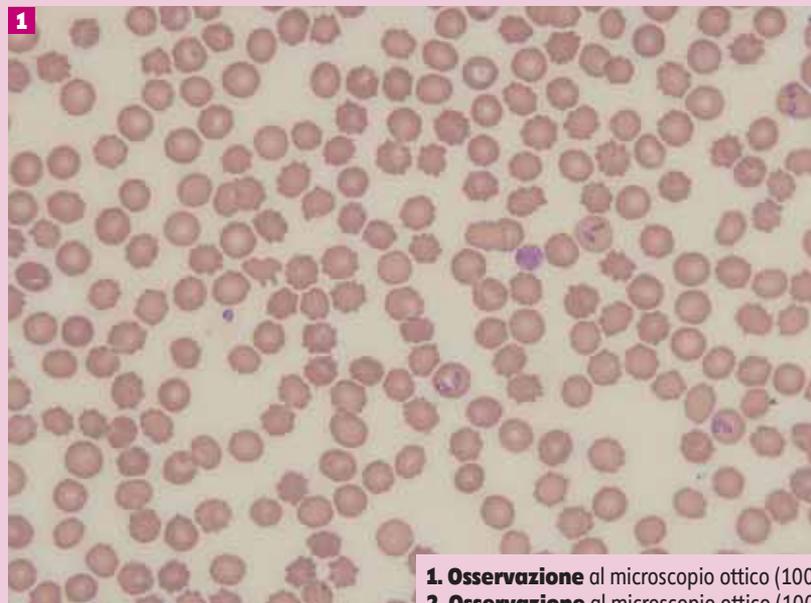


Malattie trasmesse da zecche

Le analisi sierologica e molecolare rivelano un'elevata esposizione dei cani

Uno studio italiano rivela che la popolazione canina italiana è esposta a molti patogeni trasmessi da zecche, con numerosi cani co-esposti a più patogeni, rendendo il quadro clinico difficile da interpretare.



1. Osservazione al microscopio ottico (100X) di *Babesia* spp nei globuli rossi di cane.
2. Osservazione al microscopio ottico (100X) di *Anaplasma platys* nelle piastrine di cane.

© Erika Carli, Laboratorio d'Analisi Veterinarie San Marco.

Le malattie trasmesse da zecche, conosciute anche come *Tick borne diseases* (TBDs), sono molto importanti per la Medicina umana e veterinaria, per la capacità di questi parassiti di trasmettere numerosi agenti patogeni, come batteri, virus e protozoi, sia all'uomo che agli animali^{1,2}. Poiché il cane e l'uomo condividono gli stessi spazi urbani, sono esposti agli stessi vettori, pertanto il cane si comporta come sentinella per alcune TBDs a carattere zoonotico³.

Le TBDs nel cane si possono manifestare con un'infezione iperacuta e acuta, o con una forma subclinica e cronica⁴, e a volte sono difficili da diagnosticare.

A fronte della diffusione di queste malattie nel nostro Paese sono stati condotti diversi lavori sulle TBDs⁵, con evidenze che confermano la presenza delle zecche e dei patogeni da esse trasmessi quali: *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Anaplasma platys*^{6,7,8,9,10,11,12}. Per contro, sono stati realizzati solo pochi studi sull'epidemiologia e importanza clinica dell'infezione da *Rickettsia conorii*^{13,14} e sull'identificazione e caratterizzazione molecolare delle diverse specie di *Babesia* responsabili di malattia nei cani^{15,16}, e non esistono, a nostra conoscenza, lavori sull'infezione sostenuta da *Borrelia* nei cani italiani.

Presso il Laboratorio d'analisi veterinarie S. Marco

di Padova è stata quindi effettuata una ricerca allo scopo di valutare la presenza delle infezioni sostenute da *A. phagocytophilum/A. platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia* spp, *E. canis* e *Rickettsia* spp nel nostro Paese, mediante tecniche sierologiche e molecolari, in cani con segni clinici compatibili con TBDs. Dai campioni raccolti al momento della visita clinica sono stati ricercati: anticorpi (IgG) mediante immunofluorescenza indiretta (IFI) per *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi*, *E. canis* e *R. conorii*¹⁴. I campioni sono stati considerati positivi per valori da 1:80. Per l'estrazione del DNA sono stati utilizzati 200 µl di sangue in K₃EDTA. Il DNA è stato poi utilizzato per la ricerca, mediante PCR *real-time*, di *A. phagocytophilum/A. platys*, *E. canis* e *Rickettsia* spp¹²; e mediante PCR-*restriction fragment length polymorphism* (RFLP) di *Babesia* spp¹⁵.

La popolazione canina esaminata

I cani presentavano un'età media di 5,6 (± 3,8 anni), le caratteristiche della popolazione sono riassunte nella tabella 1. La condizione fisica dei cani arruolati era buona nel 50% dei casi, scadente nel 23% e critica nel 4%. I segni clinici rilevati più di frequente comprendevano: letargia (57%), anoressia (53%), ipertermia (44%), depressione del sensorio (36%), pallore delle mucose (33%), perdita di peso (32%), zoppia (25%) e sanguinamenti (18%).

Un'alta esposizione ai patogeni responsabili di TBDs nei cani

I risultati delle analisi sierologiche e molecolari, con indicazione delle aree geografiche di provenienza dei cani, sono riportati nella tabella 2 (*vedere*).

Dallo studio è emersa un'alta esposizione ai patogeni responsabili di TBDs nei cani arruolati: il 79% è risultato esposto ad almeno un patogeno, con una maggiore frequenza per *R. conorii*, *E. canis*, *B. burgdorferi* e *A. phagocytophilum*. Il 45% (59/131) dei cani presentava una risposta sierologica verso due o più patogeni.

Mediante tecniche molecolari, nel 25,5% (33/131) dei cani sono stati isolati patogeni trasmessi da zecche (*vedere tabella 2*); dal punto di vista molecolare non sono stati identificati casi di co-infezione.

L'agente individuato maggiormente con le tecniche molecolari è stato *B. canis*, osservato in cani del nord Italia (14%, n=18), mentre ci sono stati solo due casi di infezione da *B. vogeli* in cani del nord e sud Italia. Questi dati sono in accordo con uno studio condotto per il rilevamento di *Babesia* spp da cani con segni clinici compatibili con TBDs, dove *B. canis* era maggiormente presente nei cani del nord (29,1%), e *B. vogeli* nei cani del centro e sud Italia (16,3%)¹⁵. In uno studio sierologico condotto nel centro e nord Italia, è stata osservata una prevalenza del 34% per *Babesia* spp²⁰. Dal nostro studio si evince la presenza

Tab. 1 - Caratteristiche della popolazione canina esaminata

Razza	Sesso	Stile di vita	Esposizione a vettori	Provenienza
cani di razza 62%, n=73	maschi 59%, n=71	all'aperto 72%, n=81	pulci 6%, n=5	Sud 34%, n=46
meticci 38%, n=45	femmine 41%, n=50	in casa 28%, n=32	zecche 55%, n=46	Centro 26%, n=35
			pulci+zecche 39%, n=32	Nord 40%, n=54

Tab. 2 - Frequenza dell'esposizione e infezione ai patogeni trasmessi da zecche osservata nei 131 cani italiani

Patogeni ricercati con analisi sierologica	% [Sieropositivi/Totali]	Provenienza
<i>E. canis</i>	43% [56/131]	Sud=33, Centro=8, Nord=15
<i>A. phagocytophilum</i>	30% [39/131]	Sud=21, Centro=12, Nord=6
<i>R. conorii</i>	58% [76/131]	Sud=27, Centro=21, Nord=28
<i>B. burgdorferi</i>	40% [52/131]	Sud=17, Centro=14, Nord=21
Patogeni ricercati mediante PCR	% [Positivi/Totali]	Provenienza
<i>E. canis</i>	6% [8/131]	Sud=6, Centro=1, Nord=1
<i>A. phagocytophilum</i>	0% [0/131]	
<i>A. platys</i>	4% [5/131]	Sud=2, Centro=3
<i>R. conorii</i>	0% [0/131]	
<i>B. canis</i>	14% [18/131]	Nord=18
<i>B. vogeli</i>	1.5% [2/131]	Sud=1, Nord=1

di *B. canis* anche in cani del Piemonte, oltre che in Lombardia, Veneto, Friuli-Venezia Giulia, Marche, Umbria, Lazio e Sicilia⁵.

Anaplasma platys presente anche in Emilia-Romagna, Lazio e Campania

Nel 6% dei cani è stato isolato il DNA di *E. canis*; di questi 6 erano del sud, 1 del centro e 1 del nord Italia. Questi dati sembrano in accordo con un precedente studio, dove l'infezione da *E. canis*, valutata con PCR *real-time* in 601 cani, aveva dimostrato che l'infezione era maggiormente presente in cani del sud (9,7%) e del centro (8%) Italia, piuttosto che in cani nel nord (2,9%)⁹.

Nel presente studio è stata rilevata una sieroprevalenza del 43% per *E. canis*. Per questo agente era stata osservata una sieroprevalenza del 14,9% in cani del sud¹¹ e del 46,7% in cani della Sardegna²². *Anaplasma platys* è stato isolato con tecnica molecolare nel 4% dei cani. Una positività identica era stata rilevata in un precedente studio, condotto con tecniche molecolari, in cani con segni clinici di TBDs nel sud Italia (4,3%)²¹. Per quanto riguarda *A. platys*, finora segnalato solo in Sicilia⁵, è stata per la prima volta rilevata la presenza anche in Emilia-Romagna, Lazio e Campania.

Il DNA di *A. phagocytophilum* non è stato rilevato nei cani studiati, così come già osservato in uno studio condotto su 460 cani provenienti da tutta Italia con sospetto di TBDs⁹, e in uno studio condotto in Sicilia²³.

In questo studio la sieroprevalenza per *A. phagocytophilum* è risultata del 30%. In tre studi condotti su cani con sospetto di TBDs in Sicilia sono state osservate sieroprevalenze del 34%²¹, 38%²³ e 45%²⁴. Per le due specie di *Anaplasma*, è nota la cross-reazione²⁵, pertanto i dati di positività alla sierologia per *A. phagocytophilum* e negatività alla PCR sono probabilmente da ricondurre ad un'infezione so-

stenuta da *A. platys*, e questo spiegherebbe il rilevamento molecolare di *A. platys* e la positività alla sierologia per *A. phagocytophilum*, osservata nei cani dello studio.

Il DNA di *R. conorii*, fino a ora segnalata in Italia con rilevamento molecolare prevalentemente in cani della Sicilia, e in un cane del nord Italia^{14,21}, non è stato rilevato nei cani studiati. Tuttavia, il 58% della popolazione canina esaminata è risultato positivo alla sierologia per *R. conorii*. Una sieroprevalenza del 75% era stata osservata in cani della Sicilia²¹.

Cani sieropositivi a B. burgdorferi in Emilia-Romagna, Lazio, Liguria, Lombardia, Piemonte, Puglia, Toscana, Sardegna e Umbria

Nel presente studio è stata rilevata una sieroprevalenza del 40% per *B. burgdorferi*. Al momento in Italia è stato descritto un solo caso di un cane con infezione da *Borrelia*, con segni clinici compatibili e positività alla sierologia²⁸. A nostra conoscenza, per la prima volta abbiamo individuato cani sieropositivi a *B. burgdorferi* in Emilia-Romagna, Lazio, Liguria, Lombardia, Piemonte, Puglia, Toscana, Sardegna e Umbria, e non solo in Sicilia, come precedentemente descritto⁶. Mentre in Italia la borreliosi di Lyme, trasmessa da *B. burgdorferi*, è una frequente TBDs per l'uomo^{29,30}, nel cane ancora si ignora l'esatto ruolo patogenetico delle differenti specie di *Borrelia*³¹, che sarà da approfondire con ulteriori studi.

Frequenti le co-esposizioni

Dal nostro studio emerge chiaramente che la popolazione canina italiana è esposta a molti patogeni trasmessi da zecche, con numerosi cani co-esposti a più patogeni, e questo può comportare un quadro clinico difficile da interpretare, data la sovrapposizione dei segni clinici per ciascuna malattia.

Criteri di inclusione

Tra aprile 2007 e maggio 2008, sono stati arruolati 131 cani e per ciascuno sono stati raccolti sangue intero in K₃EDTA e siero.

Per l'arruolamento nello studio i cani dovevano soddisfare almeno due dei seguenti criteri di inclusione:

- presenza di segni clinici compatibili con TBDs^{17,18,19}: ipertermia, anoressia/letargia, linfadenomegalia non neoplastica, pallore delle mucose, splenomegalia, zoppia (poliartrite o zoppia altalenante), petecchie, ecchimosi, epistassi bilaterale, uveite, corioretinite bilaterale, mialgia aspecifica e falsa cifosi;
- presenza delle seguenti alterazioni clinicopatologiche compatibili con TBDs: trombocitopenia, linfocitosi (senza presenza di eosinofilia), anemia emolitica, ipergammaglobulinemia, proteinuria, emoglobinuria e iperbilirubinemia.

Inoltre, i cani arruolati non dovevano aver ricevuto un trattamento con doxiciclina né aver effettuato viaggi fuori dall'Italia nel mese precedente alla visita clinica.

Infatti, poiché i segni clinici rilevati nei cani erano del tutto aspecifici, per riuscire a comprendere la reale eziologia della malattia è stato necessario procedere con ricerche mirate come le tecniche molecolari e le analisi sierologiche per il rilevamento diretto o indiretto del patogeno.

Quando possibile, gli esami di sierologia e molecolare, dovrebbero essere effettuati insieme, per la precisa diagnosi di queste malattie²⁷.

Nonostante il modesto numero di cani arruolati, dallo studio emerge che i cani provenienti dalle diverse Regioni d'Italia, allevati all'aperto o in casa, e di qualunque razza, sono frequentemente esposti ai patogeni trasmessi da zecche.

Un efficace metodo di controllo per questi patogeni è costituito principalmente dalla prevenzione, piuttosto che dalla terapia farmacologica²⁷. Per prevenire e limitare la diffusione delle TBDs nei cani e sul territorio italiano, è opportuno un adeguato trattamento antiparassitario, da effettuarsi durante l'intero arco dell'anno in quanto, anche durante l'inverno, le zecche possono parassitare i cani non efficacemente trattati³².

■ Michele Trotta¹, Alessandro Fogliazza², Tommaso Furlanello¹, Laia Solano-Gallego^{1,3}

¹Laboratorio d'Analisi Veterinarie "San Marco", Padova.

²Meril, Italia.

³Royal Veterinary College, UK.

La bibliografia è a disposizione presso l'autore: michele.trotta@sanmarcovet.it

Un ringraziamento particolare ai colleghi che hanno permesso la realizzazione dello studio, con l'arruolamento dei cani da tutta Italia.