

EHRlichia CANIS: INDAGINE SIEROLOGICA NEL CANE

**VINCENZO CUTERI, PAOLA MEZZASOMA¹, LIVIA MOSCATTI², LORENZO BATTISTACCI²,
ROBERTO FALCONE³, PAOLA PRIORI¹, CAMILLO PIERAMATI¹, CARLO VALENTE¹**

Dipartimento Scienze Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Camerino

¹*Dipartimento Tecnologie e Biotecnologie delle Produzioni Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Perugia*

²*Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche, Perugia*

³*Libero Professionista, Barletta (BA)*

Riassunto

La infezione da *Ehrlichia* nel cane o Pancitopenia Tropicale, trasmessa da zecche, è causata da *Ehrlichia canis*, parassita intracellulare obbligato che infetta i globuli bianchi, in modo particolare i monociti, e talvolta anche il midollo osseo tanto da esitare in pancitopenia. La malattia in fase acuta è caratterizzata da febbre, inappetenza, anemia, dimagrimento, disturbi respiratori, collasso e può risultare fatale.

Attualmente non sono disponibili vaccini per cui è indispensabile evitare il contatto con le zecche vettrici.

Sono stati esaminati, mediante il test di immunofluorescenza indiretta, 1000 campioni di sangue prelevati da cani di età e razza diversa provenienti dal sud Italia. Il 13,5%, 135 campioni, sono risultati positivi con titoli variabili da 1:25 a 1:12.800. I risultati ottenuti sono più alti di quelli riportati in indagini analoghe svolte in regioni del centro e nord Italia dove le zecche sono meno frequenti. In ogni caso i risultati ottenuti, probabilmente, non sono correlati con la malattia.

Summary

Tropical Canine Pancytopenia (TCP) or ehrlichiosis is a tick-borne disease caused by *Ehrlichia canis*, a rickettsial obligate intracellular organism that primarily infects the white blood cells, especially the mononuclear phagocyte cells, then involves other organs, including the bone marrow, and results in a pancytopenia.

Most dogs will recover from an acute infection and develop medium-term immunity. However some immune-depressed animals, who cannot eliminate the organism, progress to a chronic diseases where haemorrhages due to thrombocytopenia are manifest as melena, epistaxis and haemorrhagic purpura. Depression, chronic weight loss, abdominal discomfort, oedema, ocular and neurological disturbances may also be observed. Untreated chronic infections frequently result in death. There is no vaccination available for *E. canis*. The only effective prevention is minimising exposure to the tick vector. Early diagnosis and treatment of the disease are essential. One thousand blood samples were collected from dogs at different age. The indirect immunofluorescence test was used and 135 (13,5%) samples gave positive results. The value is higher of those reported in central and northern regions of Italy where the tick are less frequent. The serological titres varied between 1:25 and 1:12,800.

INTRODUZIONE

La infezione da *Ehrlichia* nel cane è stata descritta per la prima volta in Algeria nel 1935, successivamente nel 1938 in Sud Africa e nel 1939 nel Libano e nel Congo Francese; solo nel 1957 nelle Antille Neozelandesi e più recentemente, nel 1987, anche in Italia, Francia e Grecia². Molte ricerche dimostrano la presenza di questa infezione in Svezia, Sud Africa, USA, Svizzera, Israele, Giappone, Germania, Egitto e

Tunisia^{9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19}. Oggi l'infezione da *Ehrlichia canis* è diffusa in tutto il mondo o comunque in tutte le aree in cui è presente il vettore, *Rhipicephalus sanguineus*.

Eziologia

Ehrlichia canis, appartenente all'ordine *Rickettsiales* (Tab. 1), è un parassita intracellulare a prevalente morfologia sferica o cocco-bastoncellare di dimensioni variabili da 0,2 – 0,3 X 0,5 – 1,5 µm, Gram negativo o blue porpora se colorato con Romanovsky⁵; moltiplica per scissione binaria all'interno dei monociti dell'ospite¹⁶. Nonostante la di-

¹Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 3/9/2001 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 28/02/2002".

Tabella 1
Collocazione tassonomica di *Ehrlichia*

Ordine	Famiglia	Tribù	Genere	Specie
<i>Rickettsiales</i>	<i>Rickettsiaceae</i>	<i>Ehrlichiae</i>	<i>Ehrlichia</i>	<i>E. canis</i> <i>E. chaffeensis</i> <i>E. phagocytophila</i> <i>E. equi</i> <i>E. risticii</i> <i>E. ewingii</i> <i>E. muris</i> <i>E. sennetsu</i>

pendenza metabolica i microrganismi dell'ordine *Rickettsiales* possono sopravvivere, non oltre le 48 ore, a temperatura ambiente, al di fuori dell'ospite¹. Tutte le specie del genere *Ehrlichia* parassitano i leucociti dei relativi ospiti vertebrati, uomo compreso.

Ehrlichia canis è fortemente ospite specifica tanto che, anche *in vitro*, predilige per lo sviluppo colture cellulari di cane, anche se recentemente è stata adattata a macrofagi peritoneali di topo in linea continua¹⁶.

Tra le diverse specie di *Ehrlichia* esistono numerose correlazioni antigeniche.

Epidemiologia e trasmissione

Ehrlichia canis viene trasmessa da zecche del genere *Rhipicephalus* le quali possono ospitare il microrganismo fino ad oltre 5 mesi, costituendo quindi il principale vettore e serbatoio di infezione⁴.

L'infezione della zecca può avvenire in ciascuno dei suoi tre stadi di sviluppo, larva, ninfa ed adulto e la trasmissione si realizza sia per via transovarica che transtadiale³.

Rhipicephalus sanguineus è in grado di trasmettere anche altri parassiti tra cui *Babesia canis*, per cui sono frequenti le infezioni miste^{2, 3}.

I cani ammalati in forma cronica ed i portatori cronici asintomatici, in condizioni sperimentali, mediante trasferimento di sangue, possono veicolare l'infezione a soggetti sani anche dopo anni³.

È possibile quindi il rischio di trasmissione iatrogena dell'infezione attraverso trasfusioni di sangue proveniente da cani non controllati³. Alcune razze, Pastore tedesco e Bobtail, sembrano essere particolarmente predisposti alla malattia².

La zecca, dopo la moltiplicazione di *Ehrlichia* nelle proprie ghiandole salivari e nell'intestino tenue, compie il pasto di sangue sull'ospite e contamina, con le secrezioni salivari, il sito di suzione.

Nonostante l'attiva moltiplicazione del parassita in sede intestinale non è stata dimostrata la capacità della zecca di trasmettere il contagio con le feci².

È possibile inoltre che insetti o altri ectoparassiti come zanzare e pulci, possano veicolare il contagio se, al momento del loro pasto di sangue, *Ehrlichia* si trova in fase di moltiplicazione all'interno del torrente circolatorio del cane, quindi ad una concentrazione elevata, condizione che si verifica solo per un periodo transitorio, dopo circa due settimane dal morso infetto³.

Anche per la zecca la possibilità di assumere il parassita da un cane è limitata alle prime due settimane di infezione².

Patogenesi

Nessuna specie animale oltre ai canidi è recettiva, sia naturalmente che sperimentalmente, all'infezione da *E. canis*.

Il ciclo vitale di *E. canis* non è ancora del tutto conosciuto mentre è accertato che, sia nella zecca che nelle cellule dei vertebrati, gli stadi di sviluppo sono molto simili³.

L'infezione inizia con l'adesione del parassita, sotto forma di *corpo elementare* di 0,5 – 0,9 µm, alla membrana cellulare la quale ingloba i microrganismi formando vacuoli citoplasmatici ripieni dei corpi elementari stessi.

All'interno dei vacuoli i corpi elementari moltiplicano, per scissione binaria, aumentando di volume fino a 2,5 µm per configurarsi come *corpi iniziali* dai quali prendono origine *morule mature* in cui si distinguono i corpi elementari di nuova formazione. A questo punto i parassiti fuoriescono per rottura della membrana cellulare o per esocitosi².

L'evoluzione patogenetica viene condizionata soprattutto da una alterazione della risposta immunitaria, sia cellulare che umorale, con conseguente colonizzazione dei monociti dell'ospite².

Gli eventi patogenetici più importanti che caratterizzano l'infezione acuta da *E. canis* sono la penetrazione del parassita nei monociti circolanti secondo un meccanismo di fagocitosi; la scissione binaria all'interno della cellula ospite e la successiva diffusione di *Ehrlichia* negli organi contenenti cellule mononucleate, milza, fegato e linfonodi, che dopo l'infezione tendono ad aumentare di volume². Infine il processo si completa con la diffusione massiva di *Ehrlichia* in altri organi quali polmone, rene, meningi con formazione di manicotti perivascolari, con infiltrazione di linfociti e plasmacellule, e raramente trombosi, ipertrofia delle cellule endoteliali e microvasculite sistemica².

Non sono invece ancora conosciuti i meccanismi che provocano glomerulopatia reversibile e conseguente ipoalbuminemia².

Il superamento della fase acuta, della durata di 6-9 settimane, segna l'inizio del periodo subclinico, che può durare dai 2 mesi ai 4-5 anni². Il soggetto immunocompetente è in grado di eliminare il parassita in caso contrario si ha il passaggio alla forma cronica.

Nella malattia subclinica la penetrazione di *Ehrlichia* nei macrofagi avverrebbe attraverso recettori specifici per le frazioni Fc delle immunoglobuline o C3b del complemento situati sulla superficie delle cellule bersaglio.

L'azione di *E. canis* sul sistema immunitario dell'ospite sarebbe in grado di modulare le sub-popolazioni di linfociti T CD4 e T CD8 ed in modo particolare stimolando i linfociti Th2, i quali favorirebbero la progressione dell'infezione liberando IL-4 e IL-5 che richiamano macrofagi immaturi con scarso potere immunitario e più facilmente attaccabili dal parassita.

Molto spesso alla fase subclinica segue la forma cronica in cui si stabilisce un equilibrio precario tra l'ospite ed il parassita per cui qualunque causa debilitante, immunodepressione, infezioni intercorrenti, condizioni di vita precaria, interventi chirurgici, oltre all'età, alla predisposizione di razza, ed alla patogenicità del ceppo di *E. canis*, può provocare la riacutizzazione della malattia².

Sintomatologia

La sintomatologia compare dopo 8 – 20 giorni dall'infezione² ed è caratterizzata da una fase acuta, una subclinica ed un ultimo stato cronico, che comprende a sua volta una forma con infezione persistente benigna ed una forma cronica grave denominata *pancitopenia tropicale*.

Nella fase acuta compare ipertermia intermittente, fino a 41°C, anoressia, dimagrimento, depressione del sensorio, linfoadenomegalia, splenomegalia, congiuntivite, ipersecrezione oculo-nasale di tipo muco - purulenta, polmonite, edemi ventrali ed atassia, iperemia delle mucose apparenti, paraplegia, erosioni cutanee e flautolenza.

In questa fase uno striscio di sangue, colorato con il metodo Machiavello, può evidenziare nei monociti, linfociti e solo raramente nei neutrofilii, inclusioni citoplasmatiche di colore rosso porpora su fondo blu; meno adatte sono le colorazioni di Romanowsky e May-Grunwald Giemsa, in cui le inclusioni appaiono blu.

La trombocitopenia rappresenta un carattere costante ma raramente di entità tale da provocare emorragie apparenti.

Se non sopravvivono infezioni secondarie la malattia evolve verso la forma inapparente.

La malattia acuta dura 2-4 settimane e nei soggetti immunocompetenti tende ad estinguersi mentre negli altri casi subentra una fase subclinica che può riacutizzarsi in seguito a debilitazioni organiche.

La forma cronica può persistere per anni e manifestarsi con sintomi generici quali letargia ed appetito selettivo². L'animale immuno-compromesso va incontro a dimagrimento, marcata depressione, talora febbre oltre a petecchie emorragiche sulle mucose e sulla cute. Le emorragie possono coinvolgere anche altri apparati e provocare epistassi, ematuria, melena, anemia grave e shock ipotensivo^{1,2}.

Si possono osservare anche sintomi nervosi come conseguenza di emorragie, che, per la fuoriuscita di sangue, a seguito di compressione alle meningi e al midollo spinale, possono provocare iperestesia localizzata o generalizzata, atassia e tetraparesi.

Frequenti sono le lesioni oculari con conseguente uveite anteriore, opacamento ed edema corneale legato a fenomeni immunomediati ed emorragie sub-retiniche con distacco della retina in relazione alla trombocitopenia.

Sono frequenti casi atipici di malattia caratterizzati da un unico sintomo grave che può presentarsi solo o associato ad ascite, crisi convulsive, dermatiti eritematose in presenza di febbre, anemia e trombocitopenia².

A causa dell'immunodepressione altre infezioni, quali babesiosi, hepatozoonosi ed emobartonellosi, possono sovrapporsi ed aggravare il quadro clinico.

Nelle forme acute, le lesioni anatomico-patologiche, non sono specifiche ed evidenziano adenomegalia, splenomegalia e polmoniti mentre nelle forme croniche prevalgono emorragie diffuse⁴.

Istologicamente si apprezza iperplasia linforeticolare e manicotti perivascolari con infiltrazione di linfociti e plasmacellule a carico delle meningi, reni e tessuti linfopoietici^{2,4}.

Diagnosi

A causa della varietà dei sintomi la diagnosi clinica si presenta difficoltosa.

Nel cucciolo l'ipertermia e la leucopenia, possono far sospettare il cimurro o l'epatite da *Adenovirus*, ma in queste ultime forme morbose, la trombocitopenia, costante nella ehrlichiosi, è molto rara². L'ipertermia e la linfoadenopatia possono far pensare anche ad altre forme infettive⁴.

Nella fase acuta la sintomatologia è caratterizzata da ipertermia e trombocitopenia di modesta entità come nella infezione sostenuta da *Rickettsia rickettsii*. Uno striscio colorato, allestito dal *buffy-coat*, può consentire di evidenziare i parassiti all'interno dei leucociti sotto forma di inclusioni citoplasmatiche.

Nella fase cronica di malattia prevalgono i fenomeni emorragici ed una alterazione dei fattori della coagulazione, che aiutano ad escludere altre anomalie coagulative. Le alterazioni proteiche, nella forma cronica, sono abbastanza caratteristiche e spesso sono associate, oltre che a fenomeni emorragici, a manifestazioni nervose ed oculari che vanno differenziate da malattie infettive a carattere cronico e da malattie linfoproliferative neoplastiche.

In questa fase è importante verificare il titolo anticorpale sia per *Ehrlichia* che per *Leishmania* e *Babesia canis*, tutte infezioni che spesso possono coesistere nello stesso soggetto.

La metodica sierologica più utilizzata è l'immunofluorescenza indiretta con impiego di cellule infette come antigene.

Nella fase acuta della malattia non sempre è possibile riscontrare un elevato titolo anticorpale per cui è bene ripetere la prova dopo 15 – 20 giorni.

La presenza di *IgM* ed *IgA* è dimostrabile, in condizioni sperimentali, dopo 7 giorni dall'infezione, mentre per le *IgG* bisogna attendere 21 giorni ed il titolo più alto si raggiunge dopo 80 giorni².

Nell'infezione acuta spontanea, i titoli anticorpali possono raggiungere valori di 1:10.000, mentre nelle forme croniche possono essere anche superiori².

A seguito della terapia e quindi all'eliminazione del parassita dall'organismo, il titolo anticorpale e l'iperglobulinemia scendono progressivamente in 3 - 9 mesi. La persistenza o l'aumento del titolo anticorpale possono dipendere dalla mancata eliminazione del parassita dall'organismo nonostante la terapia oppure da una successiva reinfezione.

Esiste una reattività sierologica crociata all'interno del genere *Ehrlichia* con un titolo anticorpale più elevato nei confronti della specie omologa².

Negli animali con alti titoli anticorpali si è inoltre riscontrata una certa reattività anche nei confronti di leucociti non infetti a causa di fenomeni auto-immunitari indotti dall'infezione².

Nei sieri analizzati mediante IFI, la correlazione antigenica tra *E. canis* ed *E. equi* appare modesta mentre è più stretta nei confronti di *E. chaffeensis*, anche se la differenza del titolo tra antigene omologo ed eterologo risulta solitamente superiore di due - otto volte^{2,11}.

Molto sensibili si sono dimostrati un test ELISA ed il Western Blot allestito con antigene purificato di *E. canis*⁸.

La presenza di anticorpi anti-*Ehrlichia*, in soggetti asintomatici, è una evenienza frequente che deve suggerire l'inserimento di ehrlichiosi nella diagnosi differenziale.

L'infezione sperimentale della malattia si realizza inoculando sangue *in toto* infetto.

Profilassi

Non essendo disponibile un vaccino per controllare l'infezione da *Ehrlichia* si deve mettere in atto una profilassi diretta tesa a contrastare la trasmissione del contagio da parte della zecca. Vengono pertanto suggerite disinfestazioni ambientali, soprattutto in tarda primavera-estate, nei luoghi frequentati dai cani oltre naturalmente il controllo dell'infestazione direttamente sul cane con l'utilizzo di molecole antiparassitarie.

Terapia

Il trattamento terapeutico si basa sull'impiego di alcuni farmaci come tetraciclina, doxiciclina e imidocarbopropionato da somministrare per tempi lunghi. Queste molecole sono in grado di eliminare il parassita, in percentuale elevata, sia nei cani ammalati che in quelli con forme sub-cliniche^{7,10}.

Spesso nelle forme croniche è necessaria una terapia di supporto a causa delle cattive condizioni generali degli animali tanto che può rendersi necessaria una trasfusione di sangue e la somministrazione di steroidi androgenici per stimolare la produzione di cellule da parte del midollo osseo⁷.

PARTE SPERIMENTALE

Sulla base della sempre maggiore diffusione nel cane della infezione da *Ehrlichia*, è stato ritenuto opportuno svolgere una indagine sierologica, riferita ad una campionatura di soggetti provenienti prevalentemente da regioni del sud Italia, considerando che proprio in queste aree si riscontra una maggiore incidenza della malattia.

MATERIALI E METODI

Animali e raccolta dei campioni

Sono stati prelevati, mediante puntura alla giugulare, 1000 campioni di sangue e, dopo centrifugazione, il siero è stato conservato a -20°C fino al momento dell'utilizzo.

I cani coinvolti erano rappresentati da 560 maschi e 440 femmine. Le fasce di età comprendevano 24 soggetti fino a sei mesi di età, 309 cani tra i 7 mesi ed i 2 anni, 440 soggetti dai 3 agli 8 anni ed infine 227 di età superiore agli 8 anni.

Relativamente alla razza, la maggior parte dei cani era meticcia (35,3%), quindi il Pastore tedesco (12,8%), lo Yorkshire terrier (10,2%), il Volpino italiano (6%), il Pastore maremmano (3%), mentre le altre razze erano rappresentate in percentuali minori.

La maggior parte dei cani viveva in ambito cittadino e veniva portata in ambulatorio per controlli routinari o per interventi medici o chirurgici di varia natura.

Immuno-fluorescenza indiretta (IFI)

L'antigene era costituito da una sospensione cellulare di monociti di topo, 2×10^6 cellule/ml, infettate da *Ehrlichia canis* e inattivate con formolo.

I sieri di cane, dopo essere stati scongelati, venivano diluiti con tampone PBS e distribuiti in pozzetti, ai quali precedentemente era stato fatto adsorbire l'antigene e quindi venivano posti ad incubare a 37°C per 30 minuti. Successivamente al sistema venivano aggiunte anti-IgG di cane coniugate con isotiocianato di fluoresceina e si incubava di nuovo a 37°C per 30 minuti.

La lettura dei risultati veniva eseguita con microscopio a fluorescenza, facendo riferimento ai sieri di referenza sia positivo che negativo.

I sieri positivi con valore di 1:25 venivano ulteriormente diluiti per definirne il titolo.

RISULTATI

Dei 1000 sieri di sangue esaminati con il metodo IFI, 135 sono risultati positivi.

Per procedere all'analisi statistica dei dati secondo un modello lineare, i titoli anticorpali sono stati trasformati su una scala logaritmica in base 2, come riportato nella Tabella 2.

Gli animali sono stati suddivisi in 4 classi in base all'età, come riportato nella Tabella 3.

L'analisi statistica è stata effettuata con la Procedura GLM del software SAS.

Tabella 2
Trasformazione dei titoli anticorpali in scala logaritmica base 2

Titolo anticorpale	Valore nella scala logaritmica	Numero di osservazioni
<1:25	0	865
1:25	1	73
1:50	2	22
1:100	3	27
1:200	4	4
1:400	5	4
1:1600	7	4
1:12800	10	1

Tabella 3
Suddivisione degli animali in 4 classi in base all'età

Età	Classe	Numero di osservazioni
fino ai 6 mesi compresi	cuccioli	24
dai 7 mesi ai 2 anni	giovani	309
dai 3 agli 8 anni compresi	adulti	440
oltre gli 8 anni	anziani	227

Attraverso l'analisi della varianza è stata preliminarmente accertata, limitatamente agli animali riconducibili a razze pure, la non significatività dell'effetto sul titolo anticorpale di tre ipotetici fattori: il tipo morfologico (4 livelli: Lupoidi; Molossoidi; Braccoidi; Graioidi), il gruppo attitudinale (4 livelli: cani da pastore, guardia, difesa ed utilità; cani da caccia; cani da compagnia; cani da corsa) e la taglia (3 livelli: grande e gigante, per razze con maschi adulti più alti di 65 cm al garrese; media, per razze con maschi adulti fra i 65 ed i 40 cm di altezza; piccole, nane e bassotti, per razze con maschi sotto i 40 cm). Relativamente al gruppo attitudinale, per alcune razze l'effettivo utilizzo tende ad essere diverso da quello ufficiale come il caso di razze da caccia o pastore che vengono utilizzate come animali da compagnia.

Successivamente, sempre mediante analisi della varianza, è stata esclusa la significatività delle differenze fra animali riconducibili a razze pure ed animali meticci, fra animali maschi e femmine (560 maschi e 440 femmine), nonché fra età diverse.

A motivo della ridotta numerosità di alcuni livelli, si è proceduto a raggruppare le razze in 4 livelli (pastore tedesco: 128 osservazioni; yorkshire: 102 osservazioni; altre razze pure: 417 osservazioni; meticci: 353 osservazioni) e le regioni in 3 livelli (Puglia: 484 osservazioni; Umbria: 260 osservazioni; Basilicata, Calabria, Campania e Lazio: 256 osservazioni). Nel modello finale, malgrado non siano significativi, è stato stabilito di riportare gli effetti del sesso

($P=0,33$) e dell'età ($P=0,31$), per tener conto degli sbilanciamenti fra i fattori.

Il fattore razza ed il fattore area geografica sono risultati entrambi significativi ($P<0,001$). Le medie stimate con i relativi errori standard e la significatività delle differenze sono riportate nella Tabella 4.

Tra i 135 campioni positivi il titolo sierologico 1:25 è stato il più frequente; le distribuzioni dei titoli sono illustrate nelle Tabelle 5 e 6.

CONCLUSIONI

Cani di tutte le razze e di ogni età, anche se in percentuale diversa, possono essere interessati dall'infezione da *Ehrlichia canis*.

Talvolta la risposta immunitaria, anche a causa delle alterazioni che possono stabilirsi a livello del midollo osseo, potrebbero essere deboli e variabili e quindi non consentire di individuare animali che in precedenza avrebbero potuto avere contatto con *Ehrlichia*.

La fase subclinica della malattia è caratterizzata dalla persistenza antigenica che inevitabilmente causa un aumento del titolo anticorpale il quale, se pur utile ai fini diagnostici, non è in grado di conferire uno stato di protezione. In questi casi, nonostante una terapia mirata, si può assistere ad un aggravamento dei sintomi, facendo ipotizzare che siano gli stessi anticorpi a favorire l'evoluzione dell'infezione.

Tabella 4
Medie stimate con i relativi errori standard e significatività delle differenze inerenti il fattore razza ed il fattore area geografica

REGIONE	titolo nella scala logaritmica	RAZZA	titolo nella scala logaritmica
Puglia	0,361 ± 0,061 bB	Pastore tedesco	0,236 ± 0,087 aAB
Umbria	0,111 ± 0,070 aA	Yorkshire terrier	0,513 ± 0,096 bB
Basilicata, Calabria, Campania e Lazio	0,308 ± 0,071bAB	Altre razze	0,131 ± 0,061 aA
		Meticci	0,159 ± 0,064 aA

[medie nella stessa colonna con lettere diverse differiscono (ab: $P<0,05$; AB: $P>0,001$)]
[risultati entrambi significativi ($P<0,001$)]

Tabella 5
Distribuzione dei titoli in base alla regione di provenienza dei campioni

REGIONE	<1:25	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:1600	1:12800
Puglia	406	41	11	17	2	3	3	1
Umbria	241	12	5	2	0	0	0	0
Basilicata, Calabria, Campania e Lazio	218	20	6	8	2	1	1	0

Tabella 6
Distribuzione dei titoli in base alla razza

RAZZA	<1:25	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:1600	1:12800
Pastore tedesco	106	10	7	5	0	0	0	0
Yorkshire terrier	75	11	7	6	0	2	1	0
Altre razze	377	24	5	3	3	1	3	1
Meticci	307	28	3	13	1	1	0	0

In questa indagine è stata evidenziata una notevole variabilità dei titoli; il valore di positività più basso riguarda un numero elevato di soggetti, mentre i campioni con titoli superiori a 200 sono in numero modesto.

A motivo del tipo di indagine epidemiologica svolta, la differenza di positività fra le diverse razze, con una relativa prevalenza nello Yorkshire terrier, è probabilmente dovuta alla diversa sollecitudine e premura dei proprietari nel far visitare il proprio animale.

Non si conosceva lo stato clinico degli animali pertanto i titoli sierologici non possono essere associati alle diverse forme di malattia; presumibilmente, soprattutto per i soggetti con valori bassi, si trattava di animali clinicamente sani ma con probabili infezioni croniche.

Buona parte degli animali, dai quali è stato prelevato il sangue, era stata sottoposta a visita veterinaria pur in mancanza di condizioni cliniche riportabili ad infezione da *Ehrlichia*.

La maggior parte dei campioni di sangue proveniva da animali situati in regioni del sud Italia in cui le condizioni di sopravvivenza dell'ospite intermedio, la zecca, sono più favorevoli, giustificando così la elevata percentuale di positività riscontrata, contrariamente a quanto riportato in alcune regioni del centro²⁰ e nord Italia²¹, in cui i valori sierologici da *Ehrlichia* erano più bassi.

Parole chiave

Ehrlichia canis, anticorpi, immunofluorescenza.

Key words

Ehrlichia canis, antibodies, immunofluorescence.

Bibliografia

- Genchi C, Pennini MG, Ceci L: Babesiosi ed Ehrlichiosi. Schering-Plough Animal Health, Milano, 12-20, 1999.
- De Caprariis D, Gravino E, Cerandolo R, Buonavoglia C: Le infezioni del genere Ehrlichia nel cane. Veterinaria 4: 19-34, 1995.
- Ettinger SJ. In: Trattato di medicina interna veterinaria del cane e del gatto. Ed. SBM, 1988, pp 303-304.
- Il manuale Merck veterinario. Ed. Agricole, pp 466-467, 1995.
- Farina R, Scatozza F. In: Trattato di Malattie infettive degli animali (2^a ed.) UTET, 1998, pp 440-442.
- Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH: Diagnostica clinica dei piccoli animali e referti di laboratorio. Ed. SBM, 1994, pp 337-365.
- Adelus F: Le malattie del cane trasmesse dalle zecche. Professione Veterinaria, 1-6: 13-14, 1995.
- Suksawat J, Hegarty BC, Breitschwerdt EB: Seroprevalence of Ehrlichia canis, Ehrlichia equi and Ehrlichia risticii in sick dogs from North Carolina and Virginia. J. Vet. Intern. Med. 14(1): 50-5, 2000.
- Egenvall A, Bonnett BN, Gunnarsson A, et al: Sero-prevalence of granulocytic Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in Swedish dogs 1991-94. Scand. J. Infect. Dis. 32(1): 19-25, 2000.
- Frank JR, Breitschwerdt EB: A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. J. Vet. Intern. Med. 13(3): 194-201, 1999.
- Pretorius AM, Kelly PJ: Serological survey for antibodies reactive with Ehrlichia canis and Ehrlichia chaffeensis in dogs from the Bloemfontein area, South Africa. J. S. Afr. Vet. Assoc. 69(4): 126-128, 1998.
- Pusterla N, Deplazes P, Braun U, Lutz H: Serological evidence of infection with Ehrlichia spp. in red foxes (Vulpes vulpes) in Switzerland. J. Clin. Microbiol. 37(4): 1168-9, 1999.
- Waner T, Strenger C, Keysary A, Harrus S: Kinetics of serologic cross-reactions between Ehrlichia canis and Ehrlichia phagocytophila genogroups in experimental Ehrlichia canis infection in dogs. Vet. Immunol. Immunopathol. 66(3-4): 237-243, 1998.
- Murphy GL, Ewing SA, Whitworth LC, et al: A molecular and serologic survey of Ehrlichia canis, Ehrlichia chaffeensis, and Ehrlichia ewingii in dogs and ticks from Oklahoma. Vet. Parasitol. 79(4): 325-339, 1998.
- Iokuma H, Yamamoto S, Morita C: Survey of tick-borne diseases in dogs infested with Rhipicephalus sanguineus at a kennel in Okajama Prefecture, Japan. J. Vet. Med. Sci. 60(6): 761-763, 1998.
- Valente C. In: Malattie infettive degli animali domestici ad eziologia batterica (Vol. 1) Ed. Margiacchi, 1995, pp 106-109.
- Gothe R. Ehrlichia canis infections of dogs in Germany. Epidemiology, diagnosis, therapy and prophylaxis. Tierarztl. Prax. Ausg. Klientiere Heimtiere 26(6): 396-401, 1998.
- Botros BA, Elmolla MS, Salib AW, et al: Canine ehrlichiosis in Egypt: sero - epidemiological survey. Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop. 47(3): 271-275, 1994.
- Ghorbel A, Clerc B, Djaïem A: Canine ehrlichiosis in Tunisia. Seroepidemiological survey. Rev. Elev. Med. Pays Trop. 47(3): 271-275, 1994.
- Baldelli R, Di Francesco A, Pogliayen G et al: Ehrlichiosi canina. Indagine sierologica in canili italiani. ODV 7/8: 69-72, 1996.
- Battistacci L: Istituto Zooprofilattico Umbria e Marche, comunicazione personale, 2000.