aspetto: liscio ondulato ruvido colore:			Segni particolari:			
Data e ora prelievo:						
Nome:		Data cattura:	Cod. cattura:			
Comune di provenienza:			Chip presente?			
Note:						

EOG

<p>1) Sviluppo scheletrico e costituzione:</p> <ul style="list-style-type: none"> • testa norm lesione: • colonna vert norm lordosi scogliosi cifosi • appiombi norm varismo c. valgismo c. • dita norm cagnolo mancino
<p>2) Stato di nutrizione e tonicità mm: molto buono (grasso, obeso) buono discreto cattivo pessimo (cachettico)</p>
<p>3) Stato del sensorio: valuto stato di vigilanza e capacità reattiva: normale eccitato depresso</p>
<p>4) Atteggiamenti e segni particolari:</p>
<p>5) Cute e connettivo sottocutaneo: pelo: fitto normale rado assente lucentezza pelo: stato di idratazione: presenti zone alopeciche: si parziale no lesioni • nodulari numero: dimensione media: forma: consistenza: dura carnosa molle margin: regolari irregolari confusi • non nodulari distribuzione: focale multifocale diffusa aspetto clinico:</p>
<p>Mucose apparenti: normali congeste pallide cianotiche itteriche TRC: normale aum dim</p>
<p>Linfonodi esplorabili: normali aumentati di volume altro:</p>

5.3 ESAMI EFFETTUATI

5.3.1 Esami copromicroscopici delle feci

Tutti i campioni di feci sono stati sottoposti ad esame copromicroscopico per sedimentazione e successiva flottazione secondo la seguente metodica:

1. Trasferire in un mortaio circa 3 grammi di feci con una spatola; aggiungere 15-20 ml di acqua e mescolare fino ad ottenere una sospensione omogenea;
2. Versare la sospensione attraverso un colino in una provetta da centrifuga riempiendola fin quasi al bordo;
3. Mettere la provetta in centrifuga bilanciando con una provetta d'acqua. Portare la velocità della centrifuga a 2000 giri al minuto per tre minuti;
4. Versare il surnatante e risospendere il sedimento con soluzione a peso specifico 1350, avendo cura di mescolare accuratamente, riempiendo la provetta fino a $\frac{3}{4}$;
5. Mettere la provetta in centrifuga bilanciando con una provetta d'acqua. Portare la velocità della centrifuga a 2000 giri al minuto per tre minuti;
6. Trasferire la provetta dalla centrifuga al portaprovette, colmare con la soluzione a peso specifico 1350 fino a formare un menisco e coprire con un vetrino coprioggetto;
7. Dopo circa 5 minuti porre il vetrino coprioggetto, evitando di toccarlo con le dita, sul portaoggetti.

Tutti i preparati sono stati osservati al microscopio ottico, utilizzando prima l'ingrandimento x 10 (obiettivo 10 x) e successivamente il 400 x (obiettivo 40 x), per la ricerca delle cisti di *Giardia spp*, esaminando tutta la superficie del vetrino.

5.3.2 Immunofluorescenza diretta per la ricerca di *Giardia e Cryptosporidium* nei campioni fecali

A tal fine è stato utilizzato il Test di immunofluorescenza diretta (IFA) Merifluor® *Cryptosporidium/Giardia*–Meridian Bioscience s.r.l., Italia.

Questo test consente la ricerca simultanea di oocisti di *Cryptosporidium* e di cisti di

Giardia in campioni fecali; è altamente specifico. In questa ricerca verranno considerati solo i risultati relativi a *Giardia* spp.

Principi biologici del Test

Merifluor C/G è basato sulla tecnica di immunofluorescenza diretta.

Il Reagente di identificazione contiene una miscela di anticorpi monoclonali (marcati con fluorescina, FITC) diretti contro gli antigeni della parete cellulare delle oocisti di *Cryptosporidium* e delle cisti di *Giardia*. Gli strisci di materiale fecale opportunamente preparati sono trattati con il Reagente di identificazione e con il colorante di contrasto: gli anticorpi monoclonali si legano agli antigeni eventualmente presenti.

I vetrini vengono poi lavati per eliminare l'eccesso di coniugato, montati con il fluido di montaggio fornito con il kit ed esaminati mediante un microscopio a fluorescenza per esaminare la fluorescenza verde-mela e la tipica morfologia delle oocisti di *Cryptosporidium* e delle cisti di *Giardia*.

Il resto del vetrino ed il materiale estraneo vengono colorati in rosso-arancio dal colorante di contrasto.

Materiali forniti

- Reagente di identificazione: anticorpi monoclonali anti-oocisti di *Cryptosporidium* e anti-cisti di *Giardia* marcati con FITC, diluiti in soluzione proteica tamponata contenente sodio azide allo 0,1%;
- Colorante di contrasto: dimetilformamide: soluzione contenente nero Eriocromo;
- Soluzione di lavaggio 20X: soluzione di lavaggio 20 volte concentrata, contenente un conservante (sodio o-etilmercurio benzoato);
- Controllo positivo: sospensione fecale contenente oocisti di *Cryptosporidium* e cisti di *Giardia* fissate in formalina contenente thimerosal allo 0,09%;
- Controllo negativo: sospensione fecale in formalina contenente thimerosal allo 0,09%;
- Liquido di montaggio: fluido composto da glicerolo contenente formalina, un agente inibitore del fotodecadimento e da sodio azide allo 0,05%;

- Anse calibrate monouso;
- Vetrini trattati per immunofluorescenza.

Altri materiali utilizzati

- Acqua distillata o demonizzata;
- Spruzzetta per lavaggi;
- Camera umida;
- Vetrini coprioggetto (22 x 50 mm), spessore 1;
- Microscopio a fluorescenza equipaggiato con filtro per Fluorescina IsioTioCianato (FITC) con i seguenti parametri: lunghezza d'onda di eccitazione: 490-500; Filtro: 510-530;
- Bastoncini di plastica.

Preparazione dei campioni

Sono stati utilizzati campioni fissati con formalina al 10%.

Preparazione dei reagenti

Lasciare che tutti i reagenti del kit raggiungano temperatura ambiente prima dell'uso; dopodiché preparare il quantitativo necessario di Soluzione di lavaggio 1X.

Ad esempio: 2,5 ml di Soluzione 20X + 47,5 ml di acqua distillata o demonizzata.

Metodica

- 1- trasferire sul vetrino il sedimento fecale con delle anse monouso. Distribuire il materiale fecale uniformemente sull'intera superficie del pozzetto. Evitare di graffiare la superficie trattata del vetrino;

- 2- usando una seconda ansa, trasferire una goccia di Controllo Positivo in un secondo pozzetto. Distribuire il Controllo Positivo uniformemente sull'intera superficie del pozzetto. Evitare assolutamente di graffiare la superficie trattata del vetrino;
- 3- usando un'ulteriore ansa, trasferire una goccia di Controllo Negativo in un terzo pozzetto;
- 4- lasciar asciugare all'aria i campioni a temperatura ambiente fino a quando sono completamente asciutti (solitamente sono sufficienti 30 minuti);
- 5- distribuire una goccia di Reagente di identificazione su ciascun pozzetto;
- 6- distribuire una goccia di colorante di contrasto su ciascun pozzetto;
- 7- mescolare i reagenti con un bastoncino di plastica e coprire l'intera superficie del pozzetto. Evitare assolutamente di graffiare la superficie del vetrino;
- 8- incubare i vetrini a temperatura ambiente per 30 minuti in camera umida, facendo attenzione a proteggerli dalla luce;
- 9- usando una spruzzetta, lavare i vetrini con un getto di soluzione di lavaggio 1X non troppo violento fino a quando l'eccesso di Reagente di identificazione e di Colorante di contrasto è stato allontanato (non immergere i vetrini nel liquido di lavaggio). Durante il lavaggio evitare accuratamente di provocare il distacco dal vetrino o di causare contaminazioni crociate tra i pozzetti;
- 10- eliminare l'eccesso di tampone di lavaggio dai vetrini scutendoli delicatamente su un tovagliolo di carta. Non lasciare asciugare i vetrini;
- 11- distribuire 1 goccia di liquido di montaggio su ciascun vetrino e coprire con il vetrino coprioggetto;
- 12- esaminare accuratamente ciascun pozzetto mediante microscopio a fluorescenza usando un ingrandimento di 100-200 x. La presenza di oocisti di *Cryptosporidium* deve essere confermata usando un ingrandimento maggiore.

Interpretazione dei risultati

Controlli

Le oocisti di *Cryptosporidium* sono di forma rotondeggiante oppure leggermente ovale ed hanno un diametro di 2-6 μm . la parete delle oocisti appare di colore verde-mela brillante. A volte si può notare una linea di sutura.

Le cisti di *Giardia* sono ovali, con un diametro di 8-12 μm . La parete delle cisti appare di

colore verde-mela brillante.

Il materiale di fondo appare colorato rosso-arancio.

Il Controllo Negativo non deve evidenziare la caratteristica fluorescenza verde-mela e la tipica morfologia delle cisti e oocisti.

Alcune colorazioni del materiale di fondo rappresentano degli artefatti. Questa fluorescenza aspecifica del materiale di fondo è facilmente discriminabile da quella specifica a causa della mancata brillantezza o dell'assenza della tipica morfologia delle oocisti.

Campioni

A) **Risultato positivo per *Cryptosporidium*.** Qualsiasi campione fecale che mostri la presenza di una o più oocisti fluorescenti e caratterizzate dalla morfologia tipica, deve essere considerato positivo per *Cryptosporidium*;

B) **Risultato positivo per *Giardia*.** Qualsiasi campione fecale che mostri la presenza di una o più cisti fluorescenti e caratterizzate dalla morfologia tipica, deve essere considerato positivo per *Giardia*;

C) **Risultato negativo.** Se non si nota alcuna fluorescenza verde-mela il campione deve essere considerato negativo per la presenza di oocisti di *Cryptosporidium* o cisti di *Giardia*. Anche i detriti del sedimento fecale che non esibiscano alcuna fluorescenza oppure la morfologia caratteristica devono essere considerati negativi.

5.3.3 Analisi molecolari

Le analisi molecolari sono state effettuate per la ricerca di *Giardia* su aliquote fecali congelate; l'iter di lavorazione prevede: l'estrazione di DNA dai campioni, la *Nested* PCR, e la corsa elettroforetica su gel di acrilammide. Ogni campione risultato positivo poi è stato sequenziato per identificare il genotipo e la specie di *Giardia* individuata.

Estrazione del DNA

Per estrarre il DNA dai campioni fecali congelati è stato utilizzato il kit commerciale PSP® Spin Stool DNA PLUS- Hoffmann-LaRoche Inc. Il protocollo prevede le seguenti fasi:

- si trasferisce una parte di ogni campione in una provetta da 2 ml con 1 ml circa di Stool stabilizer (permette di mantenere stabile il DNA);
- si incubano i campioni a 95°C per 10 minuti in un termomixer (vedi foto) in movimento a 900 rpm, ciò serve ad aumentare la quantità di DNA presente per la distruzione delle pareti cellulari;
- si centrifugano i campioni a 14000 rpm per 1 minuto per dividere le parti solide dalle liquide;
- si trasferisce completamente il surnatante in una provetta “Invi-Adsorbe” fornita dal kit;
- si agita vigorosamente per 15 secondi; si incuba la sospensione a temperatura ambiente per 1 minuto, poi si centrifuga a 14000 rpm per 3 minuti;
- si trasferisce il surnatante completamente in una provetta da 1,5 ml; si centrifuga nuovamente a 14000 rpm per 3 minuti;
- si trasferiscono 800 µl del surnatante in una nuova provetta da 1,5 ml e si aggiungono 25 µl di proteinasi K; si agita brevemente e si incuba per 10 minuti nel termomixer a 70°C a 900 rpm;
- si aggiungono 400 µl di Binding Buffer P e si agita brevemente;
- si preparano delle nuove provette da 2 ml con uno Spin filter (per trattenere il DNA) e si trasferiscono 700 µl di lisato, precedentemente ottenuto; si incuba a temperatura ambiente per 1 minuto e si centrifuga a 12000 rpm per 1 minuto;
- si elimina la soluzione filtrata, si aggiungono 500 µl di Wash Buffer I, si centrifuga a 12000 rpm per 1 minuto;
- si elimina la soluzione filtrata, si aggiungono 800 µl di Wash Buffer II, si centrifuga a 12000 rpm per 1 minuto;
- si elimina la soluzione filtrata e si ricentrifuga a 14000 rpm per 3 minuti per eliminare completamente l’etanolo;
- si pone lo Spin Filter in una nuova provetta da 1,5 ml, si aggiungono 200 µl di Elution Buffer D (preriscaldato a 70°C), si incuba a temperatura ambiente per 3 minuti;

- si centrifuga nuovamente a 8000 rpm per 1 minuto per staccare il DNA dal filtro e si elimina lo Spin Filter.

PCR (Polymerase Chain Reaction)

L'aliquota congelata di ogni campione raccolto è stata analizzata mediante una tecnica di biologia molecolare identificata come *Nested PCR* (PCR annidata), questa è un tipo di PCR che prevede l'utilizzo di due coppie di *primer* in due PCR consecutive; nella prima PCR, viene usata una coppia di *primer* e viene amplificato il segmento bersaglio. I prodotti di questa prima PCR, vengono quindi usati per allestire una seconda PCR. In questa seconda reazione, i *primer* utilizzati sono diversi dai primi e sono sequenze ottenute completamente nel segmento bersaglio precedentemente amplificato. Questo tipo di PCR aumenta la sensibilità del metodo utilizzando nella seconda PCR del DNA già amplificato ed inoltre aumenta la specificità dell'amplificazione del DNA, riducendo l'amplificazione di DNA aspecifico.

Il vantaggio della *Nested PCR* è l'aumentata sensibilità e specificità del metodo rispetto alla PCR convenzionale. Gli svantaggi maggiori sono i tempi necessari per l'allestimento e l'elevato rischio di contaminazioni.

I *primer* scelti sono rappresentati dal gene *18S-rRNA*, questa codifica per la piccola subunità ribosomiale 18S e permette di distinguere i maggiori assemblaggi genetici (A-G) di *G. duodenalis*.

Per la prima amplificazione del gene *18S-rRNA* è stato usato il *primer forward* RH11 [5'-CAT CCG GTC GAT CCT GCC-3'] ed il *primer reverse* RH4 [5'-AGT CGA ACC CTG ATT CTC CGC CAG G-3'] che amplificano una regione di 292 bp (Hopkins *et al*, 1997).

Per la seconda amplificazione è stata amplificata da RH11 e RH4: GIAR-F (*forward*) [5'-CAG GCT CTC CCC AAG GAC-3'] e GIAR-R (*reverse*) [5'-CTG CGT CAC GCT GCT CG-3'] che amplificano un frammento di 175 bp (Read *et al*, 2002).

Nella prima reazione di amplificazione del gene *18S-rRNA*, la composizione della miscela di reazione per un singolo campione, con volume finale di 25 µl, è la seguente:

2 µl di DMSO;

2,5 µl di Buffer 10X; concentrazione finale 1X;

1,5 µl di MgCl₂ 25 mM; concentrazione finale 1,5 mM;

0,5 µl di dNTPs 10 mM; concentrazione finale 0,2mM;
1 µl di ciascun *primer* (RH11 e RH4) 10 µl; concentrazione finale 0,4 µM;
0,4 µl di AmpliTaq Gold® corrispondente a 2 U;
4 µl di DNA;
Acqua, quanto basta per raggiungere il volume finale di 25 µl.

Per la seconda amplificazione è stato utilizzato 1 µl di amplificato della prima PCR, 1 µl dei primer GIAR-F e GIAR-R (concentrazione finale 0,4 µM), mentre rimangono invariate le concentrazioni finali degli altri componenti della miscela di reazione.

Nella preparazione della miscela di reazione, è sempre prevista la presenza di un controllo negativo, costituito da acqua sterile, per verificare l'assenza di contaminazioni, e un controllo positivo, rappresentato da un campione di cui si conosce essere presente il *target*, che funge da controllo del processo.

Le condizioni di amplificazione usate nella prima PCR e nella seconda sono identiche e consistono in una prima fase a 94°C per 11 minuti e 30 secondi (attivazione dell'AmpliTaQ Gold) seguita da:

- 94°C per 30' secondi;
- 65°C per 30 secondi;
- 72°C per 30 secondi;

Ed estensione finale a 72°C per 7 minuti.

Elettroforesi

I prodotti di amplificazione sono stati separati mediante corsa elettroforetica in gel di acrilammide al 7% e successivamente evidenziati mediante colorazione del gel con syber-safe, osservato poi mediante un transilluminatore a luce ultravioletta collegato al computer grazie al programma Quantity One, 1-D Analysis software.

Il gel è stato preparato mescolando: 8,93 ml di acrilammide 7%, 42 µl di APS (persolfato di ammonio) e 21 µl di TEMED (tetrametietilendiammina); dopo aver aspettato che solidificasse è stato caricato sulla vaschetta per la corsa elettroforetica.

Un'aliquota di 8 µl del prodotto di amplificazione è stata miscelata con 3 µl di 6X Loading Dye Solution (Fermentas) e caricata all'interno di un singolo pozzetto.

Per valutare le dimensioni degli amplificati sono stati utilizzati 5 µl di GeneRuler™ 8 bp DNA, o GeneRuler™ 100bp Ladder, caricati anch'essi in gel.

Le condizioni di corsa adottate prevedevano un voltaggio costante a 200 V per 45 minuti; al termine il gel è stato immerso in una soluzione tampone contenente Syber-Safe, indispensabile per vedere le bande.

Sequenziamento

I campioni risultati positivi alle analisi molecolari per la ricerca di *Giardia* spp. sono stati inviati alla BMR-Genomics di Padova per essere sequenziati mediante ABPRISM 3700 (Applied Biosystems).

Le sequenze ottenute sono state poi allineate mediante ChromasPro (versione 1.42) e confrontate con quelle presenti in GenBank, utilizzando BLAST, al fine di valutare l'identità delle sequenze.

5.3.4 Esame colturale per la ricerca di dermatofiti

L'esame colturale rimane il gold standard per la diagnosi di dermatofitosi e l'unico metodo sicuro per identificare, dal punto di vista fenotipico, la specie fungina coinvolta (Chermette et al, 2008).

Tecnica di Mc Kenzie. Si tratta di una tecnica che si può utilizzare sia sulle lesioni sia quando si ha necessità di campionare tutto il mantello dell'animale, in assenza di lesioni visibili. Questa eventualità si può avere ad esempio per controlli dopo terapie o se l'animale è sospettato di aver contagiato un altro animale o l'uomo. Si utilizza a questo scopo una spazzola di plastica o uno spazzolino sterili, con il quale si andrà a spazzolare in modo accurato e per almeno 5 minuti tutto il corpo dell'animale, avendo eventualmente l'accortezza di passare più volte sulle sedi delle vecchie lesioni – se in corso di controllo della terapia – e comunque sulle zone più frequentemente colpite (muso e zampe). Sarebbe utile prima del prelievo del campione pulire la lesione con alcool per rimuovere eventuali detriti. Una volta ottenuto il campione lo si semina su terreno di coltura, premendo

delicatamente più volte lo spazzolino sull'agar (Noli e Scarpella, 2002).

I terreni più utilizzati per l'esame colturale sono:

- Mycobiotic Agar, costituito da una base di terreno Sabouraud destrosio, addizionato con agenti antibiotici (quale il cloramfenicolo) ed antifungini (come il cicloesamide) per inibire o rallentare la crescita di muffe saprofiti e di lieviti inquinanti (figura 32);
- Dermatophyte Test Medium (DTM), composto da Sabouraud's dextrose agar e antifungini/antibiotici (cicloesamide, gentamicina, clortetraciclina); è un indicatore colorimetrico: i potenziali patogeni fanno virare il terreno al colore rosso quando crescono; i patogeni infatti usano la proteina presente nel mezzo producendo ammoniaca che provoca un cambiamento di colore. Occorre però ricordare che vi sono alcuni funghi ambientali che provocano il viraggio precoce del terreno (Scott et al, 2001) e ceppi di *M. canis* che invece non lo fanno virare; pertanto è molto importante l'analisi macro e microscopica della coltura, onde evitare diagnosi errate.

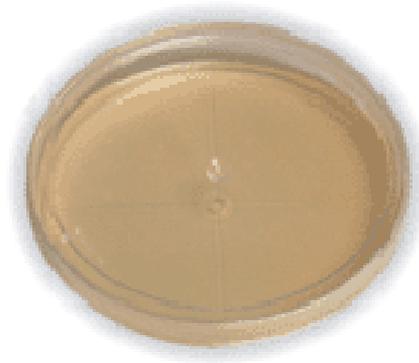


Figura 32. Piastra contenente terreno Mycobiotic, prima della semina (da www.biomed.com.pl).

La semina viene realizzata per infissione, premendo leggermente i denti della spazzola (o dello spazzolino) sul terreno contenuto nelle piastre così da determinare il trasferimento del materiale prelevato sul terreno di coltura. In alternativa, se non si ha la spazzola a disposizione, il pelo può essere prelevato dalle aree periferiche della lesione con una pinza sterile e messo poi nel terreno per infissione.

Le piastre vanno incubate a temperatura di 25-28°C per un periodo variabile da 7 a 45 giorni e andrebbero visionate giornalmente. È opportuno mettere all'interno del termostato

un piccolo contenitore con dell'acqua per prevenire la disidratazione del terreno.

Le piastre vengono sottoposte a lettura per l'identificazione delle colonie attraverso una valutazione sia macroscopica che microscopica delle colonie.

Valutazione macro e microscopica

L'identificazione delle colonie dei dermatofiti è stata realizzata attraverso l'osservazione delle caratteristiche morfologiche, sia da un punto di vista macroscopico (tessitura e colore della colonia, velocità di crescita ecc.), che da un punto di vista microscopico utilizzando le chiavi di identificazione di De Hoog et al., (2000).

Nelle figure 33 e 34 vengono descritte le principali caratteristiche macro e microscopiche dei dermatofiti.

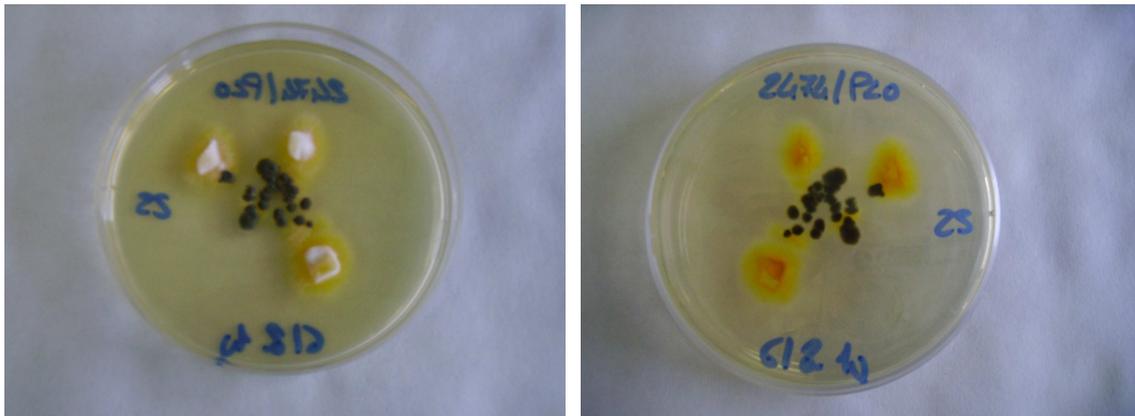


Figura 33. Aspetto macroscopico di *M. canis*.

Morfologia macroscopica della colonia: tessitura lanuginosa, aspetto cotonoso, ben delimitato, quasi stellato; il centro può essere depresso; colore variabile dal bianco al giallo sulla superficie, dal giallo al giallo intenso sul retro. Crescita moderatamente rapida.

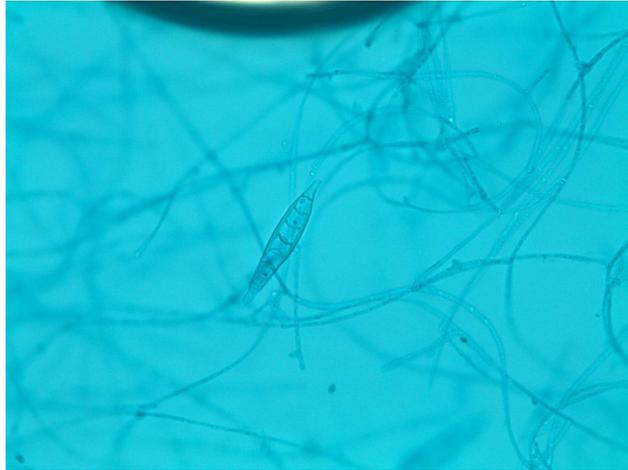


Figura 34. Aspetto microscopico (40x) di *M.canis*.

Morfologia microscopica: macroconidi (fragmospore) numerosi, a forma di fuso, con parete spessa, superficie echinulata, contenente anche 8-10 setti. L'apice può presentarsi ricurvo, ma è una caratteristica non apprezzabile nelle colonie giovani.

I microconidi sono poco numerosi e piriformi.

Il risultato “positivo” viene riferito alla presenza di almeno una colonia di dermatofiti all'esame colturale mentre il risultato è “negativo” in caso di mancata crescita di dermatofiti entro 10 giorni dalla semina.

Capitolo 6.

ELABORAZIONE DEI DATI

Le patologie presenti nella popolazione canina con una prevalenza superiore al 10% sono state sottoposte ad analisi dei fattori di rischio utilizzando il test del Chi-quadro o il test esatto di Fisher, prendendo in considerazione le variabili provenienza (Distretto Sanitario), randagio/proprietà, taglia, sesso, razza ed età. Il software utilizzato è stato SPSS per Windows, versione 15.0 e la soglia di significatività prescelta di $p < 0.05$.

Per quanto riguarda le tecniche diagnostiche utilizzate per la ricerca di *Giardia* spp., la concordanza dei risultati ottenuti con i test IFA e PCR è stata valutata a coppie tramite statistica k (Landis e Koch, 1977). Dall'analisi di concordanza è stato escluso l'esame copromicroscopico qualitativo, con il quale solo uno dei campioni analizzati è risultato positivo per presenza di cisti di *Giardia* spp.

L'indice k è stato calcolato come segue:

- a) concordanza osservata: (numero di esami positivi a entrambi i test + numero di esami negativi a entrambi i test) / numero campioni testati (n);
- b) concordanza dovuta al caso (entrambi +): (numero di esami positivi al test 1 / n) x (numero di esami positivi al test 2 / n);
- c) concordanza dovuta al caso (entrambi -): (numero di esami negativi al test 1/n) x (numero di esami negativi al test 2 / n);
- d) concordanza totale dovuta al caso: (b + c);
- e) differenza fra concordanza osservata e casuale: (a - d);
- f) massima concordanza possibile oltre il caso: (1 - d).

$$k = e / f$$

Per il calcolo dell'indice k è stato utilizzato il software Win Episcopo 2.0, scegliendo un livello di confidenza del 95%.

L'interpretazione del parametro k è stata effettuata secondo la tabella seguente (tabella n°6):

Valore di k	Interpretazione
$\geq 0,81$	Concordanza quasi perfetta
0,60-0,80	Concordanza sostanziale
0,40-0,60	Concordanza discreta
0,21-0,40	Concordanza modesta
0,01-0,20	Concordanza scarsa
$<0,01$	Concordanza del tutto assente

Tabella 6. Interpretazione del parametro k

Capitolo 7.

RISULTATI

7.1 DESCRIZIONE POPOLAZIONE

In totale sono stati indagati 107 cani, di cui 46 (43%) sono stati catturati nel Distretto Sanitario di Udine, mentre i rimanenti risultavano provenire da catture effettuate nei Distretti di Codroipo (18 animali), San Daniele (17), Cividale (14) e Tarcento (12).

In base ai dati riportati nelle schede precompilate, il 57% (61/107) dei soggetti risultava avere taglia piccola, contro il 43% (46/107) di taglia media (27/107) e grande (19/107). Questo dato può far pensare alla maggiore diffusione di cani di dimensioni ridotte in città e nelle zone limitrofe. Anche se in mancanza di conferme ufficiali, ciò potrebbe essere spiegato dalla maggiore richiesta da parte degli affidatari di cani da compagnia di razze/meticci di piccola taglia, che possono essere gestite più facilmente in appartamento e nelle zone urbane.

Per quanto riguarda il sesso degli animali catturati appare evidente la maggioranza di maschi (63/107, pari al 58,9%) rispetto alle femmine (44/107), circa il 18% in più. Ciò potrebbe essere spiegato ipotizzando una tendenza più spiccata dei maschi a fuggire soprattutto nei periodi di calore delle femmine.

La maggior parte dei cani catturati (89/107, pari all'83,2%) è risultata essere rappresentata da soggetti meticci.

Relativamente all'età, che è stato possibile stimare per 101 cani, il 30,7% (31/101) degli animali catturati risultava rappresentato da esemplari giovani, sotto l'anno di età, mentre il 26,7% (27/101) della popolazione studiata risultava avere oltre i 2 anni. Rimane quindi il 42,6% (43/101) degli individui di 1-2 anni di età, periodo in cui le fughe sono più probabili a causa del raggiungimento della maturità sessuale e della formazione definitiva del carattere del cane.

Dei soggetti campionati, l'80,4% (86/107) è stato classificato come randagio, ovvero non riscattato da alcun proprietario. Di questa categoria fanno parte gli animali effettivamente abbandonati, quelli smarriti non cercati o non ritrovati dal padrone e i cosiddetti cani vaganti, ovvero che pur avendo un legittimo proprietario, abitualmente frequentano il canile a causa delle fughe. Degli 86 cani randagi, 79 (91,9%) risultavano essere meticci, di cui 49 (62,0%) erano maschi aventi per la maggioranza (40/49) una taglia media o piccola. I dati sulla popolazione vengono riassunti nella tabella n° 7.

		Frequenza	Percentuale
Taglia	Grande	19	17,8
	Media	27	25,2
	Piccola	61	57,0
	Totale	107	100,0
Sesso	Femmine	44	41,1
	Maschi	63	58,9
	Totale	107	100
Razza	Meticcio	89	83,2
	Razza	18	16,8
	Totale	107	100
Età	0 – 1 anno	31	30,7
	1 – 2 anni	43	42,6
	sopra 2 anni	27	26,7
	Totale	101	94,4
	Mancanti	6	5,6
Totale		107	100
Anagrafe	Proprietà	21	19,6
	Randagio	86	80,4
	Totale	107	100

Tabella 7. Dati relativi alla popolazione canina indagata.

7.2 POSITIVITÀ AGLI ESAMI COPROMICROSCOPICI

Durante l'indagine è stato possibile effettuare il prelievo di 88 campioni fecali individuali, analizzati per la ricerca dei più comuni elminti e protozoi intestinali dei cani quali nematodi (*Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Ancylostoma caninum*, *Capillaria* spp.), cestodi (*Dipylidium caninum*) e protozoi (*Isoospora* spp., *Giardia* spp.).

Il 37,5% (33/88) dei campioni è risultato positivo agli esami copromicroscopici per uno o più dei parassiti indagati. Riferendosi ai 33 cani positivi, in 21 (63,7%) è stata riscontrata una infestazione monospecifica, in 11 (33,3%) la presenza di due specie parassitarie e solo 1 (3,0%) risultava albergare contemporaneamente tre diversi patogeni. La maggior parte delle coinfezioni è risultata essere rappresentata da *T. vulpis* e *Capillaria* spp. (4 casi), seguita da *T. canis* e *Isoospora* spp. (3 casi).

I parassiti intestinali con prevalenza maggiore sono risultati essere *T. vulpis* (15,9%) e *T. canis* (13,6%), seguiti da *Isoospora* spp. (10,2%), *Capillaria* spp. (7,9%), *D. caninum* (2,3%), *A. caninum* (1,1%) e *Giardia* spp. (1,1%).

Il dettaglio delle positività ai singoli parassiti è riportato schematicamente nella tabella n° 8.

Parassita	Positivi	%
<i>T. vulpis</i>	14	15,9
<i>T. canis</i>	12	13,6
<i>Isoospora</i> spp.	9	10,2
<i>Capillaria</i> spp.	7	7,9
<i>D. caninum</i>	2	2,3
<i>A. caninum</i>	1	1,1
<i>Giardia</i> spp.	1	1,1

Tabella8. Esami copromicroscopici: positività riscontrate nella popolazione canina (n=88).

7.3 POSITIVITÀ AI TEST IFA E PCR

Per quanto riguarda la ricerca di *Giardia*, è stato possibile analizzare 84 campioni fecali mediante IFA e 70 tramite PCR. Le positività riscontrate con le due diverse tecniche sono risultate rispettivamente del 6,0% (5/84) e del 21,4% (15/70). In totale è stato possibile analizzare con entrambe le tecniche 70 campioni fecali e la concordanza osservata è risultata dell'84,3% (59/70), con un indice k pari 0,440 e indicativo di una concordanza discreta (tabella n° 9).

$k=0,440$		PCR		Totale
		+	-	
IFA	+	5	0	5
	-	10	55	65
Totale		15	55	70
Intervallo di confidenza:		(0,246 - 0,634) test negativi		
		(0,136 - 0,744) test positivi		

Tabella 9. Positività per *Giardia*: valutazione della concordanza tra test IFA e PCR.

Il sequenziamento dei prodotti di amplificazione ha permesso di accertare la presenza di *G. duodenalis* in tutti i 15 campioni positivi alla PCR. L'allineamento e il confronto delle sequenze ottenute con quelle presenti in GenBank, ha consentito di individuare anche gli assemblaggi di *G. duodenalis*. Nella tabella n°10 sono riportate le sequenze presenti in GenBank che hanno evidenziato il più elevato grado di somiglianza con quelle ottenute nello studio. In particolare, grazie alle tecniche biomolecolari sono stati evidenziati tre tipi genetici differenti, due dei quali corrispondenti agli Assemblaggi C (in 9 campioni) e D (in 5 campioni), ritenuti ospite-specifici (cioè che riconoscono il cane come ospite elettivo) e uno all'Assemblaggio B1 (in un campione), considerato una variante genetica in grado di infettare l'uomo. Il cane interessato da *G. duodenalis*-Assemblaggio B1 è risultato essere un soggetto di proprietà, di razza Volpino Italiano, di 4 mesi d'età e, così come tutti i soggetti positivi agli accertamenti biomolecolari per *G. duodenalis*, privo di sintomatologia enterica.

Codice Campione	N. accesso	Assemblaggio <i>G. duodenalis</i>	Identità sequenza (%)
01/M	DQ385549	D	100
323/M	DQ385549	D	99
70/M	DQ385548	D	100
32/M	DQ385549	D	98
376/M	DQ385548	D	100
705/L	DQ385548	C	100
31/M	DQ385548	C	99
136/M	DQ385548	C	98
204/M	DQ385548	C	100
702/L	DQ385548	C	98
223/M	DQ385548	C	99
240/M	DQ385548	C	99
313/M	DQ385548	C	100
90/M	DQ385548	C	100
282/M	FJ668859	B1	100

Tabella 10. Risultati del sequenziamento dei campioni fecali positivi. Identificazione degli assemblaggi di *Giardia duodenalis*.

7.4 RICERCA DERMATOFITI

In totale sono stati prelevati 103 campioni di pelo da altrettanti cani, tutti risultati negativi alle tecniche colturali condotte per la ricerca di dermatofiti.

7.5 ANALISI FATTORI DI RISCHIO

L'analisi dei fattori di rischio è stata condotta prendendo in considerazione le positività (>10%) riscontrate agli esami copromicroscopici (per gli elminti *T. vulpis*, *T. canis* e *Isospora* spp.) e alle tecniche PCR per il protozoo *G. duodenalis*.

Per quanto riguarda *T. canis*, positività significativamente maggiori ($\chi^2 = 7,249$; $p=0,027$) sono state riscontrate nei soggetti di età inferiore a 1 anno (tabella n°11). Differenze statisticamente significative ($\chi^2 = 11,238$; $p=0,004$) sono state evidenziate per lo stesso parassita anche nei confronti della taglia, sebbene per tale variabile non sia stato possibile ottenere gruppi numericamente bilanciati, con solo 19/88 soggetti di grossa taglia (tabella n°12).

			<i>Toxocara canis</i>		Totale
			Negativi	Positivi	
Classe di età	< 1 anno	Conteggio	20	8	28
		% entro classe età	71,4	28,6	100
	1-2 anni	Conteggio	30	3	33
		% entro classe età	90,9	9,1	100
	> 2anni	Conteggio	22	1	23
		% entro classe età	95,7	4,3	100
Totale		Conteggio	72	12	84
		% entro classe età	85,7	14,3	100

Tabella 11. Positività per *T. canis* in relazione alle diverse classi di età.

			<i>Toxocara canis</i>		Totale
			Negativi	Positivi	
Taglia	piccola	Conteggio	44	4	48
		% entro taglia	91,7	8,3	100
	media	Conteggio	20	1	21
		% entro taglia	95,2	4,8	100
	grande	Conteggio	12	7	19
		% entro taglia	63,2	36,8	100
Totale		Conteggio	76	12	88
		% entro taglia	86,4	13,6	100

Tabella 12. Positività per *T. canis* in relazione alla taglia.

Relativamente a *T. vulpis* è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa ($\chi^2 = 11,330$; $p=0,001$) nei confronti della variabile razza/meticcio, sebbene anche in questo caso non sia stato possibile ottenere gruppi numericamente bilanciati e solo 16/88 soggetti risultassero essere di razza (tabella n°13).

		<i>Trichuris vulpis</i>		Totale
		Negativi	Positivi	
Razza	Conteggio	9	7	16
	% entro razza	56,3	43,8	100
Meticcio	Conteggio	65	7	72
	% entro razza	90,3	9,7	100
Totale	Conteggio	74	14	88
	% entro razza	84,1	15,9	100

Tabella 13. Positività per *T. vulpis* in relazione alla razza.

L'analisi statistica non ha evidenziato fattori di rischio associati all'infezione da *Isospora* spp..

Anche per quanto riguarda *G. duodenalis*, non sono state evidenziate differenze statisticamente significative tra le positività riscontrate alle analisi PCR e i diversi fattori di rischio presi in considerazione.

Capitolo 8.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'indagine, pur derivando da un campione di animali numericamente limitato, ha consentito di acquisire informazioni indicative della situazione parassitologica dei cani mantenuti nel Canile contumaciale del Comune di Udine. Tali dati indicano che il randagismo è frequente soprattutto nei cani maschi aventi una taglia media o piccola.

Gli accertamenti copromicroscopici hanno messo in evidenza prevalenze diverse per le singole parassitosi, con maggiori positività evidenziate per le elmintiasi sostenute da *T. vulpis* (15,9%) e *T. canis* (13,6%) e le coccidiosi da *Isospora* spp. (10,2%). Tale risultato è molto probabilmente legato alla elevata resistenza ambientale che caratterizza gli elementi infestanti di tali specie parassitarie e risulta in accordo con i risultati di precedenti indagini condotte in canili del Veneto (Capelli *et al*, 2006).

Per quanto riguarda la cestodosi sostenuta da *D. caninum*, riscontrata solo nel 2,3% dei cani esaminati, occorre ricordare la difficoltà di rivelarne la presenza con un solo esame copromicroscopico. Infatti, l'eliminazione delle proglottidi non è costante e spesso le uova del parassita, agglomerate in capsule ovigere, non sono omogeneamente disperse nelle feci; questo richiederebbe l'utilizzo di maggiori quantità di materiale fecale (non sempre disponibile) da sottoporre all'esame copromicroscopico; pertanto, il dato ottenuto potrebbe essere sottostimato.

L'analisi dei fattori di rischio ha messo in evidenza una positività per *T. canis* significativamente superiore nei soggetti di età inferiore a 1 anno. Tale risultato è in accordo con quanto frequentemente osservato da altri Autori e può essere spiegato dalla possibilità di infestazione congenita e transmammaria che caratterizza il ciclo biologico di questo parassita.

Risulta invece più difficile spiegare le differenze di positività per *T. canis* e *T. vulpis* associate rispettivamente alle variabili "taglia" e "razza/meticcio", se non motivandole con un effetto di campionamento dovuto alla impossibilità di ottenere, per tali variabili, gruppi numericamente bilanciati.

Per quanto riguarda *G. duodenalis*, l'analisi dei fattori di rischio non ha evidenziato

differenze statisticamente significative tra le positività riscontrate alle analisi PCR; a tale riguardo, è importante sottolineare che la prevalenza riscontrata nei soggetti randagi (22,2%) è risultata praticamente equivalente a quella evidenziate nei cani di proprietà (21,3%), in accordo con quanto evidenziato in precedenza da altri Autori (Capelli *et al*, 2006). Questo risultato testimonia come il cane possa rappresentare un potenziale serbatoio del patogeno anche in ambito familiare.

Il valore di prevalenza (1,1%) riscontrato per *Giardia* spp. agli esami copromicroscopici è quasi certamente sottostimato, poiché un singolo esame copromicroscopico non è il metodo più sensibile per evidenziare l'infezione, caratterizzata da un andamento cronico e da una bassa e a volte intermittente eliminazione di cisti. Questo spiegherebbe le maggiori positività per *Giardia* riscontrate ai test IFA (6,0%) e PCR (21,4%). Tali tecniche, che risultano indubbiamente caratterizzate da una maggiore accuratezza per la diagnosi di Giardiosi, hanno evidenziato una concordanza osservata dell'84,3% e un indice $k=0,440$ indicativo di una concordanza discreta.

Sulla base di questi risultati, il solo accertamento copromicroscopico non può rappresentare un corretto *iter* per la diagnosi di Giardiosi. I test IFA e PCR rappresentano pertanto un utile strumento per la diagnosi di questa malattia protozoaria. Tuttavia, tali test sono particolarmente laboriosi e richiedono tempi di esecuzione poco compatibili con le esigenze che caratterizzano l'attività clinica veterinaria. A tale riguardo, considerato anche il potenziale zoonosico di *Giardia* spp. e l'importanza di diagnosticare l'infezione nei cani di proprietà o comunque consegnati in affidamento ai nuovi proprietari, è possibile utilizzare kit rapidi ELISA per singole analisi in forma SNAP, che richiedono brevi tempi di esecuzione e che sono in grado di individuare nelle feci una glicoproteina (GSA65) prodotta da *G. duodenalis* durante le fasi (trofozoitiche) di replicazione nell'intestino.

È importante quindi considerare il cane come potenziale serbatoio di varianti genetiche/sottovarianti zoonosiche di *G. duodenalis*, con conseguenti rischi per la salute dell'uomo legati sia alla contaminazione ambientale (in particolare di alimenti e acque contaminate dalle cisti, estremamente resistenti) che alla potenziale trasmissione cane-uomo-cane in ambito familiare. Infatti, studi condotti su isolati di *Giardia* raccolti da feci canine in diversi continenti hanno dimostrato che i cani possono albergare quattro assemblaggi diversi del protozoo (A, B, C e D). Gli Assemblaggi C e D sono ben distinti da quelli in grado di infettare l'uomo (A e B) e si ritiene che essi rappresentino varianti ospite(cane)-specifiche. Diversi studi hanno evidenziato la presenza degli Assemblaggi A e B in campioni di feci canine provenienti da Canada, Stati Uniti ed Europa (Hopkins *et al*,

1997; Monis *et al*, 1998; van Keulen *et al*, 2002; Abe *et al*, 2003; Marangi *et al*, 2008). Grazie alle tecniche biomolecolari, in questa indagine è stato possibile evidenziare tre tipi genetici differenti di *G. duodenalis*, due dei quali corrispondenti agli Assemblaggi C (9 campioni positivi) e D (5 campioni) e uno all'Assemblaggio B1 (in un cane di proprietà), segnalato quale variante genetica in grado di infettare l'uomo (Lalle *et al*, 2005).

Da questa ricerca è emersa l'assenza di soggetti positivi per dermatofiti e, in particolare, per *M. canis*, che rappresenta il patogeno più frequentemente responsabile di casi di malattia nell'uomo e negli animali da compagnia. Questo risultato potrebbe essere associato al limitato numero di animali esaminati, ma anche alle basse prevalenze generalmente riscontrate nel cane. Infatti, una recente ricerca condotta tra il 2005 e 2007 nel Triveneto ha permesso di evidenziare una prevalenza di *M. canis* nell'1,2% dei cani di proprietà e solo nello 0,4% nei cani di canile, valori decisamente inferiori a quelli riscontrati nella stessa indagine nei gatti di proprietà (32%) e di colonia (14,3%) (Danesi *et al.*, 2008).

In ultima analisi, dallo studio condotto emerge la necessità di tenere in considerazione il costante aumento del randagismo e il conseguente sovraffollamento delle strutture sanitarie e municipali addette ad accogliere i cani abbandonati. Queste strutture, se non gestite correttamente, possono rivelarsi veri e propri serbatoi di diffusione di alcune parassitosi, particolarmente di quelle che rientrano fra le potenziali zoonosi emergenti quali la Giardiosi.

Si rivela dunque ancora una volta di fondamentale importanza il ruolo dei Veterinari, sia libero professionisti che ufficiali, nella vigilanza dei canili per la salvaguardia della salute pubblica e la prevenzione delle patologie degli animali domestici.

BIBLIOGRAFIA

- 1990, Legge Regionale n. 39 del 04 settembre 1990 “Norme a tutela degli animali domestici per il controllo e la prevenzione del fenomeno del randagismo. Istituzione dell’anagrafe canina”. Bollettino ufficiale della Regione Friuli Venezia Giulia n. 108 del 05/09/1990.
- 1991, Legge 14/08/1991 n° 281 “Legge quadro in materia di animali d’affezione e prevenzione del randagismo”. Gazzetta Ufficiale n° 189, 14 agosto 1991.
- 2008, Ordinanza del 6 agosto 2008 del Ministero del Lavoro, della Salute e delle politiche sociali “Ordinanza contingibile ed urgente concernente misure per l’identificazione e la registrazione della popolazione canina”. Gazzetta Ufficiale n°192 del 18 agosto 2008.
- 2009, Ordinanza Ministeriale del 26 novembre 2009 “Ordinanza Ministeriale contingibile e urgente recante misure per prevenire la diffusione della rabbia nelle regioni del nord-est italiano”. Gazzetta Ufficiale n° 285 del 7 dicembre 2009.
- Abe N, Kimata I, Iseki M. (2003). Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* isolates from dogs in Japan by direct sequencing of the PCR amplified glutamate dehydrogenase gene. J. Vet. Med. Sci., 65(1): 29-33.
- Adelus, F. (1995). Le zecche vettori di malattia nel cane. Le malattie del cane trasmesse dalle zecche, supplemento al n. 2, Giugno 1995 della rivista Professione Veterinaria. SCIVAC.
- Albanese G., Di Cintio R., Beneggi M., Crippa D., Galbiati G., Nicoletti A., M., Rossi E., Salva G. (1995). Larva migrans in Italy. *Dermatology*, 14(7): 464-465.

- Bacelle S. (AA 2008/2009). Presenza e potenziale zoonosico di *Giardia* e *Cryptosporidium* in lagomorfi, mustelidi e roditori utilizzati come pet. Tesi di laurea. Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova.
- Brovedani A. (AA 2001/2002). Lotta agli ectoparassiti del cane e del gatto: aspetti farmaco-tossicologici e terapeutici. Tesi di Laurea. Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova.
- Capelli G, Frangipane di Regalbono A, Iorio R, Pietrobelli M, Paoletti B, Giangaspero A. (2006). *Giardia* species and other intestinal parasites in dogs in north-east and central Italy. *Vet Rec.*, 159(13): 422-424.
- Chermette R, Ferreiro L, Guillot J, (2008), Dermatophytoses in animals, *Mycopatologia*, 111 166: 385-405.
- Danesi P, Marcer F, Cafarchia C, Costa A, Furnari C, Biasion L, Capelli G, (2008), Dermatophytoses in pets in Triveneto area; *Parassitologia*, 50: 192.
- De Boni S. (AA 2005/2006). Gatti e parassiti: indagine in alcune colonie del Veneto. Tesi di laurea. Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova.
- De Hoog G.S., Guarro J., Gené J., Figueras M.J, (2000), Atlas of Clinical Fungi; Ceentralbureau voor Schimmelcultures Utrecht, The Netherlands and Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain Ed., 87.
- Eberhard M. L., Alfano E. (1998). Adult *Toxocara cati* infections in U.S. childrens: report of four cases. *American Journal of tropical Medicine and Hygeiene*, 59(3): 404-406.
- Galuppi R, Carella MS, Tampieri MP, (2002), Aspetti epidemiologici delle dermatofitosi animali; *Obiettivi e documenti veterinari*, 23(9): 51-54.

- Greene C, (2006), Infectious disease of the dog and cat, third edition, Saunders Elsevier, cap. 58; Cutaneous Fungal Infections, pp. 1387: 550-569.
- Hopkins RM, Meloni BP, Groth DM, Wetherall JD, Reynoldson JA, Thompson RC. (1997). Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia* isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. *J Parasitol.*, 83(1): 44-51.
- Juckett G. (1997). Pets and parasites. *American family physician*, 67(10): 2131-2138.
- Landis JR, Koch G (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33:159-174.
- Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM. (2005). Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int. J. Parasitol.*, 35(2): 207-213.
- Maggie Fisher e John McGarry. Focus sulla parassitologia dei piccoli animali (Bayer).
- Marangi M, Berrilli F, Otranto D, Giangaspero A. (2010). Genotyping of *Giardia duodenalis* among children and dogs in a closed socially deprived community from Italy. *Zoonoses Public Health.*, 57(7-8): 54-58.
- Marchetti V, Mancianti F, (2001), Le dermatofitosi nel gatto. Approccio clinico e terapeutico alla forma di *Microsporium* spp; *Obiettivi e documenti veterinari*, 22(3): 57-66.
- Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Mackrill J, Kulda J, Isaac-Renton JL, Ey PL. (1998). Novel lineages of *Giardia intestinalis* identified by genetic analysis of organisms isolated from dogs in Australia. *Parasitology*, 116 (1): 7-19.

- Muller GH, Kirk WR, Scott DW, (1994), *Dermatologia dei piccoli animali*; Torino, Editore torinese.
- Noli C. e Scarampella F, (2002), capitolo 28: Malattie Fungine in *Dermatologia del cane e del gatto*; Poletto Editore pp. 400: 205-214.
- Overgaaw Paul A. M. (1997). Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocariosis in dogs and cats. *Critical Reviews in Microbiology*, 23(3): 233-251.
- Polonelli L, Ajello L, Morace G, (1993), *Micologia medica*; società editrice Esculapio, Bologna, 11-14.
- Robertson I. D., Irwin P. J., Lymbery A. J., Thompson R.C.A. (2000). The rule of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 30(12-13): 1369-1377.
- Scott D. W., Miller W. H., Griffin C. E, (2001), capitolo 5, Fungal skin disease; Muller & Kirk's *Small animals dermatology* (Saunders Company ed.), pp. 1528: 336-361.
- Urquhart G. M., Armour J., Duncan J. L., Dunn A. M., Jennings F. W. (1998). *Parassitologia Veterinaria*. Ed. Unione Tipografico Editrice Torinese (UTET), Torino.
- Van Keulen H, Macechko PT, Wade S, Schaaf S, Wallis PM, Erlandsen SL. (2002). Presence of human *Giardia* in domestic, farm and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. *Vet. Parasitol.*, 108(2): 97-107.
- Viani V.(AA 2009/2010). *Dermatofitosi nel cane e nel gatto: indagine nella Regione Veneto*. Tesi di Laurea. Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova.
- Weese J. S., Peregrine A.S., Armstrong J. (2002). Occupational health and safety in small animal veterinary practice: Part II- Parasitic zoonotic disease. *Canadian Veterinary Journal*, 43(10)799-802.

SITI INTERNET CONSULTATI

- www.sivemp.it
- www.salute.gov.it
- www.federica.unina.it/medicina-veterinaria/antropozoonosi-parassitarie
- www.ailmi.it
- www.antropozoonosi.it
- www.epicentro.iss.it
- www.msdl-italia.it
- www.idexx.it
- www.metazoa.myblog.it
- www.cdfound.to.it
- www.en.wikipedia.org
- it.wikipedia.org
- www.izsvenezie.it

RINGRAZIAMENTI

Ai miei genitori, perché in tutti questi anni hanno sempre sostenuto questo mio sogno

Alla mia nonna, che non ha mai smesso di credere in me

A Shilton, che ringrazio in modo particolare per essermi stato accanto e per avermi supportato (...e sopportato...) tutti questi anni

A tutti i miei amici, in particolare a Barbara, Alessandra, Daiana, Lara, Elena, Nicola, Valeria, Anna, a cui voglio un mondo di bene

Alla mia veterinaria, dott.ssa Elena Fornasarig, mia prima e importante guida

A Loris, per la fiducia che ha sempre avuto in me

Al mio relatore, Tony, e a Cinzia, per l'estrema gentilezza e disponibilità

A tutti i veterinari che con gentilezza, disponibilità e amicizia hanno reso il mio tirocinio una bellissima esperienza. Un ringraziamento particolare ai dott. Fausto Rigonat, Emanuela Tesei e Stefano Brisinello

A Willy, il mio cane, che è sempre al mio fianco. Nessuno prenderà mai il suo posto

Ai miei animali: Airon e Lulù, Joy, Juri, Yu, Ricky, Bernie, canarini e pesciolini... questo lavoro è stato fatto per loro e grazie a loro

Alle centinaia di cuccioli, gattini, porcellini d'india, coniglietti, uccellini, criceti e topini che sono transitati in questi anni per casa mia... e ai miei genitori per averli sopportati tutti

A tutti gli animali che hanno fatto parte della mia vita e che non ci sono più... un pensiero particolare a Vicky e a Daky

A tutti coloro che conosco, a cui voglio bene e che non ho citato