

Infezioni enteriche protozoarie in gattini affetti da disturbi intestinali: indagine di prevalenza nella regione Umbria



I gatti di età inferiore ad 1 anno sono frequentemente affetti da enteriti di natura protozoaria. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di determinare la prevalenza di infezioni protozoarie nell'ambito di una popolazione di giovani gatti affetti da turbe intestinali e definire dei possibili patterns clinici di potenziale indirizzo diagnostico.

Lo studio ha coinvolto 92 gatti di età inferiore ai 12 mesi provenienti da gattili (n. 37) e da proprietari privati (n. 55), che mostravano segni di alterazione delle caratteristiche delle feci. Gli animali sono stati sottoposti a raccolta anamnestica e a esame clinico contestualmente al quale si è provveduto alla raccolta di campioni fecali da sottoporre ad esame di concentrazione per flottazione, ricerca copro-antigenica per *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. ed indagini biomolecolari per la rilevazione di DNA di *Tritrichomonas foetus*.

L'indagine ha evidenziato che il parassitismo protozoario è un evento frequentemente associato a disturbi enterici nei gatti al di sotto di 1 anno d'età, il 21,4% degli animali è risultato positivo infatti per almeno una specie protozoaria. *Giardia duodenalis* è risultato il parassita di più frequente riscontro (14,13%), seguito da *Cystoisospora* spp. (10,87%) e *T. foetus* (2,17%). L'età < 4 mesi e la provenienza da strutture collettive devono essere considerati dati anamnestici di importante indirizzo diagnostico sia per l'infezione da *G. duodenalis* sia per *Cystoisospora* spp., di contro, ad eccezione della presenza di steatorrea ed ematochezia, il quadro sintomatologico risulta di scarso ausilio. Considerazioni in merito all'infezione da *T. foetus* richiedono ulteriori conferme data l'esiguità delle positività riscontrate.

Azzurra Santoro*,¹
Med Vet

Giulia Morganti¹
Med Vet, PhD

Manuela Diaferia¹
Med Vet, PhD

Emanuela Olivieri¹
Med Vet

Mattia Ridolfi²
Med Vet

Fabrizia Veronesi¹
Med Vet, PhD

INTRODUZIONE

Le turbe del tratto enterico associate ad agenti infettivi di natura virale, batterica e protozoaria rappresentano un'evenienza di frequente riscontro in gatti al di sotto dell'anno di età.

Sono infatti numerosi i fattori in grado di favorire la diffusione/persistenza dei circuiti di trasmissione di tipo oro-fecale degli agenti di diarrea di

natura infettiva in questi soggetti; tra questi: l'immaturità del sistema immunitario, l'incompleto sviluppo di una flora microbiota intestinale, la provenienza da situazioni di sovraffollamento, promiscuità e condizioni igienico-sanitarie scadenti (es. colonie/rifugi/allevamenti), condizioni stressogene tra cui modificazioni di habitat e cambi alimentari^{1,2,3}.

¹ Dipartimento di Medicina Veterinaria, Sezione Parassitologia, Università degli Studi di Perugia

² Veterinario Libero Professionista della Provincia di Macerata

* Corresponding Author (azzurra.santoro@studenti.unipg.it)

Ricevuto: 28/07/2015 - Accettato: 07/06/2016

Tra i più comuni agenti protozoari all'origine di turbe intestinali del gatto giovane vanno menzionati *Giardia duodenalis*, *Tritrichomonas foetus*, *Cystoisospora* (sinonimo *Isospora*) spp. e *Cryptosporidium* spp. *Giardia duodenalis* (Sarcomastigophora, Diplomonadida) è un protozoo poliflagellato, parassita di uomo ed animali domestici e selvatici, che si localizza nel tratto prossimale dell'intestino tenue, dove aderisce alla sommità apicale degli enterociti, compromettendone la capacità assorbente⁴.

La trasmissione di *G. duodenalis* è assicurata dalla disseminazione fecale di forme cistiche infettanti in grado di sopravvivere per mesi in ambiente esterno. La prevalenza dell'infezione nell'ambito delle popolazioni feline è piuttosto variabile, con una morbilità massima nei soggetti al di sotto dell'anno di età⁵, mentre decorre perlopiù in forma asintomatica negli animali adulti^{6,7}. La sintomatologia, laddove presente, è caratterizzata dalla presenza di una diarrea mucosa con tendenza alla cronicizzazione, rari i segni clinici di ordine sistemico.

I gatti al di sotto dell'anno di età sono frequentemente colpiti da disturbi intestinali e tra le diverse cause sono compresi diversi agenti di natura protozoaria.

Tritrichomonas foetus (Sarcomastigophora, Trichomonadida) è un protozoo storicamente associato a turbe dell'apparato riproduttivo della specie bovina⁸ e solo in tempi più recenti annoverato tra gli agenti parassitari in grado di determinare turbe del grosso intestino del gatto domestico^{9,10}. Il ciclo del parassita non prevede la presenza di forme cistiche di resistenza come per *G. duodenalis*, tuttavia è stata ipotizzata l'esistenza di forme pseudocistiche in grado di giustificare l'elevata resistenza del parassita nell'ambiente esterno^{11,12}. La maggior parte dei soggetti infetti sviluppa una diarrea cronica o intermittente del grosso intestino che può persistere fino a 24 mesi¹³; una piccola quota di animali può comunque rimanere asintomatica ed al contempo escrettrice¹⁴. Un numero significativo di case reports segnala la presenza di *T. foetus* in co-infezione con altri protozoi enterici di più frequente riscontro tra cui *G. duodenalis*^{15,16,17}, nel corso della quale la sintomatologia sembrerebbe più severa¹⁸. *Cystoisospora felis* e *C. rivolta* (Apicomplexa, Eucoccidida) sono gli agenti protozoari responsabili della coccidiosi felina, patologia a distribuzione cosmopolita. L'infezione si realizza attraverso l'ingestione di oocisti sporulate presenti nell'ambiente ma anche

attraverso la predazione di piccoli ospiti paratenici¹⁹. I parassiti mostrano un tropismo elettivo per il tratto digiuno-ileale (occasionalmente ciecale nel caso di *C. felis*)^{20,21} e, attraverso i propri cicli di riproduzione asessuata (schizogonia), portano alla progressiva distruzione dell'epitelio intestinale. I segni clinici si osservano quasi esclusivamente nei gattini²⁰ nei quali si registrano anche i più elevati livelli di escrezione oocistica^{22,23} e sono caratterizzati da anoressia, vomito e diarrea talvolta sanguinolenta^{22,24}.

In seguito il gatto sviluppa un'immunità tale per cui le sporadiche infezioni nell'adulto decorrono in maniera lieve e/o inapparente.

Nell'ambito della molteplicità di specie che caratterizzano il genere *Cryptosporidium* (Apicomplexa, Eucoccidida) la specie *C. felis* viene considerata quella adattata al gatto, sebbene siano stati segnalati anche casi di infezioni sostenute da *C. parvum* e *C. muris*^{25,26,27}. Al pari di *Cystoisospora*, anche *Cryptosporidium* si trasmette per via oro-fecale attraverso la contaminazione di cibo, acqua ed ambiente ad opera delle oocisti, emesse già direttamente infettanti²⁸.

Pur essendo isolato di frequente^{23,29,30,31}, nella maggior parte dei gatti l'infezione da *Cryptosporidium* ha un decorso subclinico³² e forme clinicamente manifeste, caratterizzate da forte dolorabilità addominale e diarrea acquosa, si osservano quasi esclusivamente in associazione ad altri enteropatogeni di natura protozoaria, in particolar modo *G. duodenalis* e *T. foetus*^{27,33,34}, o in soggetti molto giovani debilitati e/o immunodepressi^{35,36,37}.

Con lo scopo di fornire un supporto ai medici veterinari nella pianificazione di strategie diagnostiche e di prevenzione riguardanti i disordini intestinali nei giovani gatti, è stata condotta una cross-sectional survey per stimare la prevalenza di agenti protozoari associati a sindromi enteriche.

MATERIALI E METODI

Popolazione campionaria

L'indagine è stata condotta nel periodo tra agosto 2014 e gennaio 2015 ed ha coinvolto 92 gatti di età inferiore ad 1 anno, suddivisi in tre fasce di età: <4 mesi (n. 34), 5-8 mesi (n. 40), 9-12 mesi (n. 18). Gli animali sono stati selezionati nell'ambito di gattili (n. 37) ed Ambulatori Veterinari della Provincia di Perugia (n. 55). I due criteri per l'arruolamento degli animali nello studio sono stati rispettivamente: i) presenza di alterazioni delle caratteristiche fisiche delle feci compatibili con un faecal score compreso tra 4 e 7, facendo riferimento al



Figura 1 - Fecal Scoring System Nestlé Purina utilizzato per la valutazione dello score fecale.

Fecal Scoring System suggerito dalla Purina (Figura 1); ii) assenza di trattamenti antiprotozoari nelle due settimane precedenti il campionamento. Per ciascun soggetto è stata condotta una visita clinica contestualmente alla quale è stata compilata una scheda segnaletico-anamnestica. Nella medesima scheda sono stati riportati i segni emersi dall'esame obiettivo generale (EOG) e da quello particolare dell'apparato gastro-intestinale (EOP-GI), con relativo scoring fecale compreso tra 4 e 7 (Fecal Scoring System Nestlé, Purina).

Campioni individuali di feci sono stati raccolti da ciascun animale, posti in contenitori a temperatura di refrigerazione (+4°C) e prontamente trasportati in laboratorio per lo svolgimento degli esami specifici per la ricerca rispettivamente di *G. duodenalis*, *T. foetus*, *Cystoisospora* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Esami di laboratorio

A partire da ciascun campione di feci è stata prelevata una piccola aliquota da destinare all'allesti-

mento di strisci fecali da sottoporre a colorazione differenziale rapida (Diff-Quick, Medion Diagnostics, Düringen, Switzerland) per la ricerca di forme trofozoitiche di *G. duodenalis* e *T. foetus*.

I campioni fecali sono stati successivamente omogeneizzati, filtrati e sottoposti a centrifugazione. Il sedimento ottenuto è stato destinato, rispettiva-

Una popolazione di gatti di età < 12 mesi è stata sottoposta a valutazione clinica contestualmente alla raccolta di feci per la ricerca di *G. duodenalis*, *T. foetus*, *Cystoisospora* spp. e *Cryptosporidium* spp.

mente, all'esame di arricchimento per flottazione, alla ricerca copro-antigenica ed all'estrazione di DNA genomico da sottoporre a PCR per la ricerca di *T. foetus*.

L'esame di concentrazione per flottazione è stato eseguito utilizzando una soluzione flottante a base di solfato di zinco al 33% ($ZnSO_4$ 33%, p.s.=1200)³⁸ per la ricerca di cisti/oocisti di *G. duodenalis*, *Cystoisospora* spp. e *Cryptosporidium* spp.

La ricerca copro-antigenica di *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. è stata condotta avvalendosi di un kit commerciale in Immunofluorescenza Diretta (Merifluor Cripto-Giardia, Meridian® Bioscience, Cincinnati OH, USA), in accordo con le istruzioni fornite dalla casa produttrice.

L'estrazione di DNA genomico è stata ottenuta a partire da 200 µl del sedimento fecale mantenuto a -18°C dopo scongelamento e risospensione. Per l'estrazione è stato utilizzato il kit QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen®, Valencia, CA), seguendo il protocollo descritto da Gookin e collaboratori³⁹ con le relative modifiche rispetto alle indicazioni della casa produttrice del kit. Le modifiche comprendevano un'incubazione con proteinasi K per 1 ora a 56° C, due lavaggi con buffer AW1 ed una centrifugazione aggiuntiva dopo il lavaggio finale. La concentrazione ed il grado di purezza del DNA estratto sono stati valutati mediante analisi spettrofotometrica (Biophotometer, Eppendorf AG®, Hamburg, Germany).

I prodotti di estrazione sono stati sottoposti a PCR secondo il protocollo descritto da Gookin e collaboratori⁶, modificato. Le modifiche apportate prevedevano l'utilizzo di una sola coppia di primers, TFITS-F (5'-CTGCCGTTGGATCAGTTTCG-3') e TFITS-R (5'-GCAATGTGCATTCAAA-

Aliquote da 20 µl dei prodotti di amplificazione sono state caricate su gel di agarosio all'1,2% (Agarose E, CONDA S.A., Madrid, Spain) contenente 5 µl di SafeView (SafeView™ Nucleic Acid Stains, ABM inc, Canadian) e analizzate mediante corsa in camera elettroforetica usando il tampone di caricamento TBE 5X (0,089M Tris base, 0,089M acido borico (pH 8,3), 2mM Na₂EDTA, CONDA, S.A., Madrid, Spain) ed applicando un voltaggio di 120 V per circa 45'.

Gli amplificati sono stati visualizzati al transilluminatore ed il peso molecolare del frammento amplificato è stato stimato per confronto con il ladder 100 bp (100 bp DNA Ladder, Microtech, Napoli, Italia) ed il controllo positivo. Inoltre, per confermare l'identità degli amplificati ottenuti, i prodotti di PCR sono stati sequenziati mediante sequenziatore capillare ABI 3730XL 96 presso la BMR Genomics di Padova (<http://www.bmr-genomics.it/>); le sequenze ottenute sono state confrontate con le sequenze di *T. foetus* depositate in GenBank tramite analisi BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)⁴⁰.

Elaborazione dati

A partire dalle positività riscontrate sono state calcolate le prevalenze di ciascun agente protozooario riscontrato ed i relativi tassi di co-infezione. La prevalenza è stata definita come il rapporto tra il numero di gatti positivi ai singoli agenti protozoari sul totale dei soggetti analizzati con i relativi limiti fiduciali al 95% (IC), utilizzando il foglio di calcolo Episheet accessibile sul sito: <http://krothman.host.byet2.com/episheet.xls>.

È stata eseguita una analisi descrittiva della distribuzione delle positività rispetto all'età e provenienza degli animali.

RISULTATI

Gli indici di prevalenza riscontrati per ciascun patogeno di interesse sono riportati in Tabella 1, così come quelli relativi alle infestazioni di natura elmintica riscontrate nel corso delle indagini copromicroscopiche. Dei 92 campioni fecali analizzati il 21,74% (n. 20/92) è risultato positivo ad almeno un'infezione protozoaria, con *G. duodenalis* quale agente di più frequente riscontro (n. 13/92, 14,13%). Infezioni da *Cystoisospora* spp. e *T. foetus* sono state osservate rispettivamente in n. 10 (10,87%) ed in n. 2 (2,17%) soggetti. Cinque animali presentavano infezioni miste (5,43%, IC 95% 0,8-10,07), di queste 2 soggetti (2,17%) mostravano una co-infezione con *G. duodenalis* e *T. foetus* mentre 3 (3,26%) risultavano positivi al contempo

I campioni sono stati testati per la ricerca di DNA di *T. foetus* attraverso un protocollo di PCR.

GATCG-3'), che amplificano un frammento di 208 bp compreso tra la regione ITS1 ed il gene 5.8S dell'rRNA di *T. foetus* e l'utilizzo di una temperatura di annealing di 54° C. Tutte le reazioni di PCR sono state ottenute su un volume finale di 50 µl contenente appropriate quantità di DNA genomico (minimo 50 ng) ed una miscela di reazione costituita da 25 µl di NZYTaq 2x Green Master Mix (Nzytech®, Lisboa, Portugal), 2 µl di ciascun primer (10 µM) ed H₂O distillata sterile. La sequenza target è stata amplificata attraverso il seguente protocollo termico: fase iniziale di denaturazione a 95° C per 5', seguita da 50 cicli di amplificazione a 95° C per 30" (denaturazione), 54° C per 30" (annealing), 72° C per 30" (estensione) ed una fase finale di estensione a 72° C per 5'. Per verificare la correttezza del procedimento è stato utilizzato un controllo positivo rappresentato dal DNA proveniente da trofozoiti di *T. foetus* isolati da feci di gatto presso il Laboratorio di Parassitologia e Malattie Parassitarie del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università degli Studi di Messina.

per *G. duodenalis* e *Cystoisospora* spp. Totale negatività è stata riscontrata per *Cryptosporidium* spp.

La distribuzione delle positività rispetto alla fascia d'età e provenienza degli animali è riportata in Tabella 2. Nell'ambito degli animali provenienti da gattile, la prevalenza complessiva delle infezioni protozoarie è risultata pari al 29,73%, contro una percentuale di positività riscontrata tra gli animali padronali del 16,36%. *Cystoisospora* spp. è risultato il parassita di più frequente riscontro in gatti provenienti dalle realtà collettive (18,9%), mentre tra i soggetti di proprietà massima positività è stata osservata per *G. duodenalis* (14,54%). *Trichostrongylus axei* è stato osservato unicamente in animali padronali, di razza Maine Coon, acquistati in allevamenti del Nord Italia. Il tasso di prevalenza complessiva per infezioni protozoarie così come le percentuali di positività relative alle infezioni da *G. duodenalis* e *Cystoisospora* spp. sono risultate massime nei soggetti con età <4 mesi e progressivamente decrescenti nelle due fasce successive (Tabella 2). *Trichostrongylus axei* è stato osservato unicamente in soggetti di età compresa tra 5 e 8 mesi.

Nella Tabella 3 sono riportate le distribuzioni dei principali segni clinici delle alterazioni delle caratteristiche fisiche delle feci, riscontrate in corso di infezioni protozoarie di interesse. Sintomi di ordine generale, variamente associati tra loro, sono stati osservati in 9 dei soggetti affetti da giardiasi; il sintomo di più frequente riscontro è stato un dimagrimento da moderato a marcato, presente in

I risultati mostrano una discreta prevalenza di infezioni protozoarie nell'ambito delle quali *G. duodenalis* è il parassita di più frequente riscontro, seguito da *Cystoisospora* spp. e *T. foetus*.

7 soggetti (53,84%); 2 animali (15,38%) presentavano disidratazione e modica depressione del sensorio. Sintomi riferibili ad alterazioni dell'apparato digerente erano osservati in 10 soggetti, tra questi il segno di più frequente riscontro risultava la distensione delle anse intestinali, presente in 6 animali (46,15%) in associazione o meno a fenomeni di flatulenza, osservati in 5 soggetti (38,46%).

Tabella 1 - Indici di prevalenza relativi a ciascun patogeno di interesse e tassi di co-infezione

	N° positivi/totale %	(I.C.95%)
Infezioni protozoarie totali	20/92	21,74% (13,73%-30,17%)
<i>Giardia duodenalis</i>	13/92	14,13% (7,01%-21,25%)
<i>Trichostrongylus axei</i>	2/92	2,17% (0,19%-4,15%)
<i>Cystoisospora</i> spp.	10/92	10,87% (4,5%-17,22%)
<i>Cryptosporidium</i> spp.	0/92	0% (0%)
Infezioni elmintiche totali		
<i>Toxocara cati</i>	12/92	13,04% (6,16%-19,93%)
<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>	8/92	8,69% (2,94%-14,45%)

Tabella 2 - Distribuzione delle positività rispetto ad età e provenienza

	Età			Provenienza	
	< 4 mesi (n. 34)	5-8 mesi (n. 40)	9-12 mesi (n. 18)	Gattile (n. 37)	Padronali (n. 55)
Infezioni protozoarie complessive nella popolazione campionaria	12 (35,29%)	6 (15%)	2 (11,11%)	11 (29,73%)	9 (16,36%)
<i>Giardia duodenalis</i>	8 (23,52%)	4 (10%)	1 (5,55%)	5 (13,51%)	8 (14,54%)
<i>Trichostrongylus axei</i>	—	2 (5%)	—	—	2 (3,63%)
<i>Cystoisospora</i> spp.	6 (17,64%)	3 (7,5%)	1 (5,55%)	7 (18,9%)	3 (5,45%)
<i>T. foetus</i> + <i>G. duodenalis</i>	—	2 (5%)	—	—	2 (3,63%)
<i>G. duodenalis</i> + <i>Cystoisospora</i> spp.	2 (5,88%)	1 (2,5%)	—	1 (2,7%)	2 (3,63%)

Tabella 3 - Distribuzione della popolazione campionaria e delle singole infezioni rispetto ai segni clinici ed allo scoring fecale

Sintomi nell'ambito della popolazione campionaria (n. 92)	<i>Giardia duodenalis</i> (n. 13)	<i>Cystoisospora</i> spp. (n. 10)	<i>Tritrichomonas foetus</i> (n. 2)
Ipertermia	—	1 (10%)	—
Depressione del sensorio	2 (15,38%)	2 (20%)	—
Disidratazione	2 (15,38%)	—	—
Dimagrimento	7 (53,84%)	1 (10%)	1 (50%)
Alterazioni posturali	—	—	—
Anoressia	—	2 (20%)	—
Polifagia	—	—	—
Tenesmo	—	—	—
Vomito	1 (7,6%)	1 (10%)	—
Dolorabilità addominale	—	8 (80%)	1 (50%)
Anse intestinali dilatate	6 (46,15%)	6 (60%)	2 (100%)
Alitosi	—	—	—
Flatulenza	5 (38,46%)	—	—
Imbrattamento perianale	—	2 (20%)	—
Irritazione perianale	2 (15,38%)	—	2 (100%)
Caratteristiche delle feci			
F.S. 4**	2 (15,38%)	1 (10%)	—
F.S. 5***	2 (15,38%)	2 (20%)	—
F.S. 6****	5 (38,46%)	3 (30%)	2 (100%)
F.S. 7*****	4 (30,76%)	4 (40%)	—
Muco	11 (84,61%)	2 (20%)	2 (100%)
Steatorrea	10 (76,92%)	—	—
Ematochezia	—	7 (70%)	—
Melena	—	—	—
* FS: Faecal score ** 4: molto molli, con una forma cilindrica ancora distinta e sfaldabili al tatto. *** 5: molto molli, formate irregolarmente. Rilasciano residui. Si sfaldano al tatto. **** 6: non conformate. ***** 7: acquose.			

Per quanto riguarda i gatti affetti da coccidiosi, 3 soggetti mostravano sintomi di ordine generale tra cui anoressia, depressione del sensorio, ipertermia; il dimagrimento era osservato in un solo animale; di contro tutti gli animali mostravano sintomi di alterazione dell'apparato digerente, quali dolorabilità addominale e dilatazione delle anse intestinali rilevate alla palpazione (evidente rispettivamente in 8 (80%) ed in 6 (60%) soggetti).

Lo scoring fecale sia degli animali positivi a *G. duodenalis* che di quelli positivi a *Cystoisospora* spp. è risultato compreso tra 6 e 7 nel 70% dei casi, frequentissimo inoltre il riscontro di muco e steatorrea in corso di giardiasi, mentre nelle infezioni da coccidi prevaleva la presenza di ematochezia.

L'unica alterazione evidente all'EKG in corso di tritrichomoniasi è risultato uno stato di dimagrimento evidente in 1 dei 2 soggetti infetti, mentre era presente in entrambi gli animali sia una dilatazione delle anse intestinali che una forte proctite. In questo caso lo scoring fecale è risultato pari a 6 e costante è stato il riscontro di muco.

DISCUSSIONE

Il presente studio ha indagato animali appartenenti ad una fascia di età (<12 mesi) tradizionalmente ritenuta ad alta suscettibilità per infezioni enteriche di natura protozoaria ed affetti da turbe dell'apparato digerente. Il dato di prevalenza ottenuto (21,74%) risulta simile a quello riportato in lavori

Il tasso di prevalenza assoluto (21,74%) di infezioni protozoarie risulta inferiore alle attese.

pregressi^{7,8} condotti in popolazioni random di gatti di età variabile e selezionati indipendentemente dalla presenza/assenza di sintomatologia. La prevalenza delle infezioni di natura protozoaria da noi riscontrata risulta pertanto al di sotto delle attese. La presenza di forme sub-cliniche, comunemente osservate in soggetti adulti, potrebbe giustificare il riscontro di tassi di positività molto simili, a dispetto di popolazioni campionarie estremamente differenti da quelle oggetto di studio.

Dal confronto tra *status* parassitario e dati segnalico-anamnestici raccolti, si evidenzia come i più elevati tassi di positività per le affezioni protozoarie si riscontrino in soggetti affetti da disturbi enterici nei primi mesi d'età (classe < 4 mesi), provenienti da contesti di collettività quali gattili. Questi dati confermano quanto osservato in lavori pregressi^{41,42,43,44} e sottolineano l'importanza che realtà sovraffollate e/o comunitarie hanno nel favorire la diffusione ed il perpetuarsi dei circuiti di trasmissione di tali patogeni, nonché l'esacerbazione dei sintomi clinici.

La percentuale di positività per *G. duodenalis* è risultata pari al 14,13%, in linea con il range di prevalenza riportato nelle indagini condotte sia in ambito europeo (4,4%-37%)⁴⁵, che extra-europeo (2,4%-80%)⁴⁶.

Per quanto concerne la situazione nazionale, ad eccezione dello studio condotto da Papini e collaboratori⁴⁷ che, avvalendosi di una ricerca copro-antigenica in ELISA, riporta una prevalenza del 15,8%, i più recenti lavori registrano tassi di positività più ridotti indipendentemente dall'approccio diagnostico utilizzato (ricerca copro-antigenica, test biomolecolari)^{15,48,49,50} e compresi tra 1,3% e 7,5%. Tali differenze possono ricondursi al tipo di popolazione campionata ed alle tecniche diagnostiche utilizzate. L'infezione da *G. duodenalis* è stata osservata con frequenza pressoché sovrapponibile nei gatti padronali ed in quelli provenienti da gattili, in controtendenza con i dati riferiti alle infezioni protozoarie nel loro complesso. Data la natura opportunistica di *Giardia*, è possibile ipotizzare che fattori stressogeni quali cambi di habitat associati all'introduzione in contesti familiari, unitamente alle modificazioni di alimentazione ad essi connessi, possano aver determinato una esacerbazione di sintomi in giovani soggetti asintomatici, molti dei quali, seppure di proprietà, provenivano da realtà comunitarie.

Cystoisospora spp. è stata riscontrata in 10 gatti su 92 (10,87%). Il dato di prevalenza ottenuto è elevato se confrontato con quelli riportati in recenti studi nazionali^{48,49} ed internazionali^{51,52,53} ed anche in questo caso imputabile alla natura della popolazione campionaria. Gli indici di positività maggiore sono stati osservati in gatti provenienti da gattili rispetto ai padronali in accordo con quanto riportato da altri autori^{42,43,54,55,56}. Il tasso di prevalenza riscontrato per *T. foetus* è risultato pari al 2,17%, il che lascerebbe supporre un ruolo scarsamente significativo del parassita nella partecipazione a sindromi enteriche del gatto giovane.

L'approccio diagnostico utilizzato per l'indagine ha per certo consentito di svelare con la massima accuratezza lo stato di infezione, non contribuendo alla sua sottostima; il protocollo di PCR con il quale sono stati testati i campioni risulta infatti il test dotato di maggiore sensibilità e specificità se rapportato sia al tradizionale esame per striscio fecale che a quello culturale^{39,58,60}.

Il dato di prevalenza riscontrato risulta in linea con quello ottenuto in ambito nazionale da Mancianti e collaboratori (2%)¹⁵, campionando random una popolazione di animali asintomatici, mentre è in disaccordo con gli indici di prevalenza nettamente più

I dati di prevalenza riferiti ai singoli agenti eziologici si allineano a quelli di lavori presenti in letteratura. Età e provenienza degli animali costituiscono dati segnalico-anamnestici di importante indirizzo diagnostico.

elevati riportati sia da Holliday e collaboratori⁵⁷ che da numerosi altri autori a livello europeo ed extra-europeo^{16,18,58,59,60}. Tale discordanza può essere imputabile alla tipologia di campionamento condotto, che nel nostro caso ha coinvolto prevalentemente animali meticcii anziché razze pure, nell'ambito delle quali il parassita sembrerebbe avere maggior tendenza a concentrarsi^{18,58,59,61}. La tendenza del parassita ad infettare soggetti di razza pura risulterebbe peraltro confermata anche dai nostri risultati, dal momento che entrambi i soggetti risultati positivi per *T. foetus* erano gatti di razza Maine Coon acquistati presso allevamenti del Nord Italia, la cui sintomatologia enterica era insorta a distanza di poche settimane dall'introduzione nell'ambiente casalingo. I sintomi clinici osservati nell'ambito delle singole infezioni sono risultati scarsamente specifici e spesso sovrapponibili, quindi di scarso ausilio diagnostico se escludiamo la presenza di ematochezia associata a *Cystoisospora* spp. e la presenza di muco e steatorrea in corso di giardiasi. Inoltre nel caso di *T.*

I protozoi intestinali del gatto devono essere inclusi nelle diagnosi differenziali in caso di disturbi intestinali e ricercati con tecniche diagnostiche specifiche.

foetus i segni osservati sono di difficile associazione allo specifico agente causale, dato che per entrambi i gatti era presente co-infezione con *G. duodenalis*. In conclusione, la presente indagine conferma come il parassitismo protozoario rappresenti un evento frequentemente associato a disturbi enterici

nei gatti al di sotto di un anno di età. È necessario pertanto che il veterinario libero professionista: i) conduca un'attenta raccolta anamnestico-ambientale, che spesso risulta di maggiore indirizzo diagnostico rispetto ai riscontri clinici; ii) esegua esami specifici per rilevare e discriminare tra i differenti patogeni implicati, anche in funzione dei diversi protocolli terapeutici ai quali rispondono; iii) imposti un corretto algoritmo diagnostico basato su metodiche che esulano talvolta da quelle routinarie eseguibili in sede ambulatoriale (es. ricerca coproantigenica, PCR), senza le quali non è possibile ottenere una diagnosi di certezza.

PUNTI CHIAVE

- Il gatto domestico può ospitare diverse specie di protozoi responsabili di turbe intestinali che, nella maggioranza dei casi, si rendono clinicamente manifeste nei soggetti più giovani.
- Nel presente studio sono stati indagati i livelli di prevalenza delle infezioni protozoarie in una popolazione di giovani gatti (< 1 anno), provenienti dalla regione Umbria, affetti da turbe intestinali.
- Il livello di prevalenza di infezioni protozoarie complessivamente riscontrato è risultato pari al 21,74%, con indici più elevati nelle classi di età più giovane (< 4 mesi) e negli animali provenienti dai gattili.
- Il protozoo di più frequente riscontro è risultato *G. duodenalis* (14,13%), seguito da *Cystoisospora* spp. (10,87%) e da *T. foetus* (2,17%).
- La prevalenza di *T. foetus* risulta esigua se confrontata a quella degli altri agenti protozoari, ciononostante, dall'anamnesi risultano confermate alcune tendenze già riportate in letteratura: età, razza e provenienza allevatoriale.
- I protozoi enterici dovrebbero essere inclusi nelle diagnosi differenziali di disturbi intestinali nel giovane gatto e ricercati attraverso l'ausilio di metodiche specifiche.

Enteric protozoan infections in kittens affected by intestinal disorders: a cross sectional survey in Umbria region

Intestinal disorders are a quite frequent occurrence in domestic cats younger than 1 year. Aim of the present study was to conduct a cross-sectional survey on the prevalence of enteric protozoan infections among a population of cats clinically affected by intestinal disorders and to give a description of the likely clinical patterns.

*The study involved 92 kittens, less than 12 months old, belonged to shelters (n. 37) and private households (n. 55) and showing modifications of stool's macroscopic characteristics. Each animal was subjected to clinical examination and data collection. Individual faecal samples were taken during visits. Each sample was examined by means of a flotation-centrifugation technique, processed for copro-antigenic search of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. and tested for the detection of *Tritrichomonas foetus* by molecular tools. The results of the present survey showed that enteric protozoan parasitism is a condition frequently associated to intestinal disorders in cats younger than 1 year. Overall 21.74% of the animals tested positive for at least one protozoan species. In the infected animals the following parasites have been identified: *G. duodenalis* (14.13%), *Cystoisospora* spp. (10.87%) and *T. foetus* (2.17%). Having an age less than 4 months and living in shelters were found prognostic for protozoan infections. Otherwise, clinical signs were not indicative with the exception of haematochezia and steatorrhea for, respectively, *Cystoisospora* spp. and *G. duodenalis* infections. Given the scant recovery of *T. foetus* infections, further studies are needed to confirm any consideration.*

BIBLIOGRAFIA

1. Lappin R Enteric protozoal diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 35:81-88, 2005.
2. Elsasser TH, Klasing KC, Filipov N The metabolic consequences of stress: targets for stress and priorities of nutrient use. In Moberg GP and Mench JA The biology of animal stress, Cabi Publishing, 2000, pp. 77-78.
3. Dubey JP Intestinal protozoa infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 23:37-55, 1993.
4. House SA, Richter DJ, Pham JK *et al.* Giardia flagellar motility is not directly required to maintain attachment to surfaces. *PLoS Pathogens: A Peer-Reviewed Open-Access Journal* doi: 10.1371/journal.ppat.1002167, 2011.
5. Gruffydd-Jones T, Addie D, Belàk S *et al.* Giardiasis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 15:650-652, 2013.
6. Sotiriadou I, Pantchev N, Gassmann D *et al.* Molecular identification of *Giardia* and *Cryptosporidium* from dogs and cats. *Parasite* 20:8, 2013.
7. Tysnes KR, Luyckx K., Cantas L *et al.* Treatment of feline giardiasis during an outbreak of diarrhoea in a cattery: potential effects on faecal *Escherichia coli* resistance patterns. *Journal of Feline Medicine and Surgery* pii: 1098612X15588798, 2015.
8. Michi AN, Favetto PH, Kastelic J *et al.* A review of sexually transmitted bovine trichomoniasis and campylobacteriosis affecting cattle reproductive health. *Theriogenology* 85: 781-791, 2016.
9. Gookin JL, Breitschwerdt EB, Levy MG *et al.* Diarrhoea associated with trichomonosis in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 215: 1450-1454, 1999.
10. Levy MG, Gookin JL, Poore M, Birkenheuer AJ *et al.* *Tritrichomonas foetus* and not *Pentatrichomonas hominis* is the etiologic agent of feline trichomonal diarrhea. *Journal of Parasitology* 89: 99-104, 2003.
11. Mariante RM, Lopes LC, Benchimol M *et al.* *Tritrichomonas foetus* pseudocysts adhere to vaginal epithelial cells in a contact-dependent manner. *Parasitology Research* 92: 303-312, 2004.
12. Pereira-Neves A, Benchimol M *Tritrichomonas foetus*: budding from multinucleated pseudocysts. *Protist* 160: 536-551, 2009.
13. Foster DM, Gookin JL, Poore MF *et al.* Outcome of cats with diarrhoea and *Tritrichomonas foetus* infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225: 888-892, 2004.
14. Yao C, Köster LS *Tritrichomonas foetus* infection, a cause of chronic diarrhea in the domestic cat. *Veterinary Research* 46:35, 2015.
15. Mancianti F, Nardoni S, Mugnaini L *et al.* A retrospective molecular study of select intestinal protozoa in healthy pet cats from Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 17:163-167, 2015.
16. Kingsbury DD, Marks SL, Cave NJ *et al.* Identification of *Tritrichomonas foetus* and *Giardia* spp. infections in pedigree show cats in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 58: 6-10, 2010.
17. Bissett SA, Gowan, R, O'Brien C *et al.* Feline diarrhoea associated with *Tritrichomonas* cf. *foetus* and *Giardia* co-infection in an Australian cattery. *Australian Veterinary Journal* 86: 440-443, 2008.
18. Kuehner KA, Marks SL, Kass PH *et al.* *Tritrichomonas foetus* infection in purebred cats in Germany: prevalence of clinical signs and the role of co-infection with the other parasites. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 13:251-258, 2011.
19. Lindsay DS, Dubey JP, Blagburn BL. Biology of *Isoospora* species from humans, non human primates and domestic animals. *Clinical Microbiology Reviews* 10:19-34, 1997.
20. Petry G, Kruedewagen E, Kampkoetter A *et al.* Efficacy of emodepside/toltrazuril suspension (Procox® oral suspension for dogs) against mixed experimental *Isoospora felis*/*Isoospora rivolta* infection in cats. *Parasitology Research* 1:529-536, 2011.
21. Shah HL, The life cycle of *Isoospora felis* Wenyon, 1923, a coccidium of the cat. *Journal of Protozoology* 18:3-17, 1971.
22. Lappin MR, Update on the diagnosis and management of *Isoospora* spp infections in dogs and cats. *Topics in Companion Animal Medicine* 25:133-135, 2010.
23. Lopez J, Abarkka K, Paredes P *et al.* Intestinal parasites in dogs and cats with gastrointestinal symptoms in Santiago, Chile. *Revista Medica de Chile* 134:193-200, 2006.
24. Tzannes S, Batchelor DJ, Graham PA *et al.* Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Isoospora* species infections in pet cats with clinical signs of gastrointestinal disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 10:1-8, 2008.
25. Scorza V, Willmott A, Gunn-Moore D *et al.* *Cryptosporidium felis* in faeces from cats in the UK. *Veterinary Record* 174:609, 2014.
26. Santin M, Trout JM, Vecino JA *et al.* *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bienersi* in cats from Bogota (Colombia) and genotyping of isolates. *Veterinary Parasitology* 141:334-9, 2006.
27. Scorza V, Tangtrogsup S, Update on the diagnosis and management of *Cryptosporidium* spp infections in dogs and cats. *Topics in Companion Animal Medicine* 25:163-9, 2010.
28. Kramer I, Mancianti F, Otranto D Parassiti del cane e del gatto. In: Taylor MA, Coop RL, Wall RL *Parassitologia e malattie parassitarie degli animali*. EMSI Editore, pp.392-3, 2010.
29. Sabshin SJ, Levy JK, Tupler T *et al.* Enteropathogens identified in cats entering a Florida animal shelter with normal feces or diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 241:331-337, 2012.
30. Fitzgerald L, Bennett M, Ng J *et al.* Morphological and molecular characterisation of a mixed *Cryptosporidium muris*/*Cryptosporidium felis* infection in a cat. *Veterinary Parasitology* 175:160-164, 2011.
31. Palmer CS, Traub RJ, Robertson ID *et al.* Determining the zoonotic significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Australian dogs and cats. *Veterinary Parasitology* 154:142-147, 2008.
32. Scorza AV, Lappin MR An update on three important protozoan parasitic infections in cats: cryptosporidiosis, giardiasis, and tritrichomoniasis. Available at: <http://veterinarymedicine.dvm360.com/update-three-important-protozoan-parasitic-infections-cats-cryptosporidiosis-giardiasis-and-tritrich>. Accesso al sito 30 Maggio 2015.
33. Paris JK, Wills S, Balzer HJ *et al.* Enteropathogen co-infection in UK cats with diarrhoea. *BMC Veterinary Research* 10:13, 2014.
34. Keith CL, Radecki SV, Lappin MR Evaluation of fenbendazole for treatment of *Giardia* infection in cats concurrently infected with *Cryptosporidium parvum* *American Journal of Veterinary Research* 64:1027-9, 2003.
35. Monticello TM, Levy MG, Bunch SE *et al.* Cryptosporidiosis in a feline leukemia virus-positive cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 191:705-706, 1987.
36. de Oliveira Lemos F, Almosny NP, Soares AM *et al.* *Cryptosporidium* species screening using Kinyoun technique in domestic cats with diarrhoea. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 14:113-117, 2012.
37. Bowman DD *Giardia* and *Cryptosporidium*: two conundrums. Available at: <http://www.mdvma.org/notes/fall2011/bowman6.pdf>. Accesso al sito 25 maggio 2015.
38. Dryden MW, Payne PA, Ridley R *et al.* Comparison of Common Fecal Flotation Techniques for the Recovery of Parasite Eggs and Oocysts. *Veterinary Therapeutics* 6,1 2005
39. Gookin JL, Birkenheuer AJ, Breitschwerdt EB *et al.* Single-tube nested PCR for detection of *Tritrichomonas foetus* in feline feces. *Journal of Clinical Microbiology* 40:4126-4130, 2002.
40. Altschul SF, Gish W, Miller W *et al.* Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403-410, 1990.
41. ESCCAP (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites) Control of intestinal protozoa in dogs and cats. ESCCAP Guideline 06 First Edition 2011. 3-4.
42. Gates MC, Nolan TJ Endoparasites prevalence and recurrence across different age groups of dogs and cats. *Veterinary Parasitology* 166:153-158, 2009.
43. Barutzki D, Schaper R Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitology Research* 109:45-60, 2011.
44. Barutzki D, Schaper R Age-dependant prevalence of endoparasites in young dogs and cats up to one year of age. *Parasitology Research* 112:119-131, 2013.
45. Paoletti B, Otranto D, Weigl S *et al.* Prevalence and genetic characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* in cats. *Research in Veterinary Science* 91:397-399, 2011.
46. McGlade TR, Robertson ID, Elliot AD *et al.* High prevalence of *Giardia* detected in cats by PCR. *Veterinary Parasitology* 110:197-205, 2003.
47. Papini R, Giuliani G, Gorini G *et al.* Survey of feline giardiasis by ELISA test in Italy. *Veterinary Research Communications* 31:297-303, 2007.
48. Riggio F, Mannella R, Ariti G *et al.* Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from Central Italy. *Veterinary Parasitology* 193:78-84, 2013.
49. Spada E, Proverbio D, Della Pepa A *et al.* Prevalence of faecal-borne parasites in colony stray cats in Northern Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 15:672-677, 2013.

50. Bianciardi P, Papini R, Giuliani G *et al.* Prevalence of *Giardia* anitgen in stool samples from dogs and cats. *Revue de Médecine Vétérinaire* 155:417-421, 2004.
51. Capàri B, Hamel D, Wisser M *et al.* Parasitic infections of domestic cats, *Felis catus*, in western Hungary. *Veterinary Parasitology* 192:33-42, 2013.
52. Nichol S, Ball SJ, Snow KR Prevalence of intestinal parasites in domestic cats from London area. *Veterinary Record* 109:252-253, 1981.
53. Michalczyk M, Sokół R The incidence of internal parasites in dogs and cats as dependent on the level of awareness among owners. *Wiadomości Parazytologiczne* 54: 245-247, 2008.
54. Borji H, Razmi G, Ahmadi A *et al.* A survey on endoparasites and ectoparasites of stray cats from Mashhad (Iran) and association with risk factors. *Journal of Parasitic Diseases* 35:202-206, 2011.
55. Becker AC, Rohen M, Epe C *et al.* Prevalence of endoparasites in stray and forested dogs and cats in northern Germany. *Parasitology Research* 111:849-857, 2012.
56. Khademvatan S, Abdizadeh R, Rahim F *et al.* Stray cats gastrointestinal parasites and its association with public health in Ahvaz city, south western of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 7:11079, 2014.
57. Holliday M, Deni D, Gunn-Moore DA *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in a rescue colony in Italy. *Journal of Feline Medicine & Surgery* 11:131-134, 2009.
58. Gookin JL, Stebbins ME, Hunt E *et al.* Prevalence of and risks factors for feline *Tritrichomonas foetus* and *Giardia* infection. *Journal of Clinical Microbiology* 42:2707-2710, 2004.
59. Burgener I, Frey C, Kook P *et al.* *Tritrichomonas fetus*: a new intestinal parasite in Swiss cats. *Schweizer Archive für Tierheilkunde* 151:383-389, 2009.
60. Tysnes K, Gjerde B, Nødtvedt A *et al.* A cross-sectional study of *Tritrichomonas foetus* infection among healthy cats at shows in Norway. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53:39, 2011.
61. Bell ET, Gowan RA, Lingard AE *et al.* Naturally occurring *Tritrichomonas foetus* infections in Australian cats: 38 cases. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 12:889-898, 2010.



CASA EDITRICE E SOCIETÀ DI DISTRIBUZIONE

Editoria Scientifica



ROSSI

MEDTUTOR VETERINARIA: Ecografia. Tecnica, interpretazione, quadri clinici [DVD-ROM]

1^a ed., UTET Scienze Mediche - Edra, Settembre 2016

Codice Articolo: DIAIM111 ISBN: 9788898595129

Euro 199,00



TAYLOR

Small animal clinical techniques

2^a ed., 288 pagg., 110 ill., Elsevier, Settembre 2016

Codice Articolo: MEDIN208 ISBN: 9780323312165

Listino euro 57,99

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 49,00



MATTOON-NYLAND

Trattato di ecografia del cane e del gatto

3^a ed., 686 pagg., 1800 ill., Edra - EV, Maggio 2016

Codice Articolo: DIAIM110 ISBN: 9788821440588

Listino euro 119,00

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 101,00



RASKIN - MEYER

Citologia diagnostica del cane e del gatto

3^a ed. it a cura di W. Bertazzolo e C. Masserdotti, 544 pagg., 1200 ill., EDRA - Edizioni Veterinarie, Agosto 2016

Codice Articolo: CITO25 ISBN: 9788821441356

Listino euro 109,00

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 93,00

Per ordinare: www.evsnl.it/distribuzione - Fax: 0372-457091 - E-mail: editoria@evsnl.it