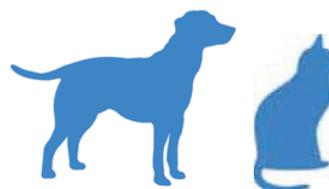


# Protozoi, nematodi e amebe: cause sporadiche di segni neurologici nei cani e nei gatti



Nel corso della pratica clinica, il medico veterinario si trova spesso di fronte ad animali portati a visita con sintomi neurologici. Alla base di tali affezioni neurologiche nel cane e nel gatto, vi possono essere traumi, neoplasie e disturbi metabolici oltre che infezioni batteriche, virali e parassitarie. Quest'ultime saranno l'oggetto della presente review, nel corso della quale saranno discussi i diversi aspetti riguardanti la biologia, i segni clinici e le metodiche diagnostiche dei principali parassiti noti per indurre segni neurologici (i.e. *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*) o che ne possono essere inaspettatamente la causa (i.e. *Dirofilaria immitis* e *Angiostrongylus vasorum*). Infine, saranno presi in considerazione alcuni parassiti, quali amebe ed *Encephalitozoon cuniculi* che, pur essendo capaci di provocare affezioni nervose, sono ancora poco riportati e conseguentemente poco conosciuti.



Vito Colella<sup>1\*</sup>,  
Med Vet,  
Resident EVPC  
(European Veterinary  
Parasitology College)



Domenico Otranto<sup>2\*</sup>,  
Med Vet, PhD,  
Dipl. EVPC, FRES

## INTRODUZIONE

Nel corso della pratica clinica, il medico veterinario si trova ad affrontare casi di animali portati a visita con segni neurologici, che possono essere causati da traumi, neoplasie, malattie metaboliche e infiammatorie; quest'ultime, spesso, a presunta eziologia immunomediata e talvolta sostenute da infezioni batteriche e virali. Oltre a queste eziologie, anche le malattie parassitarie possono indurre segni neurologici negli animali domestici. Ciononostante, i parassiti che ne sono causa sono spesso poco conosciuti, e ancor meno conosciute sono le metodiche utili per conseguire una diagnosi definitiva. In questa review saranno discusse la biologia, i segni clinici e le metodiche diagnostiche di alcuni tra

i parassiti presenti in Italia in grado di indurre segni neurologici nei cani e nei gatti.

### Protozoi

Tra i numerosi protozoi in grado di provocare segni neurologici nel cane e nel gatto, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* sono tra i più conosciuti per la loro distribuzione cosmopolita.

*Toxoplasma gondii* è un parassita zoonosico capace di infettare numerosissime specie di mammiferi e uccelli che fungono da ospiti intermedi, mentre i felidi rappresentano gli unici ospiti definitivi nei quali il protozoo compie la riproduzione sessuata ed elimina le oocisti con le feci<sup>1</sup> (Figura 1). Nell'ambiente, le oocisti, caratterizzate dalla presenza di due sporocisti con quattro sporozoiti, vanno incontro a sporulazione (in media in 2-5 gg) e, quando assunte dagli ospiti intermedi, liberano gli sporozoiti che replicano rapidamente, e danno inizio ad un ciclo extra-intestinale. Quest'ultima modalità di replicazione porta alla formazione di tachizoiti, bra-

<sup>1</sup> Medico Veterinario; Resident EVPC (European Veterinary Parasitology College), Dottorando di Ricerca in Sanità Animale e Zoonosi, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Italia

<sup>2</sup> Ordinario di Parassitologia e Malattie Parassitarie, Dipl. EVPC (European Veterinary Parasitology College), Fellow of the Royal Entomological Society, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Italia

\*Corresponding Author (vito.colella@uniba.it)

\*Corresponding Author (domenico.otranto@uniba.it)

Ricevuto: 09/11/2016 - Accettato: 27/01/2017

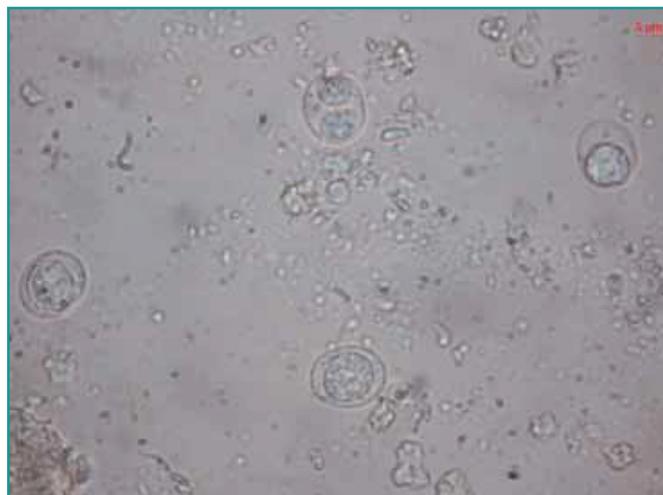


Figura 1 - Oocisti di *Toxoplasma gondii* nelle feci di un gatto. Scale bar 5  $\mu$ m.

**I linfociti T intracerebrali, gli astrociti e le cellule della microglia sono essenziali nel controllo delle cisti intraneuronali di *Toxoplasma gondii*.**

dizoiti ed infine di cisti tissutali localizzate soprattutto a livello del sistema nervoso centrale (SNC) e dei muscoli. I felini si infettano principalmente tramite l'ingestione dei tessuti parassitati degli ospiti intermedi. Infatti, è stato stimato che l'ingestione di un solo bradizoita può essere sufficiente per infettare il gatto, mentre sono necessari circa 1000 oocisti per ottenere lo stesso risultato.<sup>1</sup> Ad ogni modo, nei felidi può avvenire sia un ciclo intestinale, che porterà alla formazione di oocisti, che uno extra-intestinale caratterizzato dalla formazione di cisti tissutali, in maniera simile a quanto avviene nell'ospite intermedio.

A seguito del suo spiccato tropismo per il sistema nervoso, *T. gondii* può indurre disordini neurologici o oculari severi nei feti durante la gestazione di numerose specie animali, ed in particolare nella donna.<sup>1</sup> Fino a poco tempo fa, si supponeva che le donne sieropositive prima della gravidanza fossero completamente protette nei confronti di future infezioni. Tuttavia, sono stati riportati casi d'infezioni recrudescenti in madri immunocompetenti.<sup>2</sup> L'uomo si infetta tramite l'ingestione di oocisti presenti nel suolo, nell'acqua contaminata o sui vegetali, ma, più frequentemente, con cisti tissutali presenti in carne poco cotta, a seguito di trasfusioni sanguigne o trapianti, o per via congenita.<sup>1</sup> Di particolare rilevanza è la quasi totale assenza di sintomatologia nelle persone infette dopo la nascita.

Per infettare i propri ospiti, *T. gondii* utilizza un numero elevato di mediatori molecolari che gli permettono di superare i sistemi di difesa presenti

in diverse interfacce biologiche, come la barriera ematoencefalica o la mucosa intestinale. I tachizoiti, durante le infezioni acute avvenute per via orale, migrano attraverso la lamina propria intestinale, dove incontrano neutrofilii, cellule dendritiche e monociti che saranno utilizzati come "cavalli di Troia" per colonizzare i linfonodi mesenterici, per poi immettersi nella circolazione sistemica.<sup>3</sup> Dopo l'infezione, i protozoi persistono nell'organismo degli ospiti come cisti intraneuronali, che sono controllate, ma non eliminate, dal sistema immunitario. In particolare, i linfociti T intracerebrali sono essenziali per il controllo dell'infezione, insieme ad altre cellule residenti del sistema immunitario (e.g., astrociti e microglia), che contribuiscono alla produzione di citochine e all'espressione di molecole di superficie a funzione immunoregolatrice, incluso il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC). L'elevato numero di popolazioni cellulari intracerebrali e di interleuchine durante le infezioni da *T. gondii* evidenzia quanto il sistema immunitario sia essenziale nel controllo delle forme croniche cerebrali.<sup>4</sup> Per esempio, nei pazienti umani affetti da HIV/AIDS il basso numero di cellule CD4+ può portare i bradizoiti a replicare velocemente e distruggere le cellule residenti del SNC, con conseguente sviluppo di forme fatali.<sup>4</sup>

Nei gatti le infezioni sono spesso subcliniche<sup>5</sup>, sebbene sia nei gattini che negli adulti si possano manifestare febbre, letargia, anoressia, problemi oculari (e.g., uveite e corioretinite), disordini gastrointestinali e neurologici.<sup>6</sup> I gattini infettati per via transplacentare possono nascere morti o disvitali, e possono manifestare ipotermia, depressione, letargia, uveite e segni clinici associati ad un'inflammatione generalizzata del SNC e degli organi parenchimosi. Nei cani i segni neurologici riflettono le molteplici possibili localizzazioni del parassita nel sistema nervoso e variano pertanto da convulsioni ad atassia, paresi-paralisi, atrofia muscolare e deficit dei nervi cranici.<sup>7</sup> In aggiunta, sono state riportate forme cardiache caratterizzate da aritmie e scompensi cardiovascolari,<sup>7</sup> e lesioni del tessuto muscolare scheletrico con miosite clinicamente associata ad atrofia muscolare, andatura rigida, paralisi e paresi. Nei cani inferiori all'anno di età i segni clinici generalmente rilevabili sono febbre, ittero, diarrea, vomito e dispnea.

I test sierologici sono utili per rilevare la presenza di anticorpi anti-*Toxoplasma*, sia nei gatti sani, sia in quelli malati. Infatti, su un campione di 12.628 gatti è stata rilevata una sieroprevalenza del 30%.<sup>6</sup> Tuttavia, il rilievo di anticorpi della classe IgM superiore a 1:64 o un incre-

***Neospora caninum* può essere trasmesso ai cuccioli nel corso di gravidanze successive.**

mento di 4 volte delle IgG può essere indicativo di infezione attiva. Similmente, il rilievo del DNA di *T. gondii* tramite metodiche biomolecolari non può discriminare un'infezione acuta da una cronica. Diversamente, i tachizoiti, possono essere rilevati durante la fase acuta dell'infezione tramite analisi citologica del materiale ottenuto da diversi tessuti degli animali infetti. Infine, la ricerca di oocisti nelle feci non rappresenta un test diagnostico affidabile, in quanto i gatti eliminano le oocisti solo per 1-2 settimane e durante questa fase non manifestano segni clinici sistemici.

Nel cane è necessario differenziare la toxoplasmosi dai quadri clinici causati da *Neospora caninum*. Infatti, quest'ultimo è stato erroneamente diagnosticato, fino al 1988, come *T. gondii* a causa di similarità morfologiche e per la condivisione di molte nicchie ecologiche.<sup>8</sup>

I cani sono gli ospiti definitivi di *N. caninum* e sono in grado di rilasciare oocisti particolarmente resistenti in ambiente, dove sporulano in ventiquattro ore, mentre molte specie di mammiferi, cane incluso, sono ospiti intermedi in grado di albergare cisti tissutali.<sup>9</sup> Nei bovini la neosporosi rappresenta una delle più importanti cause di aborto, e gli invogli fetali così come i feti abortiti costituiscono la principale fonte di infezione per i cani.<sup>9</sup> Nel cane, la predilezione di *N. caninum* per le zone spinali del tratto lombosacrale è responsabile dell'atrofia dei muscoli pel-

vici, dell'artrogrifosi e della paralisi ascendente degli arti posteriori. La polimiosite-poliradicoloneurite e l'encefalite sono le due presentazioni cliniche neurologiche più riportate durante la neosporosi canina.<sup>9</sup> La prima è riportata soprattutto in cani di età compresa tra le 5 settimane ed i 6 mesi, infettati per via transplacentare.<sup>9</sup> Infatti, nei cuccioli con infezione congenita le manifestazioni cliniche rilevate in ordine di frequenza sono la paralisi ascendente e iperestensione degli arti posteriori, atrofia muscolare e polimiosite, ed interessamento multifocale del SNC, con possibile decorso fatale.<sup>9</sup> Inoltre, nel cane è stata riportata la trasmissione transplacentare del patogeno anche nel corso di gravidanze successive, sebbene questa via di trasmissione sia considerata meno importante nel mantenimento dell'infezione nelle popolazioni canine. Ciononostante, forme cliniche nervose possono interessare anche i soggetti adulti. È stato dimostrato sperimentalmente che l'infezione da *N. caninum* nel gatto può causare encefalomielite e/o miosite<sup>10</sup>, sebbene il decorso clinico di questa parassitosi in presenza di infezioni naturali nei felini non sia ancora conosciuto.

La diagnosi definitiva mira ad evidenziare il protozoo *in primis* nei tessuti, nel liquido cefalorachidiano, ovvero le

oocisti tramite flottazione del materiale fecale. La lesione istopatologica più caratteristica dell'encefalomielite da *N. caninum* è la meningoencefalomielite multifocale non suppurativa caratterizzata dalla presenza di tachizoiti e cisti tissutali.<sup>9</sup> Inoltre, i test molecolari su materiale biotico hanno un'alta sensibilità rispetto alle valutazioni microscopiche. In casi sintomatici, la ricerca di anticorpi anti-*N. caninum* con titoli  $\geq 1:200$  può essere indicativo di neosporosi clinica.<sup>8</sup>

Sebbene siano trascorse quasi tre decadi dal primo riconoscimento di *N. caninum* come patogeno in diverse specie animali, l'identificazione del rapporto ospite-parassita e lo studio del decorso clinico negli animali domestici e selvatici, richiedono ancora delucidazioni al fine di ottenere linee guida per il riconoscimento e il trattamento di questa parassitosi.

Meno conosciuto nella clinica del cane e del gatto è *Encephalitozoon cuniculi*, microrganismo intracellulare obbligato dalle caratteristiche biologiche ancora poco note. Infatti, sebbene sia stato inizialmente ritenuto filogeneticamente e tassonomicamente vicino ai protozoi, *E. cuniculi* è attualmente incluso nel regno dei Funghi. L'ospite principale di questo patogeno è il coniglio, ma

è stato diagnosticato in un'ampia gamma di mammiferi incluso il cane, la volpe, alcune specie di roditori e l'uomo. I conigli eliminano le spore con le urine e le feci, pertanto

gli animali si infettano tramite l'ingestione di cibo o acqua contaminati o, meno frequentemente, per via transplacentare. Le spore infettano gli enterociti e si localizzano nelle placche del Peyer, da dove poi diffondono tramite il circolo ematico agli organi target. Nel coniglio l'infezione ha andamento cronico<sup>11</sup> e il microrganismo invade principalmente il SNC, i reni e gli occhi, causando meningoencefalite granulomatosa, nefrite e uveite, rispettivamente.<sup>12</sup> Nel cane sono state riportate lesioni del tutto simili a quelle del coniglio che coinvolgono il sistema nervoso<sup>13</sup> e l'apparato oculare con uveite e cataratta.<sup>14</sup> I segni clinici più frequentemente segnalati in corso d'infezione sono debolezza del treno posteriore, incoordinazione, apatia e crisi convulsive. Similmente, nel gatto *E. cuniculi* è stato riportato in più occasioni come uno degli agenti della meningoencefalite granulomatosa ed uveite.<sup>15,16</sup> Queste circostanze hanno indotto ad ipotizzare che *E. cuniculi* sia un patogeno sottostimato nella medicina felina, poiché, a fronte di un elevato numero di casi di meningoencefalite in cui non è stato possibile identificare nessun microrganismo come causa eziologica, i dati di sieropositività nei felini sono elevati.

**Le forme adulte o larvali di *Dirofilaria immitis* possono effettuare migrazioni aberranti negli occhi, nel cervello o nel midollo spinale degli animali infetti.**

Nell'uomo, accanto ad una sintomatologia lieve o moderata, sono stati descritti casi fatali di infezione multisistemica, soprattutto nei soggetti immunocompromessi.<sup>17</sup> La diagnosi *intra vitam* è resa difficile dalla scarsità dei test diagnostici disponibili. Attualmente è possibile diagnosticare *E. cuniculi* nei cani e nei gatti mediante test ELISA o tramite la visualizzazione dei parassiti dopo prelievo biotico. In futuro, il miglioramento dei metodi diagnostici permetterà di colmare le carenze inerenti l'areale di distribuzione e i quadri clinici negli animali infetti.

### Nematodi

Numerosi nematodi possono localizzarsi, allo stadio adulto o larvale, in sedi aberranti, tra cui i tessuti del sistema nervoso. Per esempio, *Dirofilaria immitis* (Spirurida, Onchocercidae) meglio noto come "heartworm" è un nematode a distribuzione cosmopolita, causa di malattia negli animali e nell'uomo, trasmesso da zanzare culicidi appartenenti ad alcuni generi tra cui *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* e *Ochlerotatus*.<sup>18</sup> Quando le microfilarie (Figura 2) circolanti nel sangue di ospiti infetti sono assunte con il pasto di sangue dai culicidi, mutano fino a raggiungere lo stadio infettante, trasmesso, con il successivo pasto, ad altri ospiti suscettibili.<sup>19</sup> Il periodo di prepatenza (periodo che intercorre dall'infezione dell'ospite fino al ritrovamento di microfilarie di nuova generazione nel sangue) è variabile dai 4 ai 6 mesi.<sup>20</sup> Questo nematode ha una bassa specificità d'ospite, ed è in grado di parassitare diverse specie di mammiferi terrestri e acquatici.<sup>19</sup> Le infezioni da *D. immitis* sono endemiche in molti stati del Vecchio e del Nuovo Mondo, oltre ad essere state riportate in regioni precedentemente considerate non endemiche, come Repubblica Ceca, Ungheria, Serbia, Svizzera, Germania e Austria.<sup>21</sup>



Figura 2 - Microfilaria di *Dirofilaria immitis*. Scale bar 50 µm.

I nematodi adulti si localizzano principalmente nell'arteria polmonare e nel ventricolo di destra, ma sono state riportate, in diverse occasioni, localizzazioni aberranti nelle cavità addominale e peritoneale, negli occhi e nel SNC.<sup>20</sup> Nei cani l'infezione è potenzialmente fatale e la sintomatologia primaria è a carico dell'apparato respiratorio. Pertanto, la severità della presentazione clinica è direttamente proporzionale al numero dei nematodi adulti presenti in queste sedi. I segni clinici maggiormente riportati sono tosse e dispnea e, quando l'insufficienza cardiaca congestizia di destra sopraggiunge, ascite, anoressia e perdita di peso possono comportare la morte del soggetto.<sup>20</sup> Gli episodi acuti sono spesso fatali, e sono dovuti sia al tromboembolismo causato dalla morte dei nematodi adulti, sia all'azione meccanico-ostruttiva provocata dalla localizzazione nella camera cardiaca di destra, con conseguente sviluppo della cosiddetta sindrome della vena cava.

**Il test di Knott rivela infezioni patenti causate da nematodi filaridi le cui microfilarie circolano nel sangue degli animali infetti.**

Le localizzazioni aberranti di *D. immitis* nel SNC possono causare segni neurologici severi, e in alcuni casi si assiste a emorragie cerebrali, aree di necrosi parenchimale e formazione di cavità multifocali all'interno del cervello degli animali infetti.<sup>22</sup> In base alla localizzazione dei nematodi nello spazio epidurale può insorgere tetra- o paraparesi<sup>23</sup> o paralisi del treno posteriore.<sup>24</sup> Depressione, paresi della coda e degli arti posteriori, encefalomielite e miosite sono inoltre stati descritti a causa della localizzazione delle larve nel SNC o degli adulti nelle arterie femorali.<sup>25</sup>

Nei gatti la sintomatologia sembra essere più grave, in relazione alla minore circolazione collaterale e alla minore dimensione dei vasi di questi animali rispetto a quella dei cani, oltre che alla reattività dei macrofagi intravascolari polmonari. La sintomatologia principale è a carico del sistema respiratorio, e può manifestarsi con sindromi acute da distress respiratorio (ARDS) che possono portare all'*exitus* improvviso del soggetto<sup>26</sup>, soprattutto in seguito alla morte di un gran numero di nematodi adulti.<sup>27</sup> Infatti, vista la preponderanza dei segni clinici respiratori, nei gatti l'acronimo HARD *heartworm associated respiratory disease*, riassume il quadro sintomatologico in corso di dirofilariosi felina.<sup>28</sup> Le presentazioni cliniche acute o iperacute con segni neurologici possono essere l'esito di migrazioni aberranti negli occhi, nel cervello o nel midollo spinale.<sup>27</sup> La sintomatologia può essere molto varia, e include ipersalivazione, tachicardia, shock, atassia, movimenti in circolo, cecità e crisi epilettiformi.<sup>27</sup>

La diagnosi di *D. immitis* si basa sull'impiego di molteplici metodiche, spesso utilizzate in combinazione, prima di giungere ad una diagnosi definitiva. Per

**L'angiostrongilosi canina può manifestarsi con diversi segni clinici inclusi i segni respiratori, i disordini della coagulazione e i deficit del sistema nervoso.**

esempio, il test di Knott permette di svelare infezioni patenti in corso di dirofilariosi, ma le microfilarie devono essere distinte da quelle, morfologicamente simili, di *Dirofilaria repens*. Al contempo, il test di Knott non permette di rilevare infezioni prepatenti e/o potrebbe essere poco o per nulla sensibile in quei casi in cui sono presenti pochi nematodi adulti o di un solo sesso, cosa che accade di frequente nel gatto. La radiografia toracica e l'ecocardiografia sono d'ausilio per rilevare la severità della malattia cardiopolmonare e per visualizzare i parassiti adulti. Inoltre, sono disponibili una serie di test immunocromatografici ed ELISA in grado di rilevare gli antigeni circolanti della femmina adulta di *D. immitis*, che hanno il pregio di essere rapidi, facili da utilizzare e sensibili. Ciononostante, le infezioni causate da soli maschi, o quelle in cui la femmina non ha raggiunto ancora la maturità, non sono rilevabili. Infatti, gli antigeni rilevabili da questi test, sono presenti dopo "solo" 5-6 e 5-8 mesi dall'infezione nel cane e nel gatto, rispettivamente.

In un contesto completamente diverso da quello di *D. immitis*, le malattie trasmesse da chioccioline, note come *snail-borne diseases*, sono attualmente sempre più studiate in ambito medico e veterinario. Per esempio, i nematodi del genere *Angiostrongylus* sono noti in medicina veterinaria e umana poiché causa di malattie potenzialmente fatali in molte specie animali domestiche e selvatiche, così come nell'uomo.<sup>29</sup> Tra questi parassiti, *Angiostrongylus vasorum* (Strongylida, Angiostrongilidae) è un nematode ancora poco conosciuto in Italia, le cui forme adulte si localizzano nella camera ventricolare di destra e nelle diramazioni dell'arteria polmonare del cane, volpe ed altri carnivori.<sup>19</sup> In questa sede anatomica, le femmine gravide rilasciano uova nel circolo ematico, ed a livello dei capillari polmonari le larve di primo stadio (L1) fuoriescono irrompendo dagli alveoli verso i bronchioli, dove, grazie all'apparato mucociliare, sono trasportate nelle porzioni faringee e deglute.<sup>19</sup> A questo punto, le larve eliminate con le feci, entrano in contatto con diverse specie di gasteropodi polmonati che fungono da ospiti intermedi, e nelle quali avviene lo sviluppo da larva di primo stadio a larva infettante di terzo stadio (L3) in un tempo variabile dalle 2 alle 3 settimane.<sup>19,30</sup> Questi gasteropodi infetti saranno la principale fonte d'infezione per i canidi, ospiti definitivi. *Angiostrongylus vasorum* è presente in Africa, America ed Europa, Italia compresa, con una distribuzione a macchia, caratterizzata dal-

la presenza di zone focali iperendemiche.<sup>31,32</sup> È stato studiato che le chioccioline *Biomphalaria glabrata*, infettate sperimentalmente, possono rilasciare L3 in ambiente,

e, dunque, gli ospiti definitivi possono infettarsi direttamente ingerendo queste larve senza la necessità di alimentarsi di gasteropodi.<sup>33</sup> Un'altra via alternativa d'infezione dell'ospite definitivo è rappresentata dall'ingestione delle rane (*Rana temporaria*), le quali possono fungere sia da ospite intermedio che paratenico.<sup>34</sup>

Recentemente, è stata descritta una via di trasmissione delle L3 da chioccioline infette a non infette (i.e. intermediarie); questa modalità di trasmissione potrebbe contribuire all'instaurarsi delle note aree iperendemiche, e ad aumentare la possibilità per gli ospiti definitivi e paratenici di venire a contatto con il parassita.<sup>35</sup> Qualunque sia la via di trasmissione delle larve infettanti, nel cane, le L3 effettuano due mute nei linfonodi del tratto intestinale, mentre le larve di quinto stadio (L5) si andranno a localizzare nelle sedi vascolari definitive dove diventeranno sessualmente mature.<sup>30</sup>

La diagnosi di *A. vasorum* può risultare difficoltosa, soprattutto a causa dell'ampio spettro di segni clinici e per la presenza di condizioni subcliniche che possono manifestarsi in maniera improvvisa.<sup>31</sup> Inoltre, le difficoltà nel diagnosticare questo nematode ostacolano la raccolta di dati utili per comprendere la reale distribuzione di questo parassita, specialmente in aree dove è poco conosciuto.<sup>31</sup>

La principale manifestazione clinica dell'angiostrongilosi canina è rappresentata da disturbi respiratori, nonostante siano stati frequentemente riportati anche disordini della coagulazione e neurologici.<sup>31</sup> Infatti, sono stati descritti casi in cui l'unica manifestazione clinica, o quella predominante, era data da segni a carico del SNC.<sup>36</sup> I disordini neurologici sono stati associati principalmente all'emorragie nel cervello, cervelletto e midollo spinale o alle migrazioni aberranti degli stadi larvali.<sup>37</sup> I principali segni clinici includono paresi, paralisi, tremori, convulsioni, dolore e rigidità del collo, atassia, depressione, perdita dell'equilibrio, rotazione della testa e deficit propriocettivi.<sup>36,37,38</sup>

Le migrazioni aberranti di *A. vasorum* complicano ulteriormente la diagnosi di questa parassitosi. Gli adulti di questo nematode sono stati riscontrati nel sacco pericardico, vescica, arteria femorale e camera anteriore dell'occhio, mentre le L1 sono state ritrovate nel SNC, fegato, stomaco, milza, pancreas e reni di animali infetti.<sup>39,40,41,42,43</sup> Una via di migrazione ipotizzata per *A. vasorum* prevede il passaggio del nematode attraverso i nervi cranici e il forame ottico, per poi colonizzare i tessuti



**Figura 3** - Cane con *Angiostrongylus vasorum* nella camera anteriore dell'occhio.

oculari ed immettersi nella camera anteriore dell'occhio<sup>43</sup> (Figura 3).

Il test diagnostico d'elezione per l'angiostrongilosi è rappresentato dalla tecnica di Baermann, che permette di rilevare la presenza delle L1 di *A. vasorum* (Figura 4) nelle feci durante un'infezione patente. Successivamente le L1 dovranno essere accuratamente identificate morfologicamente e differenziate dalle larve di primo stadio di altri nematodi che provocano sintomi respiratori simili a quelli indotti da *A. vasorum* ma con diverso andamento clinico<sup>44</sup> (e.g. *Crenosoma vulpis*).

Le localizzazioni aberranti con sintomatologia inattesa possono essere riportate anche in casi in cui siano assenti i segni cardiorespiratori e/o siano assenti le L1 nelle feci. A tal fine, è stato messo in commercio un test diagnostico per la ricerca di antigeni circolanti di *A. va-*

***Balamuthia mandrillaris* è un'ameba ubiquitaria causa dell'encefalite granulomatase amebica, fatale nell'89% dei casi.**



**Figura 4** - Larva di primo stadio di *Angiostrongylus vasorum*. Scale bar 50 µm.

*sorum* (IDEXX Angio Detect™) che permette di diagnosticare infezioni in corso e può essere fondamentale per intraprendere terapie d'urgenza durante l'angiostrongilosi canina.<sup>45</sup>

### Amebe

Le amebe rappresentano, probabilmente, una delle cause più neglette di malattia associata a disordini del sistema nervoso. Questi organismi unicellulari ubiquitari sono presenti in molteplici ambienti, e la loro morfologia è caratterizzata da forme e dimensioni estremamente variabili. Le amebe opportuniste a vita libera dei generi *Acanthamoeba*, *Balamuthia* e *Naegleria* causano delle malattie multisistemiche con encefalite e cheratite negli animali e nell'uomo.<sup>46</sup> *Acanthamoeba* è riconosciuto come agente di infezioni disseminate ed encefalite.<sup>47</sup> I sintomi in corso di infezione multisistemica nei cani sono variabili e includono febbre, scolo nasale e oculare, rigidità del collo e degli arti. I soggetti giovani e gli immunodepressi sono più predisposti a sviluppare infezioni fatali da *Acanthamoeba*.

*Balamuthia mandrillaris* è un protozoo a vita libera capace di infettare l'uomo, il cane, il cavallo, la pecora e i primati<sup>48</sup> causando una forma clinica fatale nell'89% dei casi, nota come encefalite granulomatosa amebica "*granulomatous amoebic encephalitis*" (GAE), difficile da diagnosticare e trattare. Sono presenti due soli stadi nel ciclo biologico di *Balamuthia*: il trofozoite e la cisti. I trofozoiti sono lo stadio infettante e replicano per mitosi nell'organismo dell'ospite. Anche le cisti ambientali sono capaci di infettare l'ospite per inalazione di aerosol o tramite il contatto diretto con la cute lesa. Una volta nel sistema respiratorio, il protozoo si diffonde per via ematogena e può replicare nel SNC e in diversi organi, dove sarà possibile rilevare sia le cisti che i trofozoiti.

Nel cane l'immunodepressione sembra favorire l'infezione<sup>48</sup>, mentre nell'uomo la malattia si presenta indistintamente in soggetti immunocompetenti e immunodepressi. Sebbene *B. mandrillaris* sia classificata come ameba ubiquitaria, in pochi casi è stato possibile isolare il protozoo dall'ambiente<sup>46</sup>, anche in relazione alla natura di "*fastidious pathogen*" ossia che richiede fattori specifici per la crescita in vitro.<sup>49</sup> Inoltre, la diagnosi è resa più complicata dalla similarità dei sintomi clinici con quelli causati da altri agenti eziologici (e.g., neurotubercolosi, meningoencefalite virale, neurocisticercosi), dalla carenza di test diagnostici appropriati e disponibili solo in poche strutture, e dalle scarse conoscenze relative al patogeno.<sup>50</sup> Ne risulta che il microrganismo è spesso diagnosticato *post mortem*, sebbene in vita sia talvolta possibile rilevare i trofozoiti nel liquido cefalo-rachidiano, nel sangue e nei tessuti dei pazienti infetti. Ad ogni modo, la diagnosi morfologica è complessa, pertanto per confermare un sospetto diagnostico è consigliabile impie-

gare alcuni test quali l'immunofluorescenza indiretta, l'immunoistochimica e l'amplificazione del DNA del protozoo tramite metodiche molecolari.

## CONCLUSIONI

Seppure sporadicamente, le malattie parassitarie possono causare segni clinici neurologici nei cani e nei gatti, e il medico veterinario deve essere a conoscenza delle appropriate metodiche di ricerca del parassita al fine di raggiungere la diagnosi definitiva.

L'approccio a tali pazienti non può comunque prescindere da un accurato inquadramento neurologico, che includa la neurolocalizzazione del problema e l'analisi di quest'ultimo attraverso le metodiche diagnostiche più indicate quali imaging avanzato (e.g. risonanza magnetica), esame del liquido cefalorachidiano o, in caso di localizzazioni al sistema nervoso periferico, elettrodiagnostica e biopsia neuromuscolare. Gli esiti di tali esami, congiuntamente ai rilievi clinici e laboratoristici di base, e ai risultati dei test diagnostici per ogni singolo pa-

rasita, consentono di orientare l'eventuale diagnosi definitiva verso gli agenti parassitari. Infatti, accanto a parassitosi note per causare patologie al sistema nervoso come la neosporosi o la toxoplasmosi, ne esistono altre che possono causare inaspettatamente segni neurologici come la dirofilariosi e l'angiostromgilosi o essere poco conosciute dai clinici e a frequenza sporadica come le infezioni sostenute da amebe. L'aggiornamento costante da parte del medico veterinario è, dunque, un requisito imprescindibile per effettuare una corretta diagnosi differenziale dei patogeni in grado di causare segni neurologici nei cani e nei gatti. Inoltre, il medico veterinario, sempre più sensibile al concetto di "One Health", ha il compito di identificare i fattori di rischio legati alle parassitosi e di formulare le necessarie azioni in grado di salvaguardare la salute degli animali e dell'uomo.

## RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano il Dr. Riccardo Paolo Lia per aver fornito le Figure 1 e 2 presenti nel testo.

### PUNTI CHIAVE

- Protozoi, nematodi e amebe, possono causare segni neurologici inaspettati nei cani e nei gatti.
- La diagnosi di questi parassiti può essere difficoltosa per i diversi segni clinici manifestati dagli animali infetti e per la limitata conoscenza delle metodiche diagnostiche.
- L'aggiornamento costante da parte del medico veterinario è fondamentale per poter applicare le migliori metodiche di diagnostica parassitologica al fine di effettuare una corretta diagnosi differenziale dei patogeni in grado di causare segni neurologici nei cani e nei gatti.

## Protozoa, nematodes and amoebae as sporadic agents of neurological signs in dogs and cats

### Summary

*During their daily activities, practitioners are accustomed to examining animals, referred to veterinary facilities, with neurological condition. Though trauma, tumors, metabolic disorders, viral and bacterial infections are mostly investigated, parasites may also induce neurological signs in dogs and cats. Therefore, this review is focused on the biology, clinical signs and diagnosis of instances of parasites known to cause neurological disorders (i.e. Toxoplasma gondii and Neospora caninum) or that may occasionally cause neurological signs (i.e. Dirofilaria immitis and Angiostrongylus vasorum). Finally, the biology of pathogens still poorly known in Italy (i.e. amoebae and Encephalitozoon cuniculi), will also be discussed.*

## BIBLIOGRAFIA

1. Dubey JP. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. International Journal for Parasitology 39:877-882, 2009.
2. Elbez-Rubenstein A. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. The Journal of Infectious Diseases 199:280-285, 2009.
3. Harker KS, Ueno N, Lodoen MB. *Toxoplasma gondii* dissemination: a parasite's journey through the infected host. Parasite Immunology 37:141-149, 2015.
4. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet 363:1965-1976, 2015.
5. Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton: CRC Press, 1988.
6. Vollaire MR, Radecki SV, Lappin MR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in clinically ill cats in the United States. American Journal of Veterinary Research 66:874-877, 2005.

7. Nelson R.W. and Couto C.G. Small Animal Internal Medicine. 5th Edition. Elsevier: Mosby, 2014.
8. Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA *et al.* Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 192:1269-1285, 1998.
9. Reichel MP, Ellis JT, Dubey, JP. Neosporosis and hammondiosis in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 48:308-312, 2007.
10. Bresciani KDS, Costa AJ, Nunes CM *et al.* Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em caes de Aracatuba. *Ars Veterinaria* 23:40-46, 2007.
11. Wasson K, Peper RL. Mammalian microsporidiosis. *Veterinary Pathology* 37:113-128, 2000.
12. Cox JC, Gallichio HA. Serological and histological studies on adult rabbits with recent, naturally acquired encephalitozoonosis. *Research in Veterinary Science* 24:260-261, 1978.
13. Snowden KF, Lewis BC, Hoffman J *et al.* *Encephalitozoon cuniculi* infections in dogs: a case series. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 45:225-231, 2009.
14. Nell B, Csokai J, Fuchs-Baumgartinger A *et al.* *Encephalitozoon cuniculi* causes focal anterior cataract and uveitis in dogs. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere* 43:337-344, 2015.
15. Vávra J, Blažek K, Lávicová N *et al.* Nosematosis in carnivores. *Journal of Parasitology* 57:923-924, 1971.
16. Rebel-Bauder B, Leschnik M, Maderner A *et al.* Generalized encephalitozoonosis in a young kitten with cerebellar hypoplasia. *Journal of Comparative Pathology* 145:126-131, 2011.
17. Mertens RB, Didier ES, Fishbien MC *et al.* *Encephalitozoon cuniculi* microsporidiosis: infection of the brain, heart, kidneys, trachea, adrenal glands, and urinary bladder in a patient with AIDS. *Modern Pathology* 10:68-77, 1997.
18. Simón F, Siles-Lucas M, Morchón R *et al.* Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clinical Microbiology Reviews* 25, 507-544, 2012.
19. Anderson RC. Nematode parasites of vertebrates their development and transmission. 2nd edn. Wallingford: CABI Publishing, 2000.
20. McCall JW, Genchi C, Kramer LH *et al.* Heartworm disease in animals and humans. *Advances in Parasitology* 66:193-285, 2008.
21. Genchi C, Bowman D, Drake J. Canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in Western Europe: survey of veterinary awareness and perceptions. *Parasites & Vectors* 7:206, 2014.
22. Fukunaga N, Morita T, Sawada M *et al.* Cerebral hemorrhage and necrosis due to the aberration of *Dirofilaria immitis* in a dog. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association* 58:751-754, 2005.
23. Blass CE, Holmes RA, Neer TM. Recurring tetraparesis attributable to a heartworm in the epidural space of a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 194:787-788, 1989.
24. Luttgen PJ, Crawley RR. Posterior paralysis caused by epidural dirofilariasis in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 17:57-59, 1981.
25. Cooley AJ, Clemmons RM, Gross TL. Heartworm disease manifested by encephalomyelitis and myositis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 190:431-432, 1987.
26. Alho AM, Giannelli A, Colella V *et al.* Pathology in Practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 249:751-753, 2016.
27. Atkins C. Heartworm disease: Textbook of veterinary internal medicine. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2010, pp. 1373-1380.
28. García-Guasch L, Caro-Vadillo A, Manubens-Grau J *et al.* Is *Wolbachia* participating in the bronchial reactivity of cats with heartworm associated respiratory disease? *Veterinary Parasitology* 196:130-5, 2013.
29. Spratt DM. Species of *Angiostrongylus* (Nematoda: Metastrongyloidea) in wildlife: A review. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 4:178-189, 2015.
30. Rosen L, Ash LR, Wallace GD. Life history of the canine lungworm *Angiostrongylus vasorum* (Baillet). *American Journal of Veterinary Research* 31:131-143, 1970.
31. Koch J, Willesen JL. Canine pulmonary angiostrongylosis: an update. *The Veterinary Journal* 179:348-359, 2009.
32. Taylor CS, Garcia Gato R, Learmount J *et al.* Increased prevalence and geographic spread of the cardiopulmonary nematode *Angiostrongylus vasorum* in fox populations in Great Britain. *Parasitology* 142:1190-1195, 2015.
33. Barçante TA, Barçante JM, Dias SR *et al.* *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of third-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. *Parasitology Research* 91:471-475, 2003.
34. Bolt G, Monrad J, Frandsen F *et al.* The common frog (*Rana temporaria*) as a potential paratenic and intermediate host for *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research* 79:428-430, 1993.
35. Colella V, Giannelli A, Brianti E *et al.* Feline lungworms unlock a novel mode of parasite transmission. *Scientific Report* 5:13105, 2015.
36. Gredal H, Willesen JL, Jensen HE *et al.* Acute neurological signs as the predominant clinical manifestation in four dogs with *Angiostrongylus vasorum* infections in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53:43, 2011.
37. Negrin A, Cherubini GB, Steeves E. *Angiostrongylus vasorum* causing meningitis and detection of parasite larvae in the cerebrospinal fluid of a pug dog. *Journal of Small Animal Practice* 49:468-471, 2008.
38. Conboy GA. Canine angiostrongylosis: the French heartworm: an emerging threat in North America. *Veterinary Parasitology* 176:382-389, 2011.
39. Perry AW, Herting R, Kennedy MJ. Angiostrongylosis with disseminated larval infection associated with signs of ocular and nervous disease in an imported dog. *Canadian Veterinary Journal* 32:430-431, 1991.
40. Cury MC, Lima WS. Rupture of femoral artery in a dog infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Parasitology* 65:313-315, 1996.
41. Oliveira-Júnior SD, Barçante JMP, Barçante TA *et al.* Ectopic location of adult worms and first-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum* in an infected dog. *Veterinary Parasitology* 121:293-296, 2004.
42. Ferdushy T, Hasan MT. Survival of first stage larvae (L1) of *Angiostrongylus vasorum* under various conditions of temperature and humidity. *Parasitology Research* 107:1323-1327, 2010.
43. Colella V, Lia RP, Premont J *et al.* *Angiostrongylus vasorum* in the eye: new case reports and a review of the literature. *Parasites & Vectors* 9:161, 2016.
44. Colella V, Mutafchiev Y, Cavalera MA *et al.* Development of *Crenosoma vulpis* in the common garden snail *Cornu aspersum*: implications for epidemiological studies. *Parasites & Vectors* 9:208, 2016.
45. Schnyder M, Stebler K, Naucke TJ *et al.* Evaluation of a rapid device for serological in-clinic diagnosis of canine angiostrongylosis. *Parasites & Vectors* 7:72, 2014.
46. Siddiqui R, Khan NA. Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*. *Parasites & Vectors* 5:6, 2012.
47. Brofman PJ, Knostman KAB, DiBartola SP. Granulomatous amebic meningoencephalitis causing the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone in a dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17:230-234, 2003.
48. Hodge PJ, Kelers K, Gasser RB *et al.* Another case of canine amoebic meningoencephalitis—the challenges of reaching a rapid diagnosis. *Parasitology Research* 108:1069-1073, 2011.
49. Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 50:1-26, 2007.
50. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Balamuthia* amoebic encephalitis—California, 1999-2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 57:768-71, 2008.