

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Facoltà di Medicina Veterinaria

Corso di Laurea in Medicina Veterinaria

Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica



**PREVALENZA DI *Toxoplasma gondii* IN GATTI E CERVI
NEL PARCO NAZIONALE DELLO STELVIO (SO):
FATTORI DI RISCHIO E POSSIBILE RUOLO
NELLA TRASMISSIONE ALL'UOMO**

Relatore: Prof. Paolo LANFRANCHI

Correlatore: Dott.ssa Nicoletta FORMENTI

Tesi di Laurea di:

Selene PARTESANA

Matr. N. 744884

Anno Accademico 2014/2015

Sommario

1. INTRODUZIONE	1
2. SCOPO DELLA TESI	4
3. MATERIALI E METODI	5
3.1 AREA DI STUDIO	5
3.2 RACCOLTA DEI CAMPIONI	9
GATTI.....	9
CERVI.....	10
3.3 INDAGINE SIEROLOGICA	11
3.4 DATI DI SIEROPREVALENZA NELL’UOMO (forniti da AOVV).....	13
3.5 ANALISI STATISTICA	15
4. RISULTATI	16
4.1 SIEROPREVALENZA	16
GATTI.....	16
CERVI.....	19
UOMO	22
4.2 CONFRONTO TRA I CERVI 2012-2014	29
5. DISCUSSIONE	31
6. CONCLUSIONI	34
7. BIBLIOGRAFIA	36
8. RINGRAZIAMENTI	41

1. INTRODUZIONE

Il quadro epidemiologico in ambito di popolazioni selvatiche a vita libera è spesso molto complesso in rapporto ai diversi fattori, biotici ed abiotici, che interagiscono tra loro. Per una quanto più corretta definizione, momento essenziale per individuare misure di controllo e/o prevenzione, può rendersi necessario un modello che integri un approccio teorico alla realtà di campo in rapporto anche a dinamicità dei parassiti e comportamento dei rispettivi ospiti (Galvani, 2003).

Nelle popolazioni a vita libera i parassiti sono ubiquitari e spesso non comportano una conclamata situazione clinica (Hudson *et al.*, 2006). Essi sono parte integrante della biodiversità degli ecosistemi naturali e giocano un ruolo nel regolare le densità animali (Anderson e May, 1978) e mantenere la diversità genetica (Matthews, 2009). Quando le specie ospiti coinvolte sono numerose si sviluppa un ciclo di trasmissione più complesso (Hechinger e Lafferty, 2005), con l'interazione di numerose variabili, peraltro non sempre facilmente definibili. Un esempio a questo riguardo possono essere le situazioni in cui l'ospite definitivo si infetta tramite predazione e in questo caso il rapporto predatore-preda è modulato dalla densità sia delle specie ospiti definitive che intermedie (Lélu *et al.*, 2010).

La crescente antropizzazione degli ultimi anni ha favorito la sovrapposizione spaziale tra specie domestiche e selvatiche, con implicazioni di tipo zoonosico, zoeconomico (Paskin, 2002) e faunistico (Gortázar *et al.*, 2007), contrapponendo in alcuni casi la necessità di controllare la malattia a quella di salvaguardare le specie coinvolte (Margalida *et al.*, 2010). In effetti l'aumentata interazione tra uomo, animali domestici e fauna selvatica facilita lo scambio interspecifico di agenti patogeni, con le popolazioni selvatiche che possono essere coinvolte come serbatoio epidemiologico (Thompson *et al.*, 2009). In particolare va sottolineato che il 70% delle patologie emergenti e riemergenti ha origine dalla fauna selvatica (Jones *et al.*, 2008) e in questo senso un attento monitoraggio delle popolazioni a vita libera risulta strategico per la tutela della salute umana. In effetti negli ultimi anni vi è stato un crescente interesse per le patologie della fauna selvatica da parte dell'opinione pubblica, degli esperti del settore e delle autorità competenti (Gortázar *et al.*, 2007). Peraltro in ambito faunistico non è semplice attuare piani di eradicazione e controllo (Guberti *et al.*, 2003; Kulken *et al.*, 2005), alla luce anche del cambio d'uso del territorio legato alle diverse tipologie d'allevamento ed alla attività venatoria

che possono portare al manifestarsi di nuovi agenti patogeni e a nuove sfide sanitarie (Karesh *et al.*, 2012).

Alla luce della complessità degli scenari epidemiologici che la Medicina veterinaria si trova ad affrontare oggi, emerge l'urgente necessità di una valutazione d'insieme del quadro epidemiologico che, partendo da quanto riscontrato in ambito di popolazioni animali, siano esse domestiche e/o selvatiche, contribuisca alla tutela della salute umana.

Emblematico a tale proposito è l'esempio di *Toxoplasma gondii*, protozoo dal ciclo molto complesso in rapporto alle numerose specie di ospiti intermedi coinvolte, quali uccelli, mammiferi terrestri e marini (Dubey e Jones, 2008; Jokelainen *et al.*, 2010; Jokelainen *et al.*, 2011; Jokelainen e Nylund, 2012; Verin *et al.*, 2013). Per contro quelli definitivi sono rappresentati esclusivamente da felini, gatto (*Felis catus*) per quanto riguarda la realtà domestica e numerose specie selvatiche, tra cui gatto selvatico (*Felis silvestris*), lince (*Lynx lynx*), leone (*Panthera leo*), ghepardo (*Acinonyx jubatus*), giaguaro (*Panthera onca*), puma (*Puma concolor*), ocelot (*Leopardus pardalis*), gatto di Pallas (*Felis manul*) e gatto di Iriomote (*Prionailurus iriomotensis*) (Samuel *et al.*, 2001; Dubey, 2010; Elmore *et al.*, 2010).

La valenza sanitaria di *T. gondii* va vista in rapporto all'impatto sia in ambito zootecnico, legato alla possibilità di aborti e/o alla diminuita produttività (Dubey e Jones, 2008; Hide *et al.*, 2009; Raeghi *et al.*, 2011), che soprattutto verso la salute umana (Cenci-Goga *et al.*, 2011; Robert-Gangneux e Dardé, 2012). E' noto infatti che nell'uomo la possibile trasmissione per via transplacentare può causare aborto, lesioni oculari o ritardo nell'apprendimento (Cook *et al.*, 2000). Lavori più recenti hanno evidenziato l'associazione tra l'infezione e la probabilità di sviluppare disturbi psichici (Fekadu *et al.*, 2010; Pearce *et al.*, 2012; Gajewsky *et al.*, 2014). La genotipizzazione ha portato alla determinazione di tre principali genotipi multilocus (tipo I, II e III) (Howe e Sibley, 1995), con una diversa valenza sanitaria in rapporto alla gravità per la specie umana. In particolare il tipo II è il più diffuso in Europa (Mancianti *et al.*, 2013), nonché quello maggiormente patogeno in quanto, nonostante resti asintomatico nella maggior parte della popolazione, può avere effetti dannosi se colpisce pazienti immunocompromessi (Jones *et al.*, 2001) e donne gravide (Ajzenberg *et al.*, 2002).

A livello epidemiologico va considerato che la crescente urbanizzazione ha comportato cicli di trasmissione per *T. gondii* sempre più complessi che rimangono tuttora sconosciuti (Lehrer *et al.*, 2010). D'altra parte la complessità del ciclo di questo protozoo è confermata anche da un'indagine condotta nel circolo polare artico dove è stata riscontrata nell'uomo una

sieroprevalenza, con valori anche fino all'80%, seppure gli ospiti definitivi siano molto scarsi (Jenkins *et al.*, 2015).

Per quanto riguarda gli ungulati a vita libera, nonostante le numerose indagini condotte in diverse realtà territoriali (Vikøren *et al.*, 2004; Gaffuri *et al.*, 2006; Gauss *et al.*, 2006; De Craeye, 2010), risultano limitate, almeno per quanto è stato possibile accertare, quelle in cui il dato relativo agli ungulati è stato specificatamente analizzato in rapporto a quello riscontrato nei gatti domestici presenti nella stessa area (Ballash *et al.*, 2014).

2. SCOPO DELLA TESI

Sulla base di positività sierologiche riscontrate nei cervi abbattuti nel Parco Nazionale dello Stelvio (SO) nel 2012, è stata condotta nel 2014 un'indagine parallela nei gatti e nei cervi presenti nell'area di studio, al fine di acquisire elementi utili a definire il quadro epidemiologico di *T. gondii*, in rapporto anche all'eventuale rischio zoonosico. Inoltre, grazie alla disponibilità dell'Azienda Ospedaliera della Valtellina e della Valchiavenna (Sondrio) che ha messo a disposizione i dati sieroepidemiologici relativi alla popolazione umana valtellinese, è stato possibile acquisire gli elementi base per una valutazione d'insieme sulla diffusione della toxoplasmosi nell'area di studio.

3. MATERIALI E METODI

3.1 AREA DI STUDIO

L'indagine è stata condotta in Valfurva (SO) nel territorio del Parco Nazionale dello Stelvio - Settore Lombardo (Long 10,41; Lat 46,48). L'area di studio ha un'estensione di circa 2.500 ha, ed è compresa tra la sponda idrografica destra del torrente Frodolfo nel comune di Valfurva e la sponda idrografica sinistra dell'Adda nel comune di Bormio, con un'altitudine che va dai 1.300 ai 2.400 m s.l.m..

La vegetazione è caratterizzata da pascoli calcarei alpini, larici (*Larix decidua*), abeti rossi (*Abies alba*) e bianchi (*Picea excelsa*) i quali, scendendo verso valle, lasciano il posto a prati da sfalcio in prossimità degli insediamenti umani. Il territorio del Parco presenta un'elevata biodiversità e per questo riveste un importante ruolo naturalistico, anche in relazione al successo di progetti di reintroduzione come per il gipeto (*Gypaetus barbatus*), comprovato dal ritorno dei grossi predatori quali orso bruno (*Ursus arctos*) e lupo (*Canis lupus*). Per quanto riguarda gli ungulati selvatici, il patrimonio faunistico è rappresentato da camosci (*Rupicapra r. rupicapra*), cervi (*Cervus elaphus*), caprioli (*Capreolus capreolus*) e stambecchi (*Capra ibex*) (www.stelviopark.it).

Il progressivo aumento numerico dei cervi all'interno dell'area negli ultimi decenni (Grafico 1) ha portato alla scelta gestionale del contenimento numerico dei soggetti.

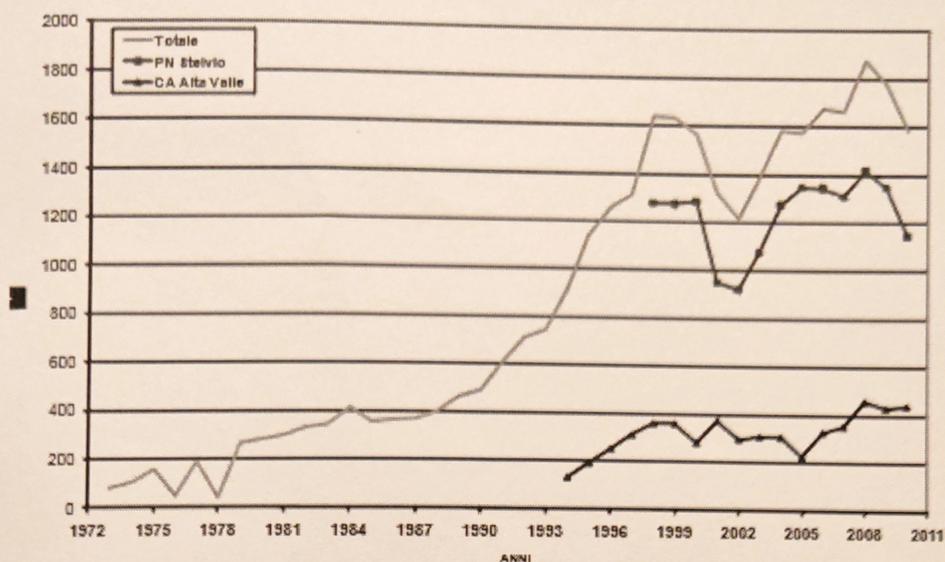


Grafico 1: Consistenza della popolazione di cervo nella zona Valfurva-Sondalo in base ai censimenti primaverili.

In effetti nel territorio della Valfurva nella primavera del 2012 sono stati censiti circa 730 cervi, con densità che nell'area protetta superano valori di 12 capi per kmq che arrivano a 40 cervi per kmq nelle zone di svernamento. Alla luce dell'impatto negativo dell'elevata densità di cervi sulla biodiversità, sulla rigenerazione forestale e sulle attività zootecniche (Mustoni *et al.*, 2002; Caudullo *et al.*, 2003), il Parco ha messo in atto un programma di abbattimenti selettivi per ridurre la consistenza di questa specie. In particolare, l'obiettivo del Progetto è quello di diminuire la densità all'interno del Parco al di sotto dei 9 cervi per kmq, aumentando nel contempo quella al suo esterno (Comunicato stampa del Parco Nazionale dello Stelvio 13/02/2012). A causa di queste notevoli densità, i cervi pascolano abitualmente sui prati da sfalcio, in zone vicine agli insediamenti umani, in particolare alle stalle dislocate nell'area di studio, arrivando in alcuni casi addirittura nei giardini, soprattutto nel periodo invernale e primaverile quando spunta la prima erba verde.

Considerando i dati raccolti tramite i radio-collari e l'osservazione di cervi marcati, l'area di studio è stata suddivisa in due sub-aree, 1 e 2 (Figura 1), tra le quali non è stato riscontrato transito di cervi, soprattutto per quanto riguarda le femmine e i piccoli, pur non potendo escluderlo totalmente per l'assenza di barriere fisiche (Pedrotti e Gugliatti, 2013). La sub-area 1 (772 ha) è caratterizzata da un'elevata copertura forestale, per quanto riguarda l'attività antropica sono presenti alcune aziende zootecniche che usufruiscono di pascoli e alcuni insediamenti civili (soprattutto case di villeggiatura) rappresentanti solo il 7% della superficie totale. Nella sub-area

2 (707 ha) la presenza umana è più consistente, con un maggior numero sia di aziende agro-zootecniche che di insediamenti residenziali ed il territorio su cui insistono attività antropiche rappresenta il 32% del totale.

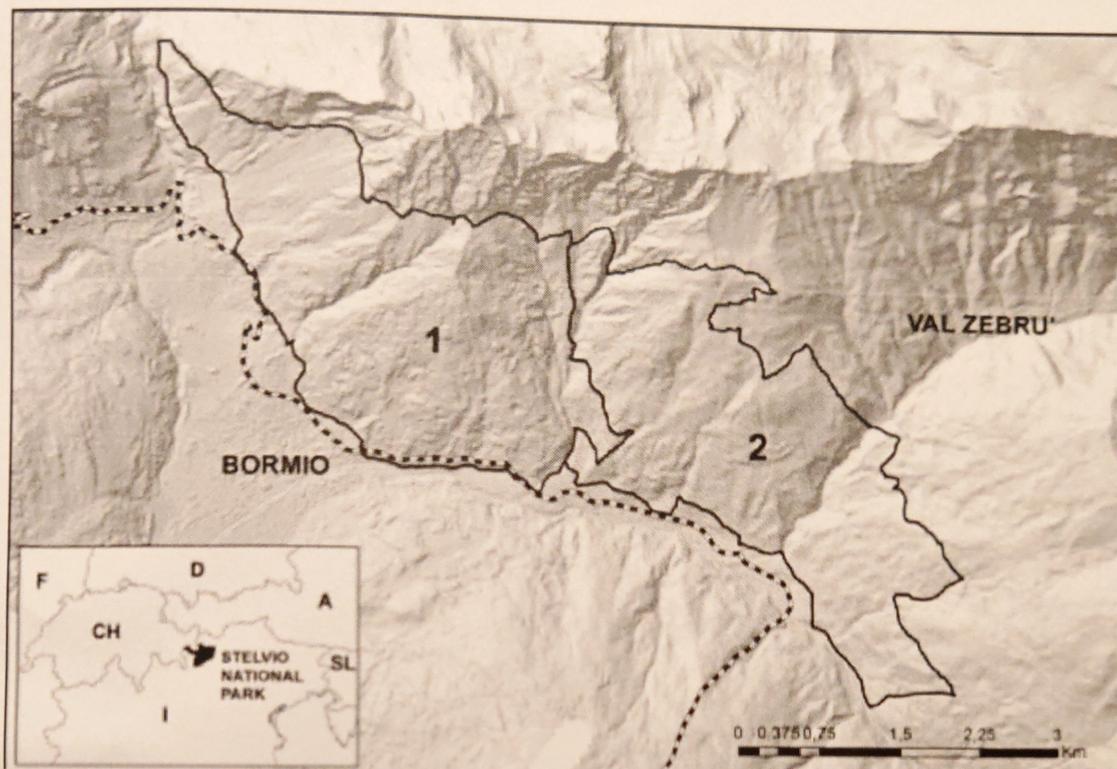


Figura 1: Area di studio e suddivisione nelle 2 sub-aree (1 e 2); linea tratteggiata: confini del Parco Nazionale dello Stelvio.

Rispetto ai cervi i dati di censimento dimostrano una maggior consistenza nella sub-area 2. La presenza di gatti con libero accesso al territorio circostante le abitazioni dei proprietari è registrata in entrambe le sub-aree. Nonostante la mancanza di dati di censimento relativi a questa specie, grazie alle informazioni ricevute dal personale del Parco, dagli abitanti e all'osservazione diretta sul territorio, è stato possibile accertare che nella sub-area 1 la consistenza della popolazione felina è inferiore rispetto alla 2. Considerando quanto noto circa l'estensione dell'home range del gatto (Meek, 2003), seppur in assenza di dati sperimentali relativi all'area di studio, la dimensione delle 2 sub-aree lascia supporre che non si verificano interazioni spaziali tra i soggetti delle 2 sub-aree.

Per quanto riguarda *T. gondii*, una precedente indagine condotta tra il 19 novembre e il 15 dicembre 2012 su 81 cervi abbattuti, sempre nell'ambito del piano di controllo predisposto dal Parco, aveva evidenziato una sieroprevalenza complessiva del 39,5%. I dati relativi a sesso,

classe d'età e sub-area sono riportati in tabella 1 e hanno rappresentato il punto di partenza della presente tesi.

SESSO	Positivi	Esaminati	Prevalenza
Maschi	10	31	32,2%
Femmine	22	50	44%
CLASSE D'ETÀ			
Piccoli (< 1 anno)	1	21	4,8%
Giovani (1 anno)	11	21	52,2%
Adulti (> 2 anni)	20	39	51,3%
SUB-AREA			
1	5	17	29,4%
2	27	64	42,2%

Tab. 1: Sieroprevalenza di *T. gondii* nel cervo rispetto a sesso, classe d'età e sub-area (anno 2012).

Date le densità ancora alte evidenziate nel 2014 (750 capi censiti), il personale del Parco ha deciso di ampliare l'area di prelievo venatorio aggiungendo una terza sub-area (3), considerata soltanto per quest'ultimo anno di studio, con un'estensione di circa 1.200 ha e con un livello di antropizzazione equiparabile a quello presente nella sub-area 1 (circa 7%).

3.2 RACCOLTA DEI CAMPIONI

GATTI

I gatti sono stati campionati nel periodo compreso tra il 10/12/2013 e il 31/07/2014 all'interno dell'area di studio.

Il prelievo di sangue è stato effettuato sia su soggetti che passano la maggior parte della giornata all'esterno delle abitazioni che semi-randagi o di stalla, animali che hanno quindi la possibilità di muoversi sul territorio, allontanandosi anche parecchio dalle abitazioni, spostandosi nell'ambiente in sovrapposizione al cervo (prati e foreste).

All'interno dell'area sono stati individuati i nuclei abitati e le stalle e, dopo aver verificato la presenza di gatti, sono stati coinvolti i proprietari esponendo loro la valenza sanitaria della toxoplasmosi e chiedendo la disponibilità ad effettuare un prelievo di sangue dai gatti di loro proprietà. Una volta aderito all'iniziativa, su base assolutamente volontaria, sono stati raccolti i dati relativi al segnalamento dell'animale (sesso, età e località) ed è stato effettuato un prelievo di sangue venoso tramite la vena cefalica. I campioni raccolti (n=51) sono stati centrifugati e il siero immediatamente congelato a -20°C in attesa delle successive analisi di laboratorio. L'entità del campione in relazione a sesso, classe d'età e sub-area è riportata in tabella 2.

	Esaminati	
SESSO	Maschi	26
	Femmine	25
CLASSE D'ETÀ	Piccoli (< 1 anno)	7
	Giovani (1 anno)	9
	Adulti (> 1 anno)	35
SUB-AREA	1	7
	2	44

Tab. 2: Campionamento di gatto (n=51) suddiviso per sesso, classe d'età e sub-area.

CERVI

Nel 2014 il piano di controllo numerico attivato dal Parco è durato dal 30 ottobre 2014 al 25 gennaio 2015.

Gli animali abbattuti (n=199) sono stati portati al centro di controllo allestito dal Parco Nazionale in località Uzza (SO), dove si è provveduto per ogni soggetto alla raccolta dei dati relativi a sesso, età, geolocalizzazione del luogo di abbattimento ed al rilievo delle misure morfobiometriche (altezza al garrese, lunghezza del piede posteriore, lunghezza della mandibola, circonferenza del collo, peso). Lo stato di nutrizione (Dryden, 2008) è stato valutato tramite il calcolo dell'Indice di Grasso Renale (Kidney Fat Index, KFI) tramite applicazione della seguente formula (Anderson *et al.*, 1972):

$$KFI = \frac{gGrassoPerirenale + gTunicaFibrosa}{gReni} 100$$

Dopo aver raccolto un campione di sangue, questo è stato immediatamente centrifugato a 1.500 rpm x 15 minuti, per ottenerne il siero. Tutti i campioni sono stati conservati a -20°C in attesa di essere analizzati. In totale, date le difficili condizioni sul campo, gli animali da cui è stato possibile ottenere il siero sono stati 151 (Tab. 3).

	Esaminati	
SESSO	Maschi	60
	Femmine	91
CLASSE D'ETÀ	Piccoli (< 1 anno)	45
	Giovani (1 anno)	24
	Adulti (> 1 anno)	82
SUB-AREA	1	32
	2	59
	3	60

Tab. 3: Campionamento di cervo (n=151) suddiviso per sesso, classe d'età e sub-area.

3.3 INDAGINE SIEROLOGICA

Tutti i campioni raccolti sia di gatti che di cervo sono stati trasportati presso il Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica (Università degli Studi di Milano), mantenendo la catena del freddo, per poter essere sottoposti ad analisi sierologica.

Per l'analisi dei campioni si è utilizzato un kit commerciale ELISA (ID screen *Toxoplasmosis* Indiret multi-species), validato sia per i ruminanti che per i gatti per la ricerca di anticorpi IgG anti-*Toxoplasma gondii*.

Seguendo le istruzioni del kit, i campioni con un diluente (1:10) sono stati caricati in una piastra da 96 pozzetti ai quali è adeso l'antigene P30 di *T. gondii*.

In presenza di anticorpi si forma un complesso antigene-anticorpo che resta adeso al fondo del pozzetto dopo la fase di lavaggio. Aggiungendo il coniugato anti-ruminanti-perossidasi si forma un complesso antigene-anticorpo-coniugato. A questo punto si aggiunge il substrato il quale colora il complesso, se presente, con una tonalità blu che, in seguito all'aggiunta della soluzione di bloccaggio, diventa gialla. La colorazione dipenderà dalla quantità di anticorpi specifici presenti nel campione da testare (Fig. 2).

La piastra è letta da uno spettrofotometro a una lunghezza d'onda di 450nm e i risultati sono espressi in densità ottica.

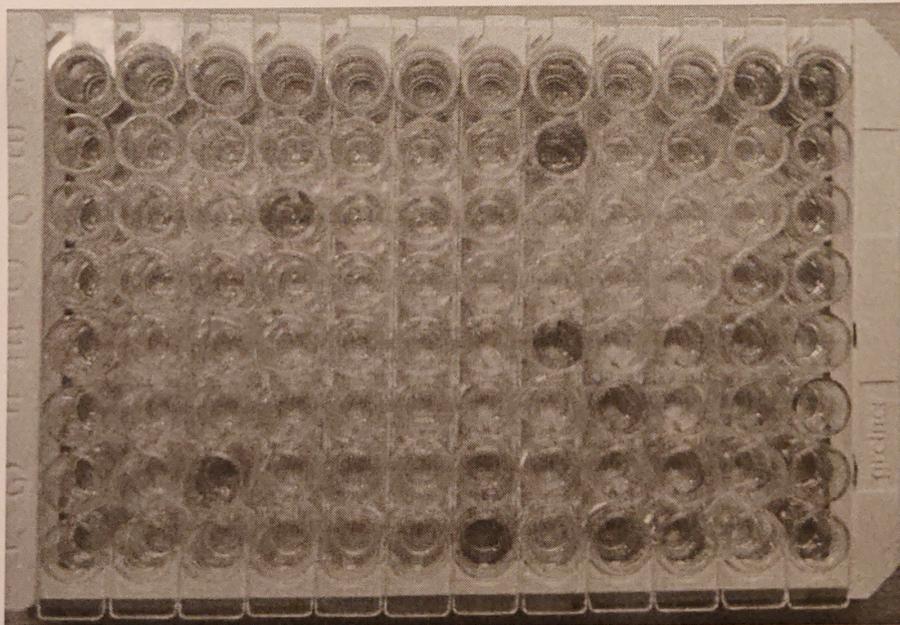


Figura 2: Piastra al termine della reazione con le diverse tonalità di giallo.

Il test è attendibile se il valore medio di densità ottica dei controlli positivi (DO_{cp}) è superiore a 0.350 e la proporzione tra valore medio della densità ottica dei controlli positivi (DO_{cp}) e valore medio dei controlli negativi (DO_{cn}) è superiore a 3.

I risultati sono stati interpretati tramite l'applicazione della seguente formula:

%S/P (sample to positive) = $(DO_{campione} - DO_{cn} / DO_{cp} - DO_{cn}) \times 100$	
S/P ≤ 40%	NEGATIVO
40% < S/P > 50%	DUBBIO
S/P ≥ 50%	POSITIVO

Tab. 4: Interpretazione dei risultati del test.

3.4 DATI DI SIEROPREVALENZA NELL'UOMO (forniti da AOVV)

Grazie alla disponibilità da parte dell'Azienda Ospedaliera della Valtellina e della Valchiavenna (AOVV) è stato possibile consultare un prezioso database relativo agli accertamenti sierologici per *T. gondii* condotti da gennaio 2013 a marzo 2015 sulla popolazione valtellinese per un totale di 16.771 individui. Nel grafico 2 è riportata la sieroprevalenza nelle varie fasce d'età, mentre la situazione nei diversi distretti della Provincia di Sondrio fa riferimento al grafico 3.

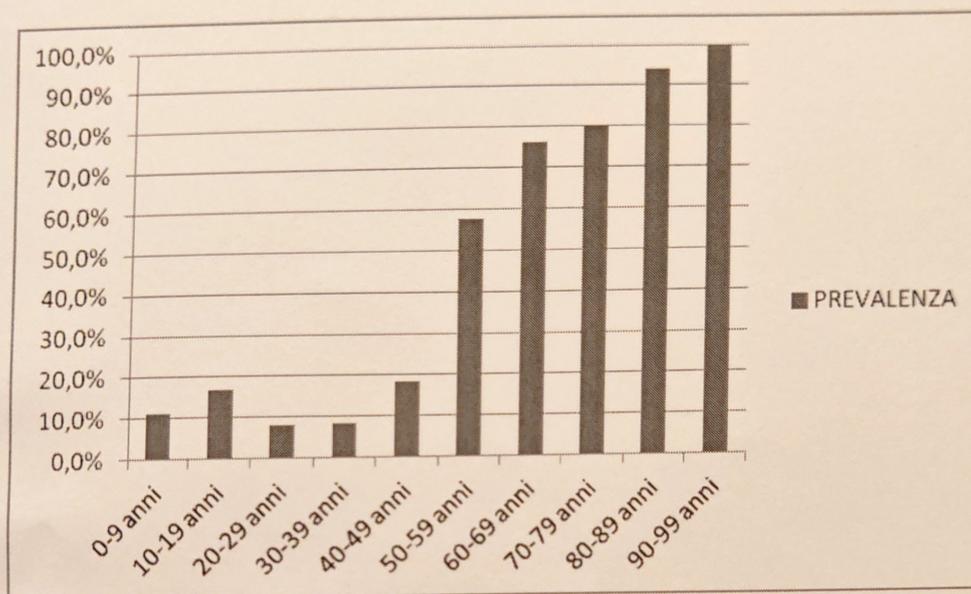


Grafico 2: Sieroprevalenza di *T. gondii* nell'uomo divisa per fascia d'età.

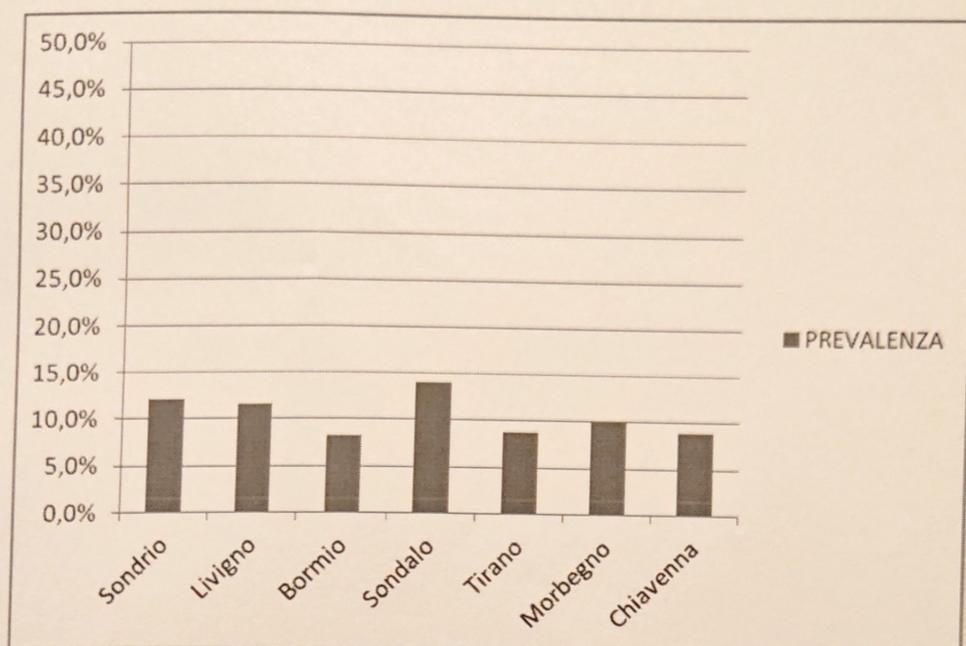


Grafico 3: Sieroprevalenza di *T. gondii* nell'uomo nei diversi distretti della Provincia di Sondrio.

Di questi campioni, 1.324 sono stati prelevati nel distretto di Bormio, in cui è compresa l'area di studio, e di essi la distribuzione per sesso e classe d'età è riportata in tabella 5.

	Maschi	Femmine
0-11 anni	2	3
12-19 anni	9	5
20-44 anni	14	1.271
45-99 anni	10	10
Tot	35	1.289

Tab. 5: Campioni umani (n=1.324) suddivisi per sesso ed età (area di Bormio).

3.5 ANALISI STATISTICA

Per ogni specie è stato calcolato l'indice epidemiologico di sieroprevalenza (p = percentuale di individui sieropositivi al parassita sul totale degli individui esaminati), sia sulla popolazione totale che suddivisa in base a sesso, classe d'età e sub-area.

La variabile dicotomica infetto/non infetto è stata modellizzata tramite l'utilizzo di Modelli Lineari Generalizzati (Generalized Linear Models, GLM) con distribuzione binomiale per valutare l'epidemiologia dell'infezione in gatti, cervi e uomo. In particolare, sono stati indagati gli effetti delle variabili sesso, età, area, KFI sulla probabilità di essere infetto. Dal modello saturo di partenza, costituito dalle singole variabili considerate e dalle loro interazioni di primo grado, è stato ottenuto il modello minimale, applicando una procedura di backward selection che elimina progressivamente i fattori non significativi. Questa selezione è stata ottenuta confrontando i valori AIC (Akeike Information Criterion) e AICC (Corrected Version of Akeike Criterion) nei diversi modelli.

Nel caso di fattori o interazioni statisticamente significative con un numero di livelli superiore a due, è stata effettuata un'analisi post-hoc (confronti a coppie).

Le analisi sono state effettuate utilizzando il software SPSS Statistic 20.0®.

I risultati sono stati considerati statisticamente significativi quando $p < 0.05$.

4. RISULTATI

4.1 SIEROPREVALENZA

Le analisi sierologiche effettuate sui campioni felini, di cervo e umani hanno mostrato una sieroprevalenza totale rispettivamente del 51%, del 16,6% e del 8,2% all'interno dell'area di studio (Grafico 4).

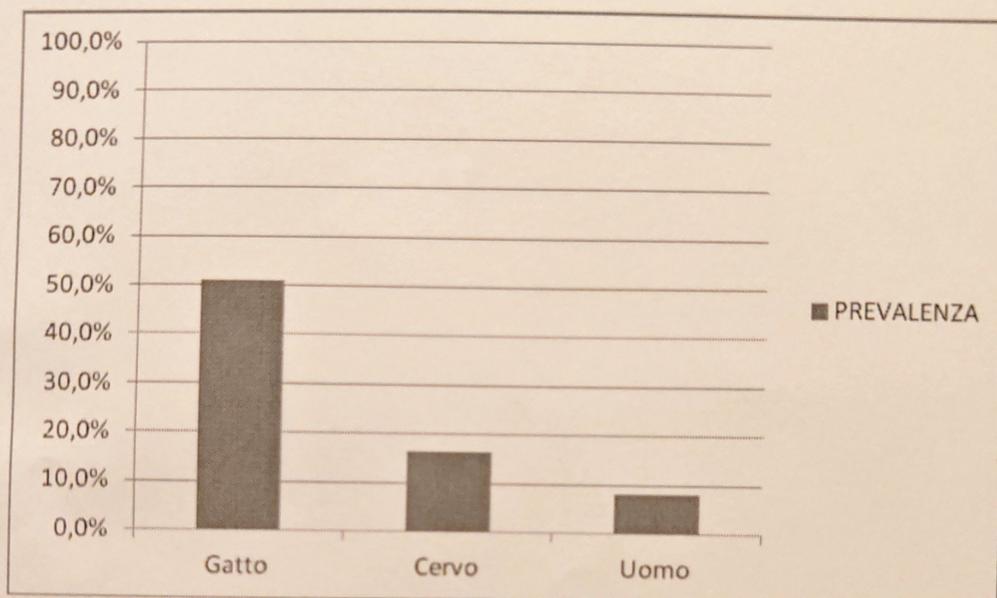


Grafico 4: Sieroprevalenza di *T. gondii* in cervo, gatto, uomo nell'area di studio.

GATTI

Le analisi hanno evidenziato una sieroprevalenza complessiva del 51% (IC 95% 37,3-64,7). La prevalenza è del 57,7% nei maschi e del 44% nelle femmine (Tab. 5 e Grafico 5); per quanto riguarda la classe d'età la percentuale di infetti tra i piccoli è del 28,6%, tra i giovani è del 55,6% e negli adulti è del 54,3% (Tab. 6 e Grafico 6); infine gli animali della sub-area 1 hanno una prevalenza del 85,7% che scende al 45,5% nella sub-area 2 (Tab. 7 e Grafico 7).

SESSO	Positivi	Esaminati	Prevalenza
Maschi	15	26	57,7%
Femmine	11	25	44%

Tab. 5: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei gatti rispetto al sesso.

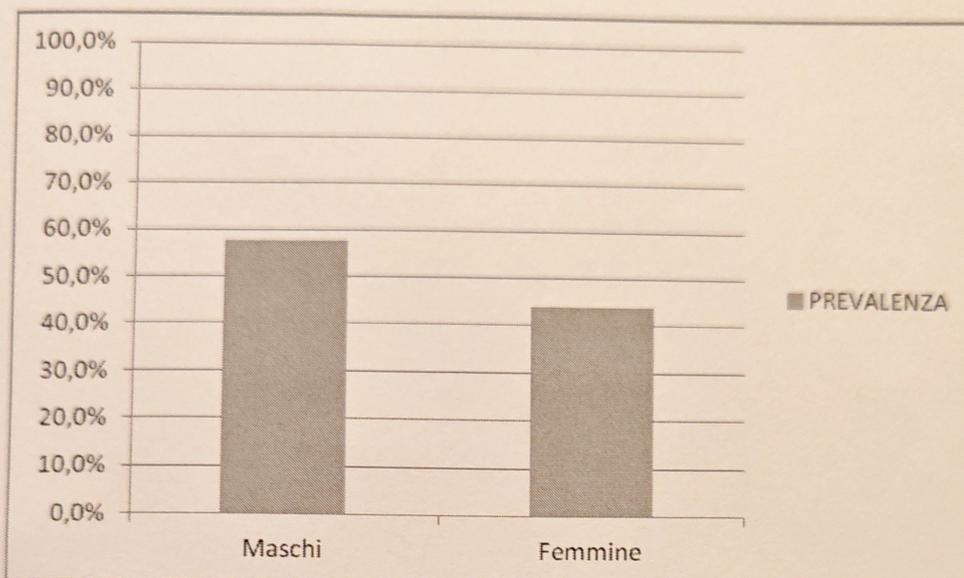


Grafico 5: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei gatti rispetto al sesso.

CLASSE D'ETÀ	Positivi	Esaminati	Prevalenza
Piccoli (< 1 anno)	2	7	28,6%
Giovani (1 anno)	5	9	55,6%
Adulti (> 2 anni)	19	35	54,3%

Tab. 6: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei gatti rispetto alla classe d'età.

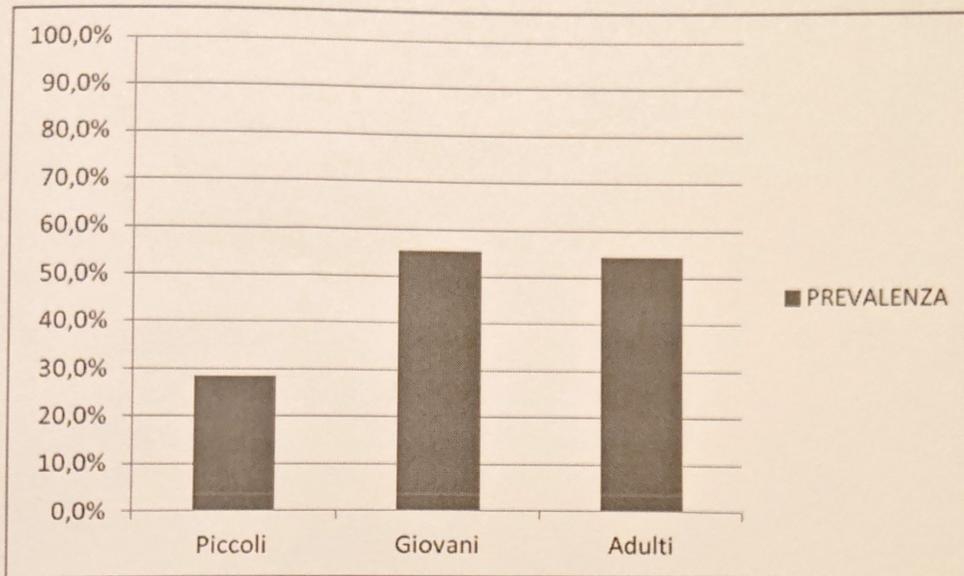


Grafico 6: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei gatti rispetto alla classe d'età.

SUB-AREA	Positivi	Esaminati	Prevalenza
1	6	7	85,7%
2	20	44	45,5%

Tab. 7: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei gatti rispetto alla sub-area.

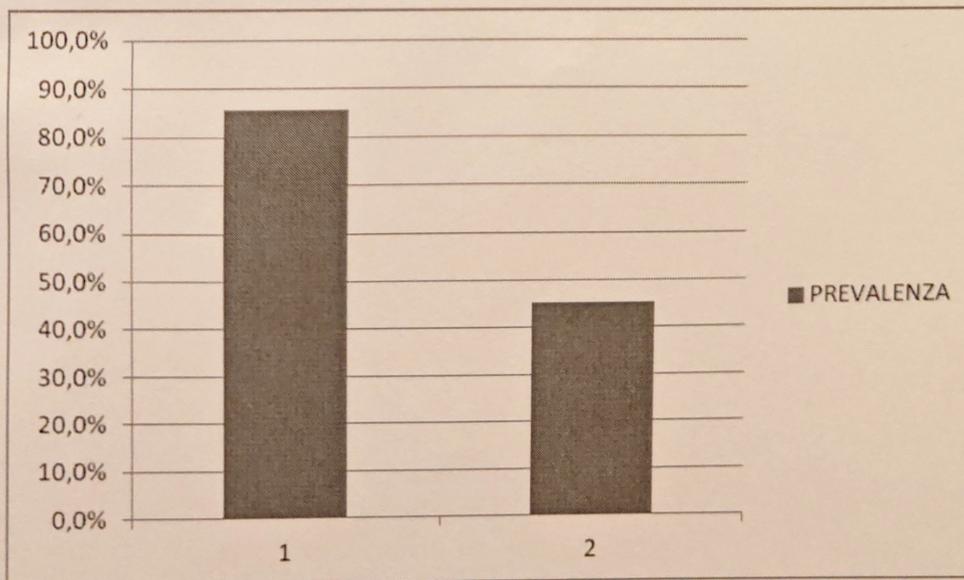


Grafico 7: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei gatti rispetto alla sub-area.

L'analisi statistica non ha evidenziato nessun effetto di sesso, classe d'età e sub-area sulla probabilità di essere infetto ($p > 0,05$).

CERVI

Rispetto ai 151 campioni di siero dei cervi abbattuti nell'anno 2014, 25 sono risultati positivi con una prevalenza complessiva del 16,6% (IC 95% 10,6-22,5). La prevalenza nei maschi e nelle femmine è rispettivamente del 15% e del 17,6% (Tab. 8 e Grafico 8); nelle diverse classi d'età questo dato è del 4,4% nei piccoli, nei giovani passa al 16,7%, fino ad arrivare negli adulti al 23,2% (Tab.9 e Grafico 9); rispetto alle tre sub-aree i valori ottenuti sono del 3,1% nella 1, 27,1% nella 2 e 13,3% nella 3 (Tab. 10 e Grafico 10).

SESSO	Positivi	Esaminati	Prevalenza
Maschi	9	60	15%
Femmine	16	91	17,6%

Tab. 8: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei cervi rispetto al sesso (anno 2014).

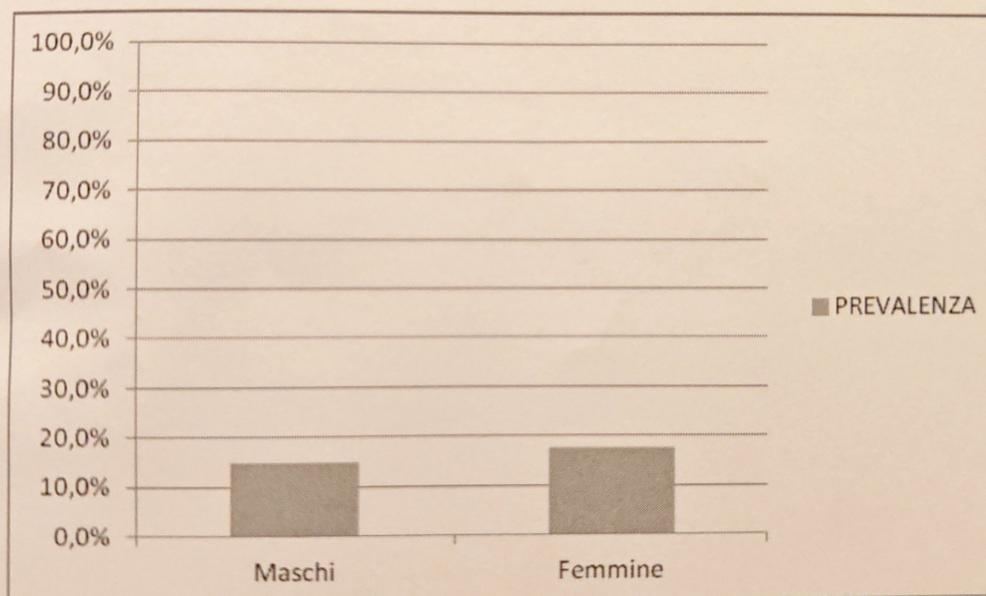


Grafico 8: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei cervi rispetto al sesso (anno 2014).

CLASSE D'ETÀ	Positivi	Esaminati	Prevalenza
Piccoli (< 1 anno)	2	45	4,4%
Giovani (1 anno)	4	24	16,7%
Adulti (> 2 anni)	19	82	23,2%

Tab. 9: Sieroprevalenzadi *T. gondii* nei cervi rispetto alla classe d'età (anno 2014).

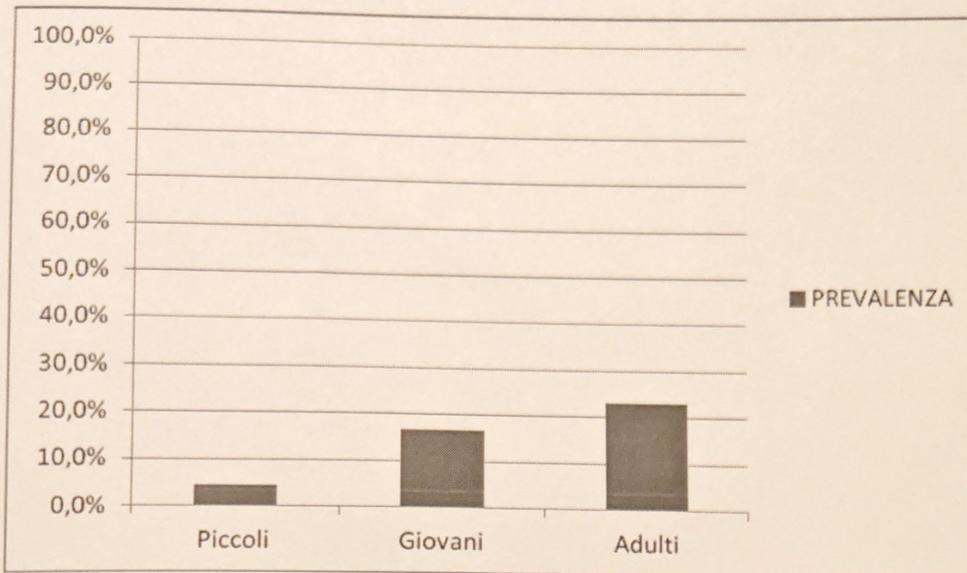


Grafico 9: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei cervi rispetto alla classe d'età (anno 2014).

SUB-AREA	Positivi	Esaminati	Prevalenza
1	1	32	3,1%
2	16	59	27,1%
3	8	60	13,3%

Tab. 10: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei cervi rispetto alla sub-area (anno 2014).

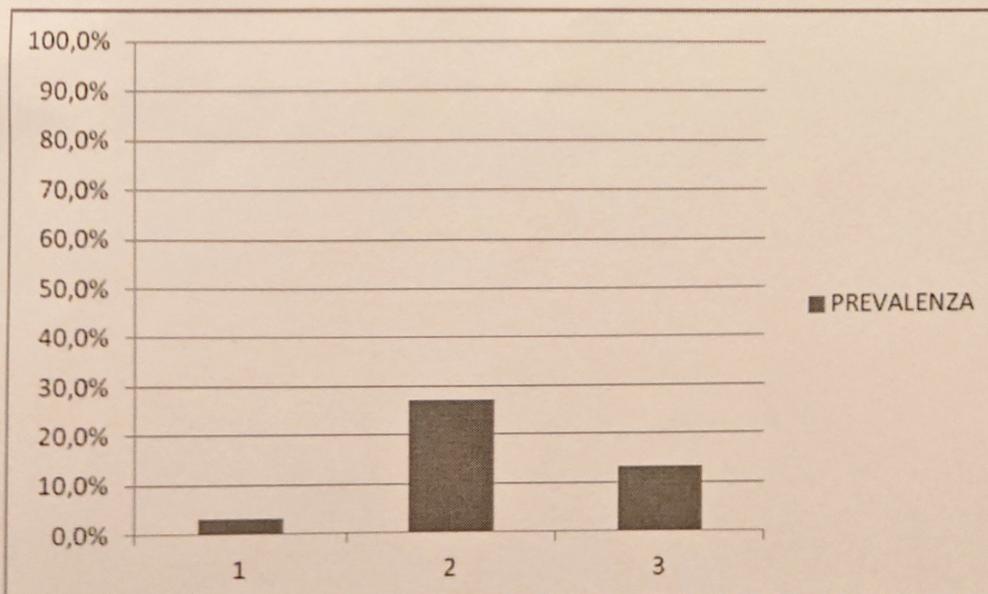


Grafico 10: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei cervi rispetto alla sub-area (anno 2014).

Per poter effettuare l'analisi statistica sono stati eliminati alcuni campioni di cui non si disponevano tutti i dati, in particolare mancava il KFI, si è proceduto quindi all'analisi su 142 soggetti.

Il sistema non ha rilevato nessuna differenza statisticamente significativa ($p > 0,05$) per quanto riguarda il sesso; al contrario è emerso un effetto significativo della classe d'età, della sub-area e del KFI sulla probabilità di essere infetto (Tab. 11). In particolare all'aumentare del KFI diminuisce significativamente la probabilità di essere infetti (Grafico 11).

Fattori	Chi-quadrato di Wald	df	Sig.
(Intercetta)	5,645	1	0,018
CLASSE D'ETÀ	6,839	2	0,033
KFI	5,056	1	0,025
SUB-AREA	6,102	2	0,047
SESSO	1,056	1	0,304

Tab. 11: Modello minimale dei fattori che influenzano la probabilità di essere infetti nei cervi del 2014.

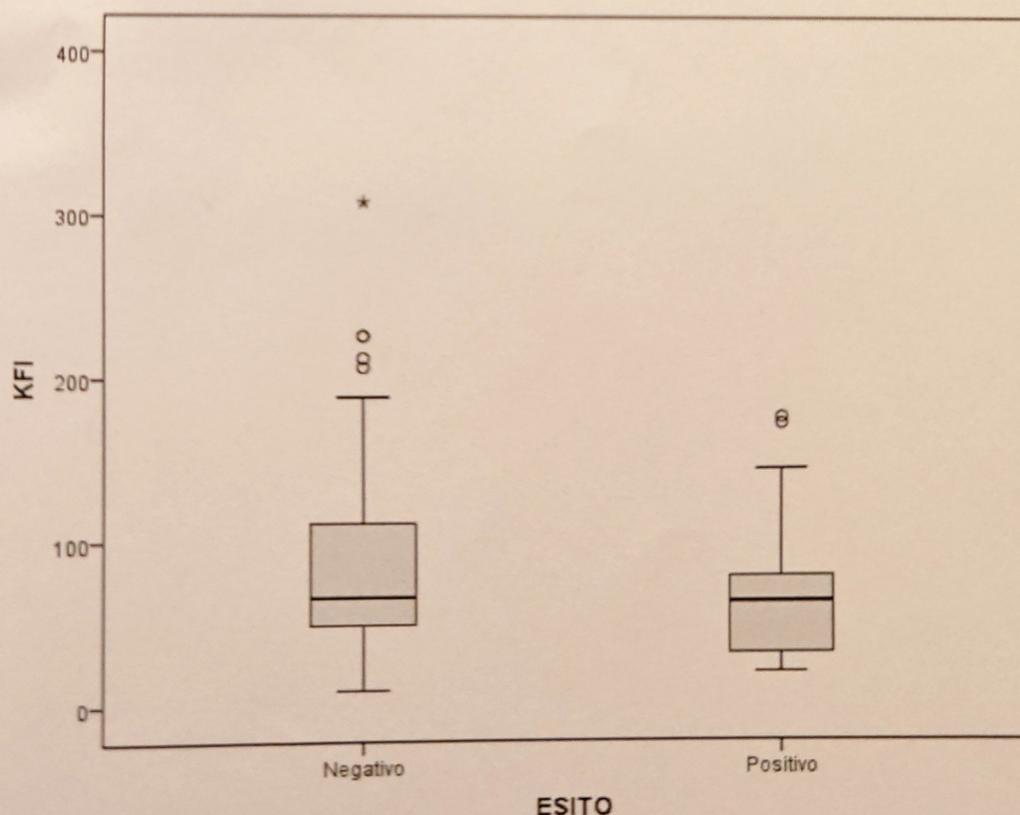


Grafico 11: Valore del KFI in relazione all'esito della prova sierologica.

Il confronto a coppie ha evidenziato che i soggetti della sub-area 1 sono significativamente meno infetti di quelli della 2 ($p=0,014$) e della 3 ($p=0,036$). Inoltre i piccoli sono significativamente meno infestati rispetto ai giovani ($p=0,030$) e agli adulti ($p=0,012$), mentre non ci sono differenze significative tra giovani e adulti.

UOMO

Considerando i dati relativi a tutta la provincia di Sondrio, la sieroprevalenza nei maschi è stata calcolata per le diverse classi d'età, i valori ottenuti sono del 10% fino a un'età di 11 anni, 24,3% nella fascia 12-19, 38,2% in quella 20-44 e 72,4% oltre i 45 anni (Tab. 12 e Grafico 12); lo stesso è stato fatto per le femmine con i seguenti risultati: 9,7% fino a un'età di 11 anni, 13,7% nella fascia 12-19, 8,5% in quella 20-44 e 47,3% oltre i 45 anni (Tab. 13 e Grafico 13).

MASCHI	Positivi	Esaminati	Prevalenza
0-11 anni	11	110	10%
12-19 anni	28	115	24,3%
20-44 anni	87	228	38,2%
45-99 anni	155	214	72,4%

Tab. 12: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei maschi in Provincia di Sondrio rispetto alla classe d'età.

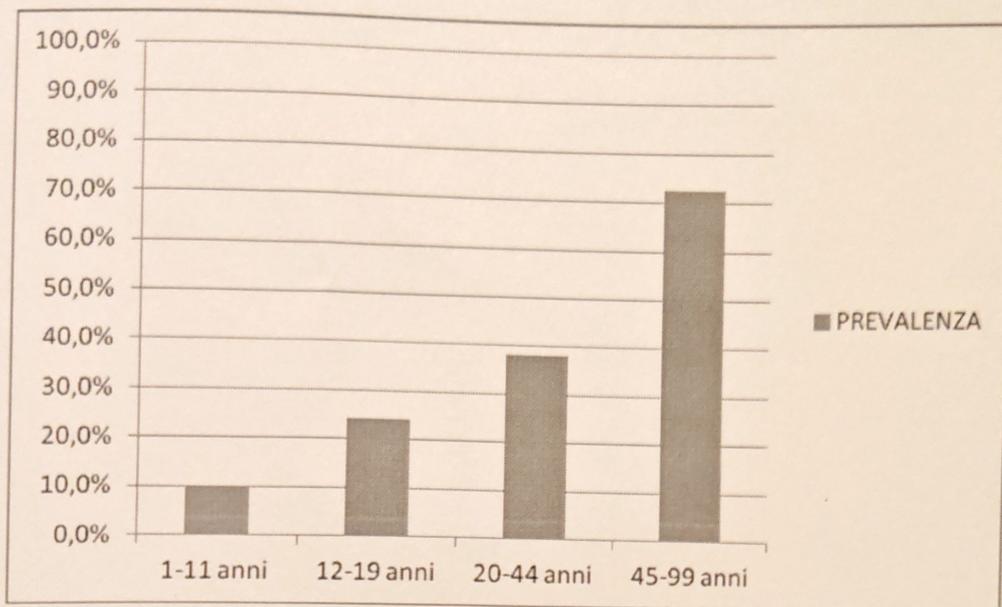


Grafico 12: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei maschi in Provincia di Sondrio rispetto alla classe d'età.

FEMMINE	Positivi	Esaminati	Prevalenza
0-11 anni	7	72	9,7%
12-19 anni	21	153	13,7%
20-44 anni	1321	15532	8,5%
45-99 anni	164	347	47,3%

Tab. 13: Sieroprevalenza di *T. gondii* nelle femmine in Provincia di Sondrio rispetto alla classe d'età.

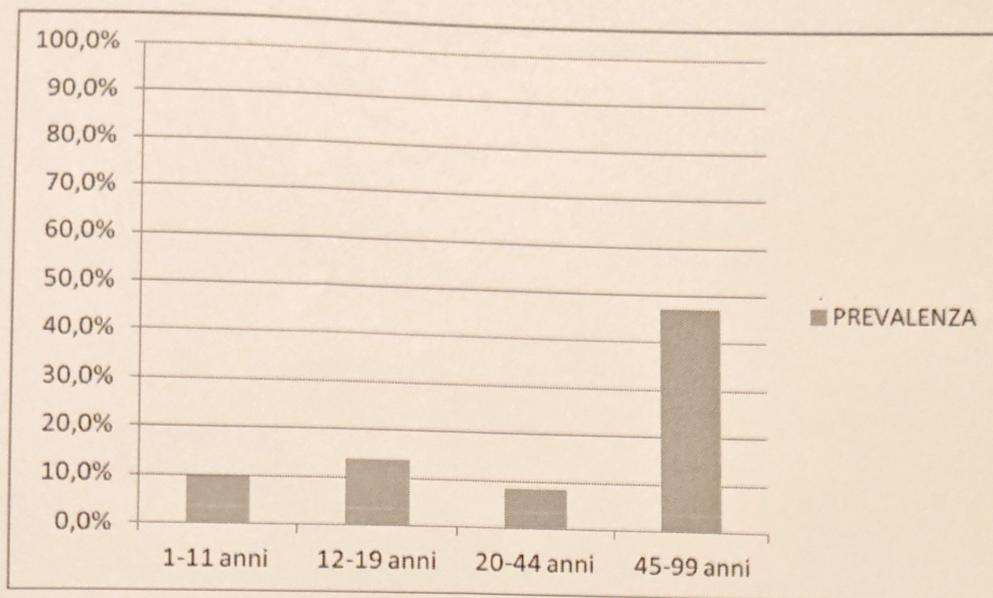


Grafico 13: Seroprevalenza di *T. gondii* nelle femmine in Provincia di Sondrio rispetto alla classe d'età.

Nei maschi è stata rilevata una differenza statisticamente significativa tra tutte le classi d'età ($p < 0,05$) (Tab. 14) con la seroprevalenza che aumenta con l'età.

Fattori	Chi-quadrato di Wald	Df	Sig.
(Intercetta)	8,053	1	0,005
DISTRETTO	7,424	6	0,283
CLASSE D'ETÀ	112,190	3	0,000

Tab. 14: Modello minimale dei fattori che influenzano la probabilità di essere infetti nell'uomo.

Considerando le donne di età compresa tra i 20 e i 44 anni non sono emerse differenze statisticamente significative tra la seroprevalenza nel distretto di Bormio ($p = 7,2\%$) rispetto al resto della Provincia (Grafico 14).

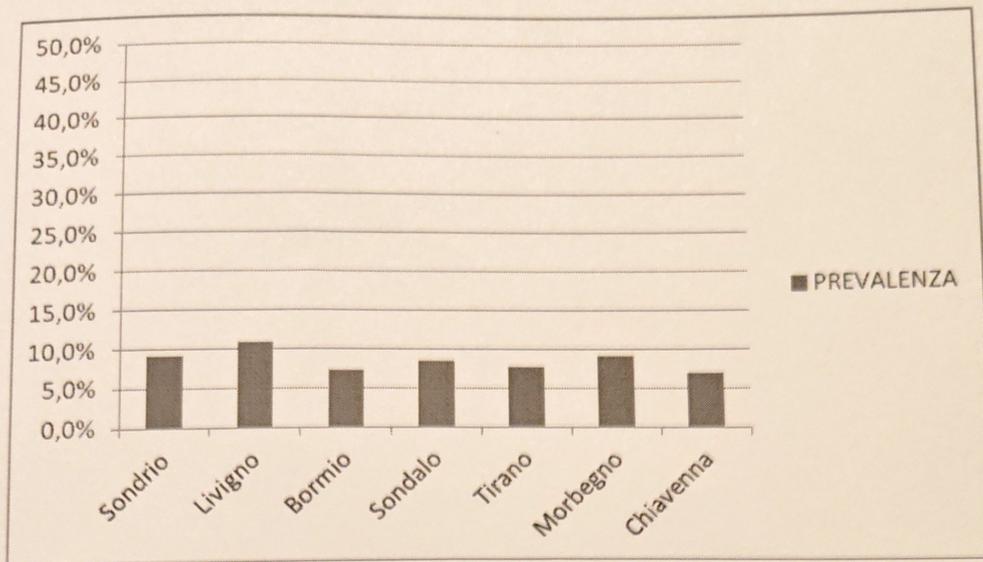


Grafico 14: Sieroprevalenza di *T. gondii* nelle donne di età compresa tra i 20 e i 44 anni nei diversi distretti della Provincia di Sondrio.

Analizzando i dati nel solo distretto di Bormio la sieroprevalenza ottenuta è del 8,2% (109/1.324 totali, IC 95% 6,7-9,7). Le prevalenze nei maschi (p=40%) e nelle femmine (p=7,4%) sono riportate nella tabella 15 (Grafico 15); nella tabella 16 (Grafico 16) invece i dati sono suddivisi in base alla classe d'età: fino a 11 anni 20%, dai 12 ai 19 anni 42,9%, tra i 20 e i 44 anni 7,5% e oltre i 45 è del 25%.

SESSO	Positivi	Esaminati	Prevalenza
Maschi	14	35	40%
Femmine	95	1.289	7,4%

Tab. 15: Sieroprevalenza di *T. gondii* nell'uomo nel distretto di Bormio rispetto al sesso.

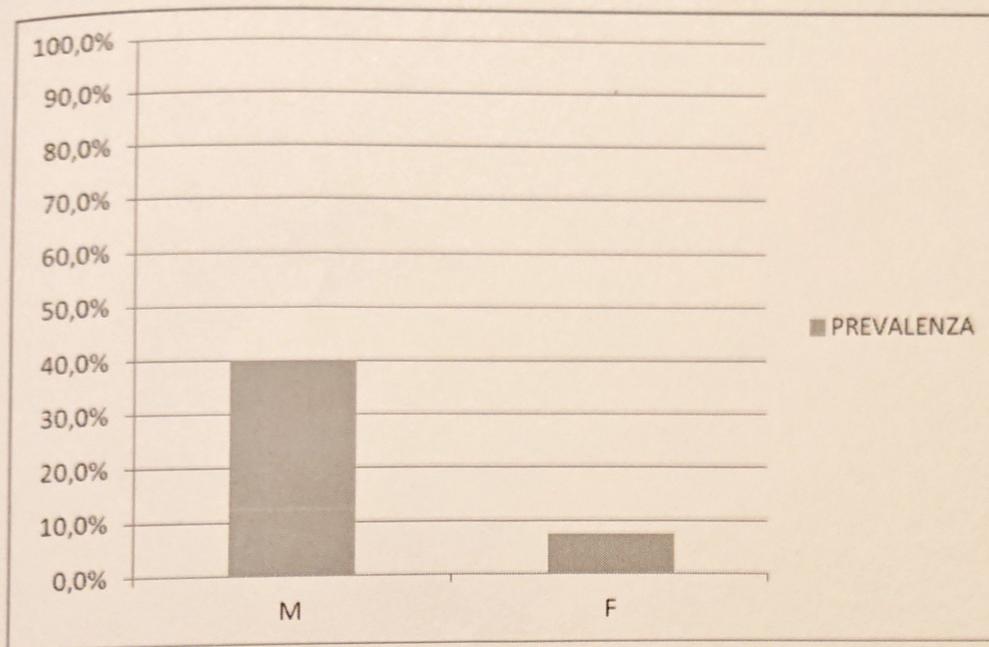


Grafico 15: Seroprevalenza di *T. gondii* nell'uomo nel distretto di Bormio rispetto al sesso.

CLASSE D'ETÀ	Positivi	Esaminati	Prevalenza
0-11 anni	1	5	20%
12-19 anni	6	14	42,9%
20-44 anni	97	1.285	7,5%
45-99 anni	5	20	25%

Tab. 16: Seroprevalenza di *T. gondii* nell'uomo nel distretto di Bormio rispetto alla classe d'età.

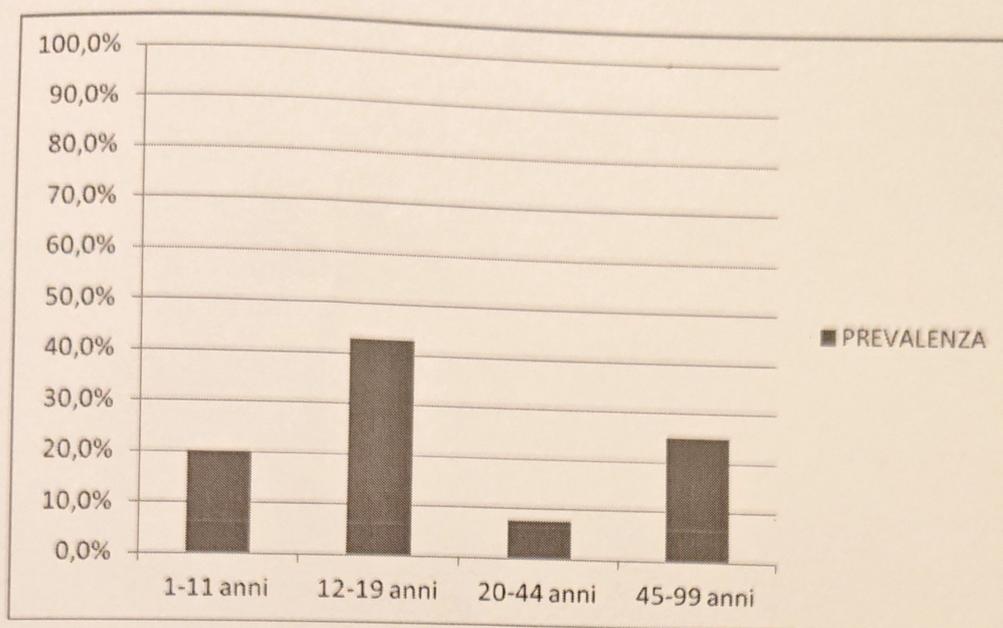


Grafico 16: Sieroprevalenza di *T. gondii* nell'uomo nel distretto di Bormio rispetto alla classe d'età.

Analizzando la popolazione maschile del distretto di Bormio, data la poca numerosità del campione, i risultati sono stati esposti solo a livello descrittivo, come anche per la popolazione femminile. In particolare i maschi infetti nella prima classe d'età sono 1 su 2, 4 su 9 tra i 12 e i 19 anni, 5 su 14 nella fascia 20-44 e 4 su 10 oltre i 45 anni (Tab. 17); per quanto riguarda le femmine non è stata riscontrata nessuna positività prima degli 11 anni, fino ai 19 anni 2 su 5 sono risultate positive e 1 su 10 oltre i 45 anni, nella fascia 20-44 i campioni analizzati sono stati 1.271 di cui 92 positivi ($p=7,2\%$) (Tab. 18).

MASCHI	Positivi	Esaminati	Prevalenza
0-11 anni	1	2	50%
12-19 anni	4	9	44,4%
20-44 anni	5	14	35,7%
45-99 anni	4	10	40%

Tab. 17: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei maschi nel distretto di Bormio rispetto alla classe d'età.

FEMMINE	Positivi	Esaminati	Prevalenza
0-11 anni	0	3	0%
12-19 anni	2	5	40%
20-44 anni	92	1.271	7,2%
45-99 anni	1	10	10%

Tab. 18: Sieroprevalenza di *T. gondii* nelle femmine nel distretto di Bormio rispetto alla classe d'età.

4.2 CONFRONTO TRA I CERVI 2012-2014

Per avere dei dati riguardanti la linea temporale nella specie cervo, sono stati confrontati i dati relativi all'anno 2014 con quelli ottenuti durante la prima sessione di abbattimento nel 2012. Per una maggiore conformità tra i dati, sono stati analizzati solo quelli riguardanti le sub-aree 1 e 2 nel periodo di novembre e dicembre, presenti per entrambi gli anni. I campioni inseriti nell'analisi statistica si sono quindi ridotti a 137 di cui 56 relativi al 2014 ($p=23,2\%$) e 81 all'anno 2012 ($p=39,5\%$) (Tab. 19 e Grafico 17). L'analisi statistica ha messo in evidenza un effetto dell'anno: i soggetti abbattuti nel 2012 sono significativamente più infetti di quelli del 2014 (Tab. 20). Inoltre considerando i dati complessivi, i piccoli sono significativamente meno infetti rispetto ai giovani ($p=0,009$) e agli adulti ($0,004$).

ANNO	Positivi	Esaminati	Prevalenza
2012	32	81	39,5%
2014	13	56	23,2%

Tab. 19: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei cervi rispetto all'anno di campionamento.

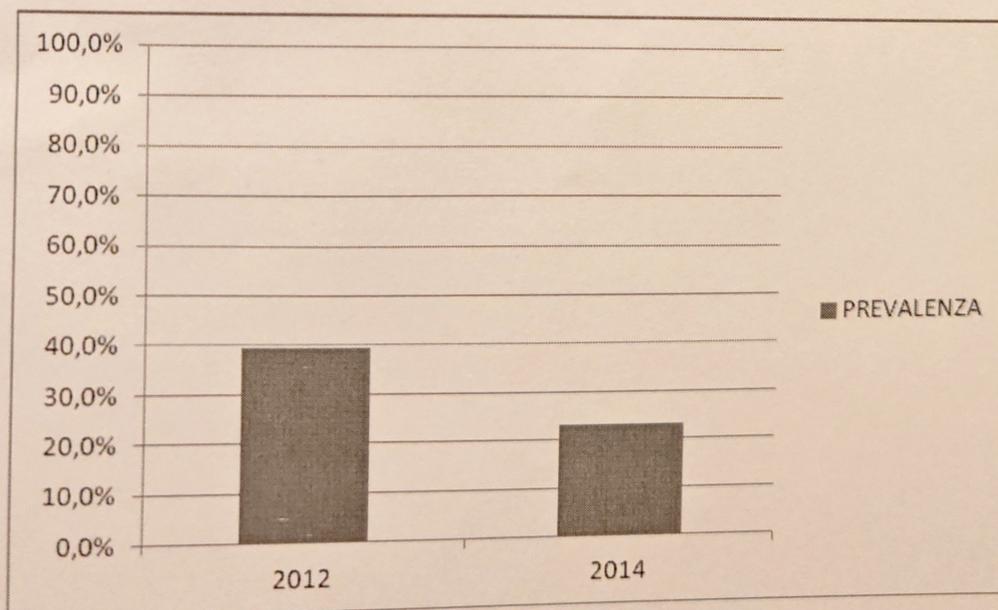


Grafico 17: Sieroprevalenza di *T. gondii* nei cervi rispetto all'anno di campionamento.

Fattori	Chi-quadrato di Wald	Df	Sig.
(Intercetta)	18,351	1	0,000
ANNO	4,577	1	0,032
CLASSE D'ETÀ	10,665	2	0,005
SUB-AREA	3,413	1	0,065

Tab. 20: Modello minimale dei fattori che influenzano la probabilità di essere infetti nei cervi del 2012 e del 2014.

5. DISCUSSIONE

Per quanto riguarda la circolazione di *T. gondii* nel gatto, la sieroprevalenza complessiva del 51% risulta superiore a quella del 30,5% riscontrata in gatti di colonia della Lombardia (Spada *et al.*, 2012) e del 44% riportata per Firenze (Mancianti *et al.*, 2010), ma comunque rientra nel range europeo compreso tra il 18,6% (Afonso *et al.*, 2006) e il 70,2% (Dorny *et al.*, 2002). Questi valori possono essere determinata dall'elevata possibilità di infettarsi soprattutto a causa delle abitudini alimentari dei soggetti in quanto, soprattutto quelli che vivono nelle aziende agricole, hanno un'alimentazione verosimilmente non di tipo commerciale e molto spesso si dedicano alla caccia di topi. Se questi micromammiferi sono infetti possono avere cisti tissutali, i gatti nutrendosene diventano eliminatori di oocisti che possono a loro volta infettare altri ospiti definitivi e intermedi, continuando così il ciclo (Hill e Dubey, 2002).

Considerando la presenza sporadica della lince (*Lynx lynx*), il gatto risulta l'unico ospite definitivo stanziale sul territorio del Parco e pertanto la diffusione della parassitosi è legata alla sua presenza. In particolare, le oocisti, forma infettante del protozoo, vengono emesse nell'ambiente e maturano in meno di 1 giorno restando infettanti nel terreno e nella sabbia per più di 18 mesi (Kijlstra e Jongert, 2008), in quanto sono molto resistenti alle diverse condizioni ambientali. Il gatto emette più di 100 milioni di oocisti nell'ambiente (EFSA, 2007) per non più di 1-3 settimane in tutta la vita (Mancianti *et al.*, 2010). Emerge quindi come la possibilità per i gatti di infettarsi non dipenda tanto dalla sua densità, ma bensì dalla presenza di oocisti infettanti sul territorio.

Dall'analisi statistica i valori di sieroprevalenza sono risultati sovrapponibili nelle 2 sub-aree. Va però considerata la diversa consistenza del campione e che nella sub-area 1, dove la densità di gatti è minore, dei 7 sieri esaminati ben 6 sono risultati positivi, con l'unico gatto negativo di età inferiore a un anno.

L'infezione è risultata statisticamente uniforme in tutte le classi di età. Questo risultato suggerirebbe pertanto la possibilità sia di una trasmissione orizzontale che verticale, d'altra parte va considerato il limitato campione di piccoli testati: in particolare dei 7 soggetti esaminati i 2 positivi appartengono alla stessa cucciolata di una femmina testata durante la gravidanza e risultata sieronegativa, deponendo quindi a favore di un trasmissione orizzontale. D'altra parte, considerando i limitati spostamenti dei gattini in questa fase di vita (3 mesi) e che le IgG vengono prodotte a 4 settimane dall'infezione (Luptakova *et al.*, 2012), non si può escludere a

priori una trasmissione per via galattogena (Powell *et al.*, 2001). Analogamente non può essere esclusa una trasmissione di tipo verticale per via venerea, come già dimostrato nel cane (Arantes *et al.*, 2009) data la presenza di un gatto maschio sieropositivo in azienda.

Relativamente al confronto tra i due sessi, nonostante il maggior home range dei gatti maschi (Meek, 2003), quindi potenzialmente più esposti al rischio d'infezione, la presente indagine non ha rilevato alcuna differenza.

La sieroprevalenza nel cervo riscontrata nel presente lavoro di tesi risulta in linea con quanto riportato in altri studi italiani (Gaffuri *et al.*, 2006, Magnino *et al.*, 2011; Riontino, 2015) ed europei (Vikøren *et al.*, 2004; Gauss *et al.*, 2006).

Quanto riscontrato rispetto alla sieroprevalenza più bassa con valori di KFI più elevati (cfr. Grafico 11), mostra che gli animali con una migliore condizione corporea, quindi con maggiori riserve energetiche, sono meno suscettibili alle infezioni (Vicente *et al.*, 2007); inoltre gli animali più deboli molto spesso si portano più vicini alle aree urbane alla ricerca di cibo e pertanto potrebbero essere maggiormente esposti all'infezione.

Considerando il fattore età, il riscontro di solo 2 piccoli positivi sui 45 esaminati, rispetto al 23,2% degli adulti, farebbe supporre che la trasmissione orizzontale sia la via di infezione principale nell'area di studio. Inoltre la differenza emersa tra l'infezione degli animali della sub-area 1 rispetto a quella dei soggetti delle altre due, farebbe supporre un suo minore livello di contaminazione ambientale. In questo senso il livello di antropizzazione inferiore nella sub-area 1 rispetto alla 2, potrebbe spiegare la minore densità di gatti e di conseguenza il minore rischio di esposizione dei cervi, legato anche alla loro minor densità.

Nel confronto coi risultati ottenuti nel 2012 ($p=39,5\%$) si nota subito una diminuzione significativa della prevalenza nel 2014. Il risultato potrebbe essere riconducibile alla diminuzione del numero di cervi, come effetto degli abbattimenti, e dal loro conseguente minor avvicinamento agli abitati urbani. In particolare, la diminuzione del numero di animali consegue in una maggiore facilità nel reperire il cibo, legata anche alla minore copertura nevosa e alle temperature più miti di quest'ultimo anno di campionamento. Mentre la prevalenza è rimasta costante nei piccoli, essa è diminuita negli adulti e ancora di più nei giovani. Questi dati confermano quanto già si era osservato nel 2012 riguardo una probabile trasmissione orizzontale della malattia, nel qual caso subentra necessariamente il ruolo del gatto come eliminatore di oocisti nell'ambiente e la sieropositività riscontrata nel gatto ha sicuramente un effetto sulle positività del cervo. Inoltre alcuni dei gatti analizzati, nella stagione estiva, vengono portati in

alpeggio e, se contraggono l'infezione in questo periodo, possono diffondere le oocisti in un territorio maggiormente frequentato dai cervi.

Il basso numero di piccoli e giovani infetti (n=6) nel 2014 rispetto al 2012 (n=12), può significare un calo della probabilità di nuove infezioni nell'area negli ultimi 2 anni e di conseguenza una minor contaminazione ambientale del patogeno, in quanto gli adulti potrebbero essere già infetti da prima del 2012 dato che le IgG rimangono a lungo in circolo, come dimostrato da studi effettuati sugli ovini dove risultano protettive verso l'infezione nelle gravidanze successive (Hide *et al.*, 2009).

Rispetto ai dati umani, la prevalenza distrettuale è sovrapponibile a quella a livello provinciale, in rapporto ad abitudini e cultura simili, entrambe risultano invece minori rispetto a quanto riportato sia negli altri Paesi del Sud Europa dove la prevalenza media varia dal 30 al 50% (Robert-Gangneux e Dardé, 2012), che considerando la situazione globale, con dati che oscillano tra il 25 e il 30% (Montoya e Liesenfeld, 2004), dati comunque molto variabili tra i diversi paesi e le diverse comunità (Pappas *et al.*, 2009).

L'analisi statistica sui soli soggetti di sesso maschile di tutta la provincia, ha messo in evidenza un aumento della probabilità di infettarsi legato al crescere dell'età. Questo potrebbe essere dovuto a un maggior periodo di esposizione al parassita e all'attuale incremento di attenzioni verso le pratiche igieniche che potrebbe aver diminuito la probabilità di contrarre la malattia, mentre in questa zona le persone più anziane sono spesso legate a uno stile di vita più rurale.

Queste tuttavia rimangono solo delle ipotesi, e non è possibile risalire alla reale fonte di infezione in quanto non si è potuto acquisire informazioni inerenti le abitudini dei pazienti soprattutto per quanto riguarda l'alimentazione.

6. CONCLUSIONI

I risultati emersi dal presente lavoro di tesi mettono in evidenza la presenza di *T. gondii* nell'area di studio con positività riscontrate sia nell'ospite definitivo gatto che in quelli intermedi, cervo e uomo.

Dall'analisi dei cervi dei due anni di studio, è emersa la positività degli adulti e degli animali di un anno facendo presupporre che la trasmissione orizzontale del patogeno sia la principale via di infezione in questa specie, anche se la trasmissione per via transplacentare non può comunque essere completamente esclusa. Questo risultato è stato confermato dai dati emersi per il gatto, i quali mostrano una diffusione omogenea del patogeno e quindi confermano la trasmissione del patogeno ai cervi per via orizzontale.

Rispetto al potenziale rischio zoonosico legato a queste sieropositività, i dati di prevalenza del distretto di Bormio hanno messo in evidenza dei valori piuttosto elevati nel campione maschile di tutte le classi di età e nelle femmine giovani, facendo presupporre un livello di contaminazione elevato. Sebbene la valutazione dell'effettiva trasmissione e conseguente infezione delle persone analizzate non è valutabile, considerando anche la globalizzazione che ha portato alla maggior movimentazione di persone e cibi, la presenza di gatti positivi nell'area i quali hanno accesso a orti e altri tipi di produzioni, potrebbe favorire l'esposizione al protozoo, nonostante l'applicazione delle più comuni pratiche igieniche impedirebbe la contrazione della patologia. Inoltre, considerando la presenza del protozoo nel cervo e le nuove abitudini alimentari, tra le quali il consumo di carne cruda o poco cotta (salsicce, bresaole, prosciutto crudo, carpacci), l'alimentazione con carne di cervo potrebbe essere un ulteriore fattore di rischio dato che è stato dimostrato che questa può trasmettere *T. gondii* (Dubey and Beattie, 1988), come anche la manipolazione delle carcasse durante l'eviscerazione e lo scuoiamento (Ross *et al.*, 2001). In questo senso l'elevata prevalenza riscontrata nella popolazione maschile potrebbe essere correlata all'attività venatoria agli ungulati, molto diffusa anche tra i giovani. Il rischio legato all'assunzione di carne di cervo non va visto solo in rapporto al consumo in ambito familiare, ma coinvolge una fascia di consumatori sempre più ampia a causa della vendita di carne alle attività commerciali.

Lo studio ha messo in evidenza anche come sia fondamentale la collaborazione tra medici in ambito umano e veterinari per quanto riguarda lo studio delle zoonosi, per integrare vicendevolmente le conoscenze, soprattutto quando queste coinvolgono parassiti dal ciclo

complesso di cui è difficile definire l'epidemiologia se si tengono separate le due materie. Nell'ambito di un approccio interdisciplinare la presente indagine ha confermato inoltre l'importanza di una attiva collaborazione tra le diverse competenze coinvolte nella gestione faunistica, nel caso specifico rispetto alla necessità di disporre di informazioni su caratteristiche del territorio, dati di censimento ed uso dello spazio da parte delle specie selvatiche, per le intrinseche implicazioni epidemiologiche.

Questa indagine ha portato a risultati già soddisfacenti, tuttavia è auspicabile che l'indagine possa continuare per meglio comprendere la dinamica di trasmissione del parassita e approfondire le interazioni tra le diverse specie ospite, uomo compreso.

7. BIBLIOGRAFIA

- Afonso E., Thulliez P., Gilot-Fromont E. (2006). Transmission of *Toxoplasma gondii* in a urban population of domestic cats (*Felis catus*). International Journal for Parasitology, 36, 1373-1382.
- Ajzenberg D., Cogné N., Paris L., Bessières M.-H., Thulliez P., Filisetti D., Pelloux H., Marty P., Darde M.-L. (2002). Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* Isolates Associated with Human Congenital Toxoplasmosis, and Correlation with Clinical Findings. The Journal of Infectious Diseases, 186, 684-689.
- Anderson A. E., Medin D. E., Bowden D. C. (1972). Indices of carcass fat in a Colorado mule deer population. The Journal of Wildlife Management, 36, 2, 579-594.
- Anderson R. M., May R. M. (1978). Population biology of infectious diseases: Part I. Nature, 280, 361-367.
- Arantes T. P., Zanetti Lopes W. D., Ferreira R. M., Pinto Pieroni J. S., Pinto V. M. R., Sakamono C. A., Da Costa A. J. (2009). *Toxoplasma gondii*: Evidence for the transmission by semen in dogs. Experimental Parasitology, San Diego, Academic Press Inc. Elsevier B.V., 123, 2, 190-194.
- Ballash G. A., Dubey J. P., Kwok O. C. H., Shoben A. B., Robison T. L., Kraft T. J., Dennis P. M. (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in White-Tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) and Free-Roaming Cats (*Felis catus*) Across a Suburban to Urban Gradient in Northeastern Ohio. EcoHealth, Springer.
- Caudullo G., De Battisti R., Colpi C., Vazzola C., Da Ronch F. (2003). Ungulate damage and silviculture in the Cansiglio Forest (Veneto Prealps, NE Italy). Journal for Nature Conservation, 10, 233-241.
- Cenci-Goga B. T., Rossitto P. V., Sechi P., McCrindle C. M. E., Cullor J. S. (2011). Toxoplasma in Animals, Food, and Humans: An Old Parasite of New Concern. Foodborne Pathogens and disease, 8, 7, 751-162.
- Comunicato stampa del parco nazionale dello Stelvio 13/02/2012.
- Cook A. J. C., Gilbert R. E., Buffolano W., Zufferey J., Petersen E., Jenum P. A., Foulon W., Semprini A. E., Dunn D. T. (2000). Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. BMJ, 321, 142-147.

- De Craeye S., Speybroeck N., Ajzenberg D., Dardé M. L., Collinet F., Tavernier P., Van Gucht S., Dorny P., Dierick K. (2010). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wildlife: Common parasites in Belgian foxes and Cervidae?. *Veterinary parasitology*, 5619, 6 pagine.
- Dorny R., Speybroeck N., Verstraete S., Baeke M., De Becker A., Berkvens D., Vercruyse J. (2002). Serological survey of *Toxoplasma gondii*, feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in urban stray cats in Belgium. *Veterinary Record*, 151, 626-629.
- Dryden G. McL. (2008). *Animal Nutrition Science*. CABI, 227.
- Dubey J. P. 2010. *Toxoplasmosis of animals and humans*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Dubey J. P., Beattie C. P. (1988). *Toxoplasmosis of Animals and Man*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 220.
- Dubey J. P., Jones J. L. (2008). *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, 38, 1257-1278.
- EFSA (2007). Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *The EFSA Journal*, 583, 1-64.
- Elmore S. A., Jones J. L., Conrad P. A., Patton S., Lindsay D. S., Dubey J. P. (2010). *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *TREPAR*, 920, 7.
- Fekadu A., Shibre T., Cleare A. J. (2010). Toxoplasmosis as a cause for behaviour disorders – overview of evidence and mechanisms. *Folia Parasitologica*, 57, 2, 105-113.
- Gaffuri A., Giacometti M., Tranquillo V. M., Magnino S., Cordioli P., Lanfranchi P. (2006). Serosurvey of Roe Deer, Chamois and Domestic Sheep in the Central Italian Alps. *Journal of Wildlife Diseases*, 42, 3, 685-690.
- Gajewski P. D., Falkenstein M., Hengstler J. G., Golka K. (2014). *Toxoplasma gondii* impairs memory in infected seniors. *Brain, Behavior, and Immunity*, 36, 193-199.
- Galvani A. P. (2003). Epidemiology meets evolutionary ecology. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18, 3, 132-139.
- Gauss C. B. L., Dubey J. P., Vidal D., Cabezo'n O., Ruiz-Fons F., Vicente J., Marco I., Lavin S., Gortazar C., Almeri'a S. (2006). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in red deer (*Cervus elaphus*) and other wild ruminants from Spain. *Veterinary parasitology*, 136, 193-200.
- Gortázar C., Ferroglio E., Höfle U., Frölich K., Vicente J. (2007). Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. *Eur J Wildl Res*, 53, 241-256.
- Guberti V., Zamboni L., Corrain R. (2003). Interventi di controllo numerico delle popolazioni recettive e dinamica delle infezioni. *J. Mt. Ecol.*, 7 (Suppl.), 75-84.

- Hechinger R. F., Lafferty K. D. (2005). Host diversity begets parasite diversity: bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. *Proceedings of the Royal Society B*, 272, 1059-1066.
- Hide G., Morley E. K., Hughes J. M., Gerwash O., Elmahaishi M. S., Elmahaishi K. H., Thomasson D., Wright E. A., Williams R. H., Murphy R. G., Smith J. E. (2009). Evidence for high levels of vertical transmission in *Toxoplasma gondii*. *Parasitology*, 136, 1877-1885.
- Hill D., Dubey J. P. (2002). *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect*, 8, 634-640.
- Howe D. K., Sibley L. D. (1995). *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *The Journal of infectious disease*, 172, 1561-1566.
- Hudson P. J., Dobson A. P., Lafferty K. D. (2006). *Trends in Ecology and Evolution*, 21, 7, 381-385.
- Jenkins E. J., Simon A., Bachand N., Stephen C. (2015). Wildlife parasites in a One Health world. *Trends in Parasitology*, xx, 1-7.
- Jokelainen P., Isomursu M., Näreaho A., Oksanen A. (2011). Natural *Toxoplasma gondii* infections in european brown hares and mountain hares in Finland: proportional mortality rate, antibody prevalence, and genetic characterization. *Journal of Wildlife Diseases*, 47, 154-163.
- Jokelainen P., Näreaho A., Knaapi S., Oksanen A., Rikula C., Sukura A. (2010). *Toxoplasma gondii* in wild cervids and sheep in Finland: North-south gradient in seroprevalence. *Veterinary Parasitology*, 171, 331-336.
- Jokelainen P., Nylund M. (2012). Acute Fatal Toxoplasmosis in Three Eurasian Red Squirrels (*Sciurus vulgaris*) Caused by Genotype II of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Wildlife Diseases*, 48, 454-457.
- Jones J. L., Kruszon-Moran D., Wilson M., McQuillan G., Navin T., McAuley J. B. (2001). *Toxoplasma gondii* Infection in the United States: Seroprevalence and Risk Factors. *American Journal of Epidemiology*, 154, 4, 357-365.
- Jones K.E., Patel N.G., Levy M.A., Storeygard A., Balk D., Gittleman J.L., Daszak P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451, 990-993.
- Karesh W. B., Dobson A., Lloyd-Smith J. O., Lubroth J., Dixon M. A., Bennett M., Aldrich S., Harrington T., Formenty P., Loh E. H., Machalaba C. C., Thomas M. J., Heymann D. L. (2012). Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. *The Lancet*, 380, 1936-1945.
- Kijlstra A, Jongert E. (2008). Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *Int. J. Parasitol.*, 38, 1359-1370.

- Kulken T., Leighton F. A., Fouchier R. A. M., LeDuc J. W., Peiris J. S. M., Schudel A., Stohr K., Osterhaus A. D. M. E. (2005). Pathogen surveillance in animals. *Science*, 209, 1680-1681.
- Lehrer E. W., Fredebaugh S. L., Schooley R. L., Mateus-Pinilla N. E. (2010). Prevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Woodchucks across an Urban-rural Gradient. *Journal of Wildlife Diseases*, 46, 3, 977-980.
- Lélou M., Langlais M., Poulle M.-L., Gilot-Fromont E. (2010). Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* along an urban-rural gradient. *Theoretical Population Biology*, 139-147.
- Luptakova L., Petrovova E., Mazensky D., Valencakova A., Balent P. (2012). Toxoplasmosis in Livestock and Pet Animals in Slovakia. *Intech*, 75-100.
- Magnino S., Frasnelli M., Fabbi M., Bianchi A., Zanoni M. G., Merialdi G., Pacciarini M. L. (2011). The monitoring of selected zoonotic diseases of wildlife in Lombardy and Emilia-Romagna, northern Italy. *Game meat hygiene in focus*, 223-244.
- Mancianti F., Nardoni S., Ariti G., Parlanti D., Giuliani G., Papini R. A. (2010). Cross-sectional survey of *Toxoplasma gondii* infection in colony cats from urban Florence (Italy). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 351-354.
- Mancianti F., Nardoni S., D'ascenzi C., Pedonese F., Mugnaini L., Franco F., Papini R. (2013). Seroprevalence, Detection of DNA in Blood and Milk, and Genotyping of *Toxoplasma gondii* in a Goat Population in Italy. *BioMed Research International*, 6 pagine.
- Margalida A., Donàzar J. A., Carrete M., Sánchez-Zapata J. A. (2010). Sanitary versus environmental policies: fitting together two pieces of the puzzle of European vulture conservation. *Journal of Applied Ecology*, 47, 931-935.
- Matthews F. (2009). Zoonosis in wildlife: Integrating Ecology into Management. *Advances in Parasitology*, 68, 185-209.
- Meek P. D. (2003). Home range of house cats *Felis catus* living within a National Park. *Australian Mammalogy*, 25, 51-60.
- Montoya J. G., Liesenfeld O. (2004). Toxoplasmosis. *Lancet*, 363, 1965-1976.
- Mustoni A., Pedrotti L., Zanon E., Tosi G. (2002). Ungulati delle alpi. *Biologia-riconoscimento-gestione*. Nitida immagine editrice.
- Pappas G., Roussos N., Falagas M. E. (2009). Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.*, 39, 1385-1394.
- Paskin R. (2002). Getting Wildlife in Perspective – Have We Thought Enough About Their Diseases?. *The Veterinary Journal*, 163, 111-112.

- Pearce B. D., Kruszon-Moran D., Jones J. L. (2012). The Relationship Between *Toxoplasma gondii* Infection and Mood Disorders in the Third National Health and Nutrition Survey. *Biol Psychiatry*, 72, 290-295.
- Pedrotti L., Gugiatti A. (2013). Comunicazione personale.
- Powell C. C., Brewer M., Lappin M. R. (2001). Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. *Veterinary Parasitology*, 102, 29-33.
- Raeghi S., Akaberi A., Sedeghi S. (2011). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Sheep, Cattle and Horses in Urmia North-West of Iran. *Iran J Parasitol.*, 6, 4, 90-94.
- Riontino S. (2015). Tesi di Laurea in Medicina Veterinaria, relatore Professore Lanfranchi P..
- Robert-Gangneux F., Dardé M.-L. (2012). Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 264-296.
- Ross R. D., Stec L. A., Werner J. C., Blumenkranz M. S., Glazer L., Williams G. A. (2001). Presumed acquired ocular Toxoplasmosis in deer hunters. *Retina, The Journal of Retinal and Vitreous Diseases*, 3, 226-229.
- Samuel W. M., Pybus M. J., Kocan A. A. (2001). Parasitic Diseases of Wild Mammals. Manson Publishing / The Veterinary Press, 2nd ed., 478-493.
- Spada E., Proverbio D., Della Pepa A., Perego R., Baggiani L., Bagnagatti DeGiorgi G., Domenichini G., Ferro E., Cremonesi F. (2012). Seroprevalence of feline immunodeficiency virus, feline leukaemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray cat colonies in northern Italy and correlation with clinical and laboratory data. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14, 6, 369-377.
- Thompson R. C. A., Kutz S. J., Smith A. (2009). Parasite Zoonoses and Wildlife: Emerging Issues. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 6, 678-693.
- Verin R., Mugnaini L., Nardoni S., Papini R. A., Ariti G., Poli A., Mancianti F. (2013). Serologic, molecular, and pathologic survey of *Toxoplasma gondii* infection in free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Italy. *Journal of Wildlife Diseases*, 49, 3, 545-551.
- Vicente J., Pérez-Rodríguez L., Gortazar C. (2007). Sex, age, spleen size, and kidney fat of red deer relative to infection intensities of the lungworm *Elaphostrongylus cervi*. *Naturwissenschaften*, 94, 581-587.
- Vikøren T., Tharaldsen J., Fredriksen B. (2004). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in wild red deer, roe deer, moose, and reindeer from Norway. *Veterinary parasitology*, 120, 159-169.
- www.stelviopark.it

8. RINGRAZIAMENTI

- Si ringrazia il Prof. Paolo Lanfranchi per i consigli e la pazienza nella stesura della tesi; la Dott.ssa Nicoletta Formenti e la Dott.ssa Tiziana Trogu per gli insegnamenti ricevuti e per i "cat-tour" in Valfurva.
- Si ringrazia la Direzione del Parco Nazionale dello Stelvio, Settore Lombardo, in particolare il Dott. Luca Pedrotti e il Dott. Alessandro Gugiatti che ci hanno permesso di effettuare il campionamento e ci hanno fornito i dati necessari; un grazie anche a Zano che ci ha seguito nel lavoro sul campo.
- Si ringrazia l'Azienda Ospedaliera della Valtellina e Valchiavenna, specialmente il Dott. Antonio Croce e il Dott. Gabriele Bordoni del Laboratorio Analisi per la pronta disponibilità e per averci fornito il database umano utilissimo per migliorare il nostro studio.
- Si ringraziano tutti i proprietari di gatti che ci hanno permesso di effettuare i prelievi nei loro animali; un particolare ringraziamento ai gatti che si sono prestati più o meno volentieri alla nostra ricerca.
- Si ringraziano i cacciatori che hanno collaborato nella raccolta dei campioni.

Ringrazio i miei genitori Lorenzo e Giovanna che mi hanno permesso di raggiungere questo traguardo e mi hanno sempre incoraggiata in questi anni di studio, ma soprattutto per avermi insegnato il rispetto per gli animali che mi ha guidata fino a qui.

Ringrazio mio fratello Elio per la sua serenità e il buon esempio che mi ha dato, nonché per l'ospitalità degli ultimi anni; e grazie ai miei fratellini Giorgio e Andrea per la loro gioia e spensieratezza tipica dei bambini e per aver fatto tornare un po' bambina anche a me.

Un grazie particolare a Manuel, mi sei stato sempre vicino nei momenti felici come in quelli più difficili, mi hai sostenuto, incoraggiato e aiutato negli studi e nella vita di tutti i giorni, riuscendo sempre a farmi sorridere; e grazie anche alla sua famiglia Pierin, Orietta e Luca che mi hanno aperto la porta della loro casa e della loro stalla.

Grazie alle vecchie amicizie Giulia, Simona perché nonostante il passare degli anni stare con voi è sempre piacevole; e un grazie anche al mio autista personale Linda.

Ringrazio i miei compagni di corso, in particolare Chiara, Elena, Gloria, Irene, Irene, Silvia, Vale, Maria non si potranno mai dimenticare tutte le ore passate insieme a lezione; un grazie anche ai compagni tesisti per tutto il lavoro svolto assieme.

Grazie alle mie coinquiline Elena e Letizia per la loro compagnia nelle lunghe serate milanesi e le deliziose cenette tutte insieme.

Ringrazio gli ormai colleghi del PSV Maciachini per avermi insegnato a mettere in pratica quello che sui libri è solo teoria.

Grazie a parenti e amici che aspettano la loro veterinaria.

E infine un grazie a tutti quelli che sicuramente ho dimenticato, perché non si offenderanno per la mia sbadataggine.