LE INFEZIONI SOSTENUTE DA *THEILERIA PARVA* E *THEILERIA ANNULATA* NEI BOVINI: ASPETTI BIOLOGICI E CLINICO-DIAGNOSTICI DIFFERENZIALI

G. Di Giulio[1], D. De Meneghi[2], G. Lynen[3], M. Zecchini[4], L. Tomassone[2]
[1] Veterinary Epidemiology & Economics Research Unit, University of Reading - United Kingdom
[2] Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Università degli Studi, Grugliasco (TO) - Italia
[3] Veterinary Investigation Centre, Arusha - Tanzania
[4] Istituto di Zootecnica, Università degli Studi, Milano - Italia

RIASSUNTO

L'articolo descrive le similarità e le differenze tra gli emoparassiti Theileria parva *e* Theileria annulata *e le sindromi da questi sostenute. Vengono descritti i rispettivi cicli biologici, gli aspetti clinico-patologici e i possibili metodi di immunizzazione e trattamento, sottolineando la necessità di consentire, anche in Italia, l'utilizzo di farmaci specifici contro questi parassiti. Gli Autori passano in rassegna le principali segnalazioni sulla theileriosi (da* T. annulata *e* T. buffeli*) in Italia ed evidenziano la necessità di intraprendere degli studi epidemiologici per valutare la loro distribuzione e impatto economico in Italia.*

PAROLE CHIAVE

Theileria annulata, *Theileria parva*, Theileriosi bovina.

Introduzione

Le forme di theileriosi di maggiore interesse nei bovini sono le seguenti:

1. Febbre della costa orientale o *East coast fever/corridor disease/january disease* (ECF); *East coast fever*, presente in Africa del sud, centrale e orientale (29), è causata dal protozoo *Theileria parva* e il suo vettore principale è la zecca a tre ospiti *Rhipicephalus appendiculatus*
2. Theileriosi tropicale o febbre della costa del Mediterraneo (TT); la Theileriosi tropicale, presente in Nord Africa, Medio Oriente, Europa meridionale, nella parte meridionale della ex Unione Sovietica, India e Cina meridionale (31), è causata da *Theileria annulata*. Il vettore è la zecca a due o tre ospiti del genere *Hyalomma*, principalmente *H. anatolicum anatolicum*, *H. asiaticum asiaticum*, *H. detritum*, *H. excavatum* e *H. dromedarii*. La sola regione dove si ritiene che *T. parva* e *T. annulata* siano presenti contemporaneamente è il Sudan meridionale (29).

Va ricordata, inoltre, la theileriosi orientale (TO), presente principalmente nella parte orientale del continente asiatico (9) ma segnalata anche in Europa e Russia (15). La TO è causata dagli emoprotozooi del gruppo *Theileria orientalis/sergenti/buffeli*, i cui vettori principali sono zecche del genere *Haemaphysalis*. Tranne *T. sergenti*, alla quale viene riconosciuta una certa patogenicità in una parte del continente asiatico, le altre due specie di theilerie non sono normalmente patogene (15) (29). Per ulteriori informazioni su biologia e tassonomia del gruppo *T. orientalis/sergenti/buffeli* si rimanda al lavoro di Fujisaki (15).

Scopo del presente articolo è quello di descrivere il ciclo biologico, gli aspetti clinici e anatomopatologici delle sindromi sostenute da *T. parva* e da *T. annulata*, con particolare riferimento alle differenze biologiche del parassita e del vettore e agli aspetti clinico-diagnostici. Nel lavoro sono altresì fornite indicazioni sulla diagnosi di laboratorio, profilassi e terapia di queste importanti malattie protozoarie.

Il ciclo biologico

Il ciclo biologico di entrambi i parassiti è sostanzialmente simile. Differenze e peculiarità dei rispettivi cicli e del decorso dell'infezione in *T. parva* e *T. annulata* sono riassunti nelle Figure 1, 2 e 3.

Gli sporozoiti trasmessi dalla zecca invadono i linfociti stimolandoli a differenziarsi in linfoblasti, mentre gli sporozoiti si trasformano in schizonti. Gli sporozoiti di *T. parva* invadono preferenzialmente i linfociti T e B, quelli di *T. annulata* invadono i linfociti B e i monociti (18). Gli schizonti stimolano i linfoblasti a dividersi e moltiplicarsi, dividendosi contemporaneamente con la cellula parassitata. Non si tratta comunque di una moltiplicazione esponenziale, dato che spesso so-

lo uno dei linfoblasti risulta parassitato (29).

Dopo numerose mitosi, lo schizonte produce merozoiti che determinano la rottura della cellula ospite. I merozoiti vanno quindi a invadere gli eritrociti e danno luogo alla formazione di piroplasmi. A questo livello va evidenziata una differenza tra il ciclo biologico di *T. parva* e quello di *T. annulata*, differenza che verrà descritta nella sezione successiva. Negli eritrociti, alcuni piroplasmi si differenziano in gametociti (micro e macro-gametociti); sia i piroplasmi, sia i gametociti sono ingeriti dalle zecche quando queste si nutrono del sangue dell'animale parassitato.

Il ciclo del parassita nell'intestino della zecca comprende uno stadio di sviluppo sessuale, fusione del micro e macro-gametocita, con la formazione di uno zigote; questo successivamente si trasforma in kinete e migra nelle ghiandole salivari dove si moltiplica e si differenzia in sporozoite. Lo sporozoite, una volta iniettato nel bovino, penetra nei linfociti e il ciclo ricomincia. La trasmissione della malattia da parte della zecca è transtadiale. La zecca, infatti, risulta infettante solo durante lo stadio di ninfa e/o adulto. Le larve, quindi, non sono mai infettanti, dato che non esiste possibilità di infezione transovarica. Nelle infezioni sostenute da *T. parva*, lo sporozoita richiede un periodo variabile di maturazione nelle ghiandole salivari della zecca (nello stadio di ninfa o di adulto); in condizioni di temperatura normali, la zecca è in grado di trasmettere il parassita dopo 3-4 giorni da quando ha iniziato a succhiare il sangue. È stato però evidenziato che in condizioni di temperatura superiori a 40°C, la zecca è in grado di trasmettere l'infezione sin dal primo giorno (29).

In entrambe le sindromi, la zecca, una volta iniettato il parassita, se si nutre su un animale non infetto (non portatore) perde la capacità di trasmettere l'infezione nello stadio successivo; per esempio, se una ninfa si nutre su di un bovino che non presenta piroplasmi nel sangue, questa non è più in grado di trasmettere l'infezione allo stadio di adulto (29).

Aspetti clinici e rilievi autoptici

Il periodo di incubazione della malattia è di 10-14 giorni per la theileriosi sostenuta da *T. parva*, mentre può raggiungere i 30 giorni nella theileriosi da *T. annulata* (39).

Dopo circa 4 giorni dal momento in cui la zecca ha iniettato lo sporozoita, è possibile, tramite un puntato linfonodale, evidenziare i primi schizonti a livello del linfonodo drenante la regione dove la zecca si è attaccata (28). I piroplasmi sono invece evidenziabili intorno al 10°-11° giorno (29).

Nel caso della theileriosi da *T. parva*, i linfonodi interessati nella fase iniziale sono quelli parotidei, in quanto la zecca *R. appendiculatus*, nello stadio di adulto, si localizza preferibilmente a livello dei padiglioni auricolari (29). I linfonodi drenanti l'area aumentano di volume dopo circa 4-5 giorni dall'iniezione dello sporozoita e, dopo 1-3 giorni, si assiste ad un rialzo della temperatura corporea (39-40°C). Successivamente anche gli altri linfonodi superficiali aumentano di volume e la febbre aumenta (>40°C). I sintomi clinici e la mortalità, per entrambi le forme di theileriosi, sono variabili e sono dose dipendenti: cioè, dipendono dal numero di sporozoiti iniettati

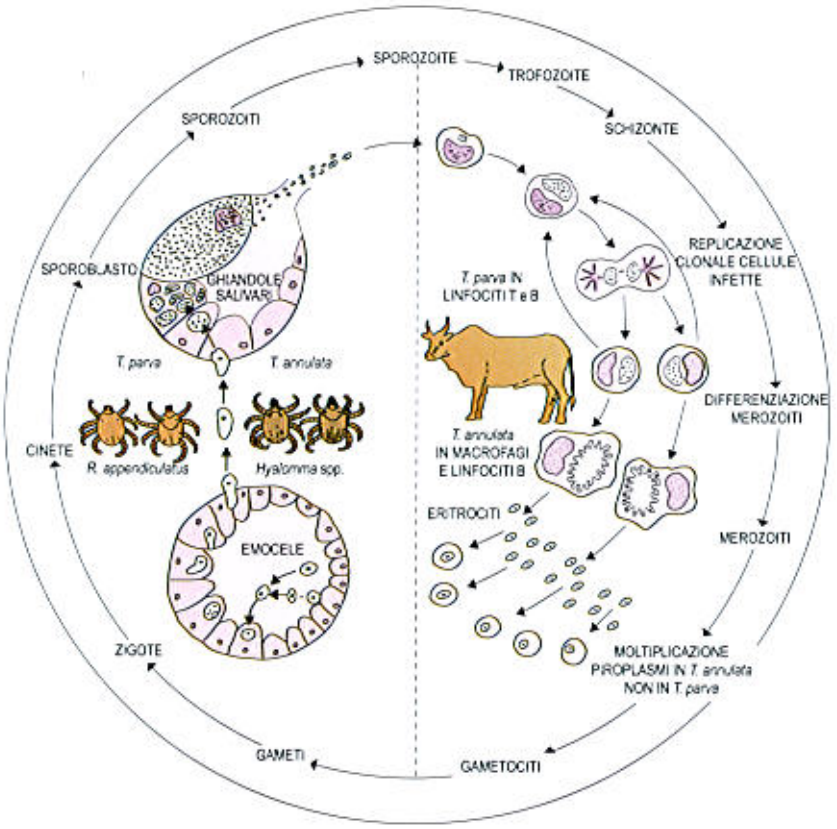

Figura 1: Ciclo biologico di *Theileria parva* e *Theileria annulata*. Modificato da: Preston P.M. and Jongejan F. 1999. Protective immune mechanisms to ticks and tick-borne pathogens (poster). Parasitology Today, **15**(7): 253-300.

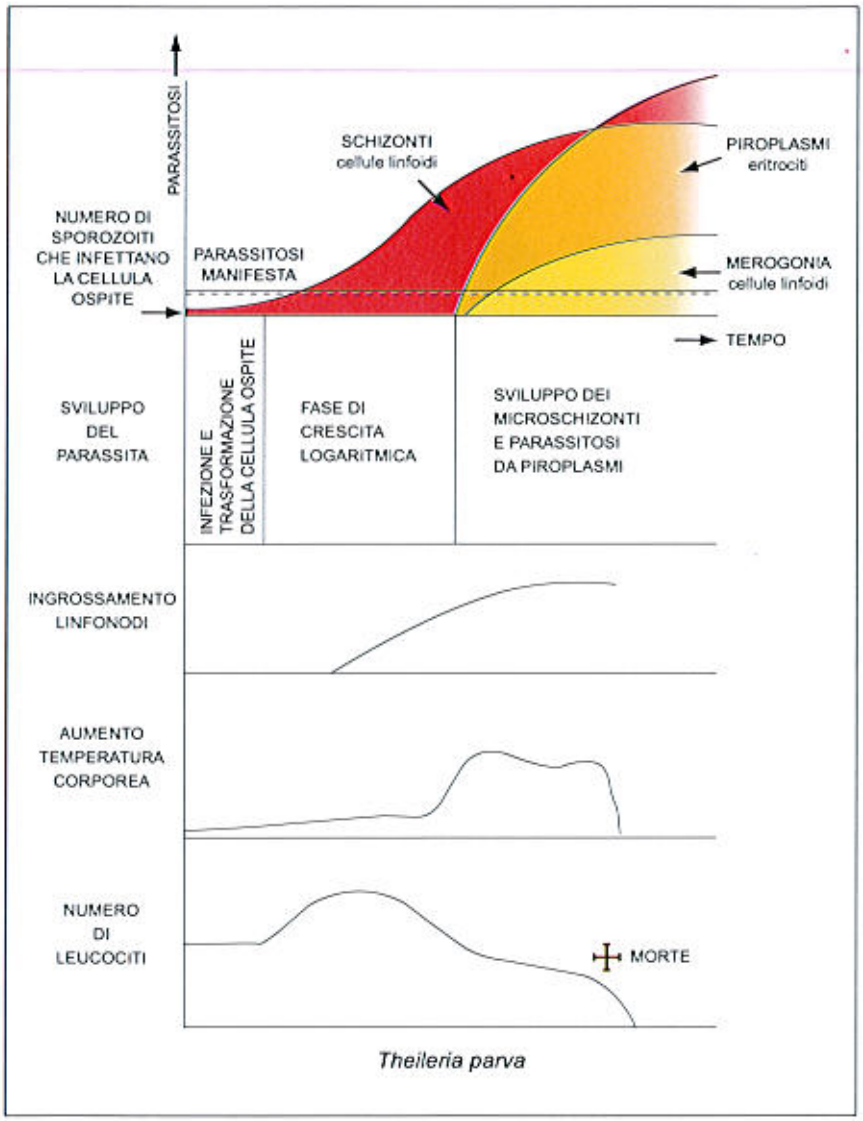

Figura 2: Decorso clinico tipico nelle infezioni da *Theileria parva*. Modificato da: Norval R.A.I., Perry B.D. and Young A.S. 1992. The epidemiology of theileriosis in Africa. Academic Press, p. 481.

dalla zecca (10). La morte dell'animale, dovuta ad edema polmonare, sopraggiunge generalmente in 18ª-26ª giornata da quando la zecca ha iniettato gli sporozoiti. Il tasso di letalità può raggiungere il 90% (29).

Negli stadi iniziali, ECF è una malattia linfoproliferativa accompagnata dall'ingrossamento dei linfonodi, mentre in concomitanza con il rialzo febbrile prende avvio la fase linfodistruttiva, che è normalmente associata a leucopenia nei casi mortali, mentre l'anemia è raramente presente (29). Nei casi terminali, il segno clinico predominante è l'edema polmonare, facilmente riscontrabile per le evidenti difficoltà respiratorie (di tipo acuto), con tosse ed essudato schiumoso che fuoriesce dalle narici. Inoltre si può osservare edema sottocutaneo e diarrea anche sanguinolenta. Negli stadi finali è presente stipsi e le feci sono secche e scure. Altro segno frequentemente riscontrabile è la lacrimazione, talvolta seguita da opacità corneale (infiltrazione linfocitaria) con cecità non permanente. In qualche caso l'animale può presentare sintomi nervosi (29).

T. annulata causa una sindrome clinica simile a quella descritta per ECF, ma a differenza di quest'ultima, presenta una fase linfoproliferativa e una linfodistruttiva ben evidenti, alle quali si accompagna una fase emolitica con anemia (Figura 3). Nelle infezioni acute l'anemia è dovuta alla lisi degli eritrociti, provocata dalla moltiplicazione per scissione dei piroplasmi nel loro interno. La lisi dei globuli rossi dà luogo ad emoglobinuria accompagnata a bilirubinemia e bilirubinuria (39).

In entrambi le sindromi, l'autopsia mette in evidenza essudato schiumoso in trachea e polmoni; questi ultimi, inoltre, presentano edema ed enfisema. Altre lesione classiche sono: ipertrofia di milza e linfonodi; emorragie cardiache, della cute, pleura e peritoneo; ulcere circolari (tipo bruciatura di sigaretta) con centro necrotico a livello della mucosa dell'abomaso e pseudo-infarti bianchi (infiltrazione di leucociti) o rossi a livello della corticale renale. A livello intestinale possono riscontrarsi ulcere ed emorragie (39).

Immunità, stato di portatore e suscettibilità

Per determinare lo stato di portatore non è necessaria la persistenza del parassita nell'organismo. Per quanto riguarda l'ECF, è stato evidenziato che in mancanza di ulteriori infezioni, l'immunità può perdurare fino a tre anni (28, 29). Nelle infezioni sostenute da *T. annulata* entrano in gioco sia meccanismi di immunità innata, sia di immunità *adaptive* (32). Quest'ultima gioca un ruolo predominante nelle infezioni sostenute da *T. parva*, anche se la resistenza alla malattia dimostrata nei vitelli nelle aree endemiche per ECF potrebbe suggerire, anche in questo caso, la presenza di meccanismi di immunità innata (25). Questo è il motivo per cui, i bovini appartenenti a razze locali sono general-

mente più resistenti alle infezioni sostenute da questi emoprotozoi rispetto alle razze importate. Nelle razze locali la mortalità si riscontra generalmente negli animali giovani, mentre gli adulti possono considerarsi i sopravvissuti ad una precedente infezione.

In entrambe le forme di theileriosi, gli anticorpi verso i piroplasmi e verso gli schizonti non giocano un ruolo primario, poiché l'immunità è di tipo cellulo-mediata da linfociti ad azione citotossica (29). L'immunità è indotta dalla fase schizogonica che dà luogo alla produzione di due tipi di cellule: 1) linfociti T specifici della classe MCH (*Major Histocompatibility Complex*), che distruggono i linfociti infetti in maniera selettiva; 2) linfociti citotossici che distruggono le cellule infette in maniera non-selettiva (26).

L'immunità nella theileriosi è potenzialmente molto efficace, ma si sviluppa troppo lentamente per dare una protezione nei confronti di una malattia ad evoluzione così rapida. Se l'infezione invece è modulata o ritardata, la risposta immunitaria riesce a contenere l'infezione; questa è stata la base dei diversi metodi di immunizzazione che vengono tuttora utilizzati (28, 29).

Un animale che sopravvive all'infezione risulta protetto dalle successive infezioni. Nelle infezioni da *T. parva*, ceppi antigenicamente differenti non stimolano necessariamente una protezione crociata (29), mentre questo tipo di protezione si riscontra invece nel caso di *T. annulata* (31). Nella theileriosi da *T. parva* è stato inoltre dimostrato che, durante la fase sessuale del ciclo, può avvenire uno scambio di materiale genetico con possibile formazione di un nuovo ceppo del parassita (29). Lo stato di portatore per *Theileria* spp. è stato definito come la capacità di un animale infetto o guarito di infettare una zecca, la quale può quindi trasmettere il protozoo a un altro animale. Si pensa che lo stadio infettivo per la zecca corrisponda alla fase di differenziazione del merozoita in gametocita all'interno degli eritrociti: quindi è la presenza o l'assenza dei gametociti circolanti a determinare lo stato di animale portatore (29).

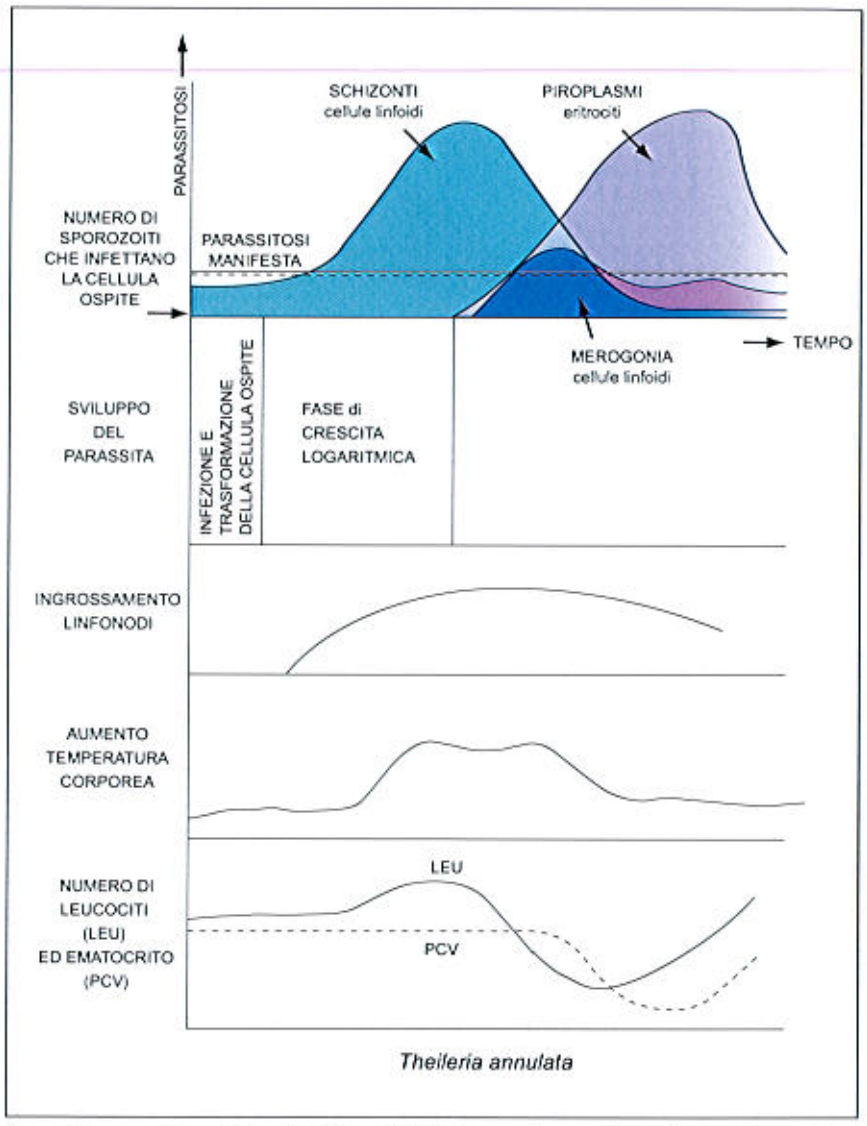

Figura 3: Decorso clinico tipico nelle infezioni da *Theileria annulata*. Modificato da: Norval R.A.I., Perry B.D. and Young A.S. 1992. The epidemiology of theileriosis in Africa. Academic Press, p. 481.

Bovini infettati da *T. annulata* mantengono lo stato di portatore per parecchi anni: in questa forma di theileriosi, infatti, è stata dimostrata sia la continua presenza e divisione dei piroplasmi negli eritrociti, sia la continua persistenza degli schizonti (29), mentre nel caso di *T. parva* esistono ceppi che non provocano lo stato di portatore (28, 33).

Evidenziazione del parassita

Il metodo più efficace per evidenziare il parassita è l'esame microscopico di un puntato linfonodale colorato con Giemsa. Anche lo striscio di sangue, sempre colorato con Giemsa, è un utile test di laboratorio. In un contesto diagnostico, si effettua per lo più in soggetti con sintomatologia per avvalorare il sospetto clinico.

I piroplasmi sono presenti circa 5-6 giorni dopo la comparsa

degli schizonti. La messa in evidenza dei piroplasmi, in una fase di bassa parassitemia, non ha comunque valore diagnostico in assenza di contemporanea sintomatologia clinica e di un puntato linfonodale positivo, in quanto potrebbe trattarsi di un animale portatore e quindi clinicamente sano. Allo striscio di sangue può essere attribuito valore diagnostico solo in presenza di elevata parassitemia. È bene ricordare che anche l'evidenziazione di qualche schizonte nel puntato linfonodale non indica sempre un'infezione in atto, in quanto gli schizonti possono essere evidenziati anche in animali sani (portatori).

Morfologicamente, la differenza tra gli schizonti e i piroplasmi di *T. parva* e di *T. annulata* non è apprezzabile. In particolare, sebbene le diverse specie di *Theileria* siano caratterizzate da piroplasmi con differenti forme predominanti, la loro morfologia non consente di caratterizzare con certezza le diverse specie, in quanto la forma dei piroplasmi può variare nel corso dell'infezione (27). Normalmente gli schizonti di *T. parva* persistono durante tutta la fase clinica della malattia, mentre questi diventano rari negli stadi finali dell'infezione sostenuta da *T. annulata*.

L'ematocrito è un esame di laboratorio aggiuntivo in caso di theileriosi da *T. annulata*; infatti, l'anemia è un segno clinico predominante in quanto la lisi dei piroplasmi rappresenta la principale espressione patogenetica della malattia.

Test sierologici

Il più comune test sierologico utilizzato negli ultimi anni per la diagnosi di entrambe le infezioni è stato l'Immuno Fluorescenza Indiretta (IFI), con antigene preparato dalle forme schizontiche del parassita. Con questo test, sono però riportate reazioni crociate tra *T. parva*, *T. annulata* e *T. taurotragi* (29).

La durata della risposta anticorpale alla theileriosi varia considerevolmente e dipende da molti fattori. Nel caso di *T. parva*, in assenza di un'ulteriore infezione, gli anticorpi verso l'antigene derivato dallo schizonte sono evidenziabili più a lungo rispetto agli anticorpi verso l'antigene preparato dai piroplasmi, mentre l'opposto avviene per *T. annulata* (29). Gli anticorpi verso l'antigene derivato dallo schizonte (evidenziabili con qualsiasi test sierologico) appaiono a partire dalla 2ª-4ª settimana e continuano ad aumentare per 2-4 settimane; successivamente si stabilizzano e diminuiscono ad una velocità variabile, in base a numerosi fattori. Se non si verifica un'ulteriore infezione, tali anticorpi declinano a titoli di circa 1/40, dopo sei mesi dal primo contatto con il parassita; l'instaurarsi dello stato di portatore può però determinare una più lunga permanenza del titolo.

I test attualmente utilizzati sono i test ELISA, altamente specifici per *T. parva* (20) e per *T. annulata* (6); questi test sono in grado di evidenziare la presenza di anticorpi per periodi più lunghi rispetto all'IFI (Ketende, 2000; comunicazione personale). Sono inoltre disponibili test PCR e sonde all'RNA ribosomale (19, 29). Questi test sono molto utili per la differenziazione di *T. parva* o di *T. annulata* da altre specie di *Theileria*, e anche per la differenziazione di ceppi diversi della stessa specie di *Theileria* (29).

Chemioterapia della theileriosi

Le tetracicline, clortetracicline e ossitetracicline sono efficaci contro entrambi i parassiti ma, pur consentendo un miglioramento del quadro sintomatologico, non hanno alcun valore terapeutico quando l'infezione si è già instaurata (41). Le tetracicline infatti, avendo solo un effetto citostatico sui linfociti infetti, sono in grado di rallentare l'infezione solo nelle fasi iniziali della malattia, quando però il corredo sintomatologico non è ancora apprezzabile (37). Secondo Kaufman (21), le tetracicline, rolitetracicline (4 mg/kg, I.M. per quattro somministrazione giornaliere) e le ossitetracicline *long acting* (20 mg/kg, I.M.) hanno sia attività terapeutica, sia profilattica nei confronti di *T. annulata*.

Un naftochinone, il parvaquone (Clexon®, Pitman-Moore; 10 mg/kg I.M. in due somministrazioni a distanza di 48 ore o 20 mg/kg in unica somministrazione) si è dimostrato efficace contro tutti gli stadi di *T. parva* e di *T. annulata* (23). Questo principio attivo è attualmente reperibile sul mercato soltanto come Parvexon® (Bimeda). Successivamente è stato sviluppato un altro naftochinone, il buparvaquone (Butalex®, Schering Plough), che è risultato molto più efficace del parvaquone, sia nei confronti di *T. annulata* sia di *T. parva* (1). Il buparvaquone viene utilizzato alla dose di 2,5 mg/kg I.M. (in unica somministrazione o in 2 somministrazioni a 48 ore di distanza), dimostrando inoltre un'elevata praticità (24).

Un altro farmaco, l'halofuginone (Terit®, Hoechst) originariamente utilizzato come coccidiostatico, è efficace nei confronti dei due emoparassiti ad una dose di 1,2 mg/kg *per os*, in 2 somministrazioni a 48 ore di distanza (11, 35). Questo farmaco si è però dimostrato tossico alla dose di 3 mg/kg (35). L'halofuginone non ha efficacia durante gli stadi iniziali e terminali della theileriosi (sia da *T. parva* che da *T. annulata*) e non agisce sui piroplasmi (29).

Il meccanismo di azione di questi farmaci non è stato ancora completamente chiarito: per quanto riguarda il parvaquone si ritiene che inibisca il trasporto di elettroni a livello mitocondriale, e la microscopia elettronica ha rilevato che interferisce a livello dello schizonte. È stato ipotizzato che questi farmaci abbiano una azione citostatica anziché citocida (13). Norval *et al*, (29) hanno rilevato un'elevata percentuale di portatori dopo il trattamento con parvaquone e halofuginone. Gli stessi Autori suggeriscono che l'utilizzo del buparvaquone, in alternativa alle precedenti molecole, inibisca invece l'instaurarsi dello stato di portatore nell'animale trattato con questo principio attivo.

Metodi di immunizzazione

Esiste una differenza fondamentale tra l'immunizzazione verso *T. parva* e *T. annulata*; nel caso di *T. annulata* viene utilizzato un vaccino prodotto su colture di cellule linfatiche di bovino (6, 33), mentre per *T. parva* viene utilizzato un vaccino costituito da sporozoiti ottenuti dalla triturazione e centrifugazione di zecche adulte infettate sperimentalmente (29). Questo metodo di immunizzazione viene più propriamente definito "infezione e trattamento" (33): l'animale infatti viene infettato con una dose conosciuta, o *quantum* noto di sporozoiti, contestualmente ad una somministrazione di tetracicline *long acting* (20 mg/kg) in modo che l'animale sviluppi la malattia, in maniera normalmente asintomatica.

Nel caso di *T. annulata*, gli schizonti, coltivati in colture di linfociti di bovino, sono attenuati con ripetuti passaggi *in vitro*; le cellule infettate vengono raccolte e concentrate tramite centrifugazione. Questo sistema di immunizzazione è stato sperimentato in Israele ed è attualmente utilizzato con successo in Iran, Iraq, Turchia, Russia, Marocco, India (31), oltre ad essere stato sperimentato con buon esito in Spagna (Habela, 2000; comunicazione personale). Questo vaccino, somministrato per via sottocutanea, è poco costoso e le colture cellulari forniscono fino a 20.000 dosi per volta (29).

È anche disponibile un vaccino costituito da sporozoiti, ma non viene normalmente utilizzato (31).

Il meccanismo di attenuazione di *T. annulata* non è molto conosciuto e stessi ceppi di *T. annulata* possono attenuarsi dopo un diverso numero di passaggi (31). L'immunità da vaccinazione con colture cellulari di *T. annulata*, a differenza di quella indotta da sporozoiti, non è dipendente dalla dose iniettata e infezioni fatali possono essere indotte sia con 10^2 cellule, mentre animali giovani possono a loro volta essere infettati con meno di 10 cellule. Nella pratica, viene utilizzato 1 ml di vaccino contenente 10^6 cellule per assicurare che l'infettività, ridotta dai passaggi colturali, venga mantenuta (29).

La protezione data dal vaccino contro *T. annulata* viene valutata iniettando in bovini vaccinati e bovini suscettibili una dose letale di sporozoiti. I vaccini, ottenuti con schizonti attenuati, non dovrebbero indurre alcuna sintomatologia o parassitemia negli animali immunizzati. I bovini così vaccinati non costituirebbero fonte di infezione per le zecche, poichè non si instaurerebbe uno stato di portatore (31). È stato però provato che, anche quando gli schizonti sono completamente attenuati, negli animali vaccinati sono presenti anticorpi specifici contro lo schizonte, ciò indicherebbe che è avvenuta una loro moltiplicazione. Se gli schizonti attenuati continuano a dar luogo alla produzione di merozoiti, è possibile ritrovare piroplasmi negli strisci di sangue periferico dell'animale vaccinato e schizonti possono essere presenti a livello linfonodale ed epatico (31).

Anche quando è assicurata una completa protezione vaccinale, l'immunità non previene la comparsa di merozoiti dopo un'infezione naturale e, quasi certamente, le zecche che si nutrono su questi animali, si infettano. Pertanto l'uso di vaccini contenenti schizonti, nelle aree dove la theileriosi è enzootica, non può garantire l'eradicazione della malattia (31).

Per *T. parva* non si possono utilizzare le colture di cellule linfoidi poichè le cellule infette sono selettivamente distrutte da linfociti T di classe I (MHC) in bovini geneticamente diversi (14). La protezione è quindi possibile solo se le cellule del donatore e del ricevente sono geneticamente identiche, e questo non ne consente l'applicazione pratica in campo.

Come accennato precedentemente, nell'immunizzazione contro ECF viene utilizzato il metodo chiamato "infezione e trattamento": esso consiste nella somministrazione sottocutanea, a livello del linfonodo parotideo o nella parte mediana del collo, di una dose predeterminata di sporozoiti, contemporaneamente a una dose di tetracicline *long-acting*. La somministrazione delle ossitetracicline, che hanno un effetto citostatico sui linfociti infetti (37), consente di rallentare l'evolversi dell'infezione attenuando il parassita nelle fasi iniziali. Trattandosi di una infezione vera e propria, una percentuale variabile di animali vaccinati (circa 5% in Tanzania) mostra reazioni vaccinali (22). Gli animali vaccinati devono essere mo-

nitorati, potendo sviluppare ECF e richiedere un trattamento con farmaci theilericidi; queste "reazioni vaccinali" si registrano normalmente attorno al 14°-19° giorno post-vaccinazione. In Tanzania l'utilizzo di un'ossitetraciclina a concentrazioni superiori alla norma (30 mg/kg) si è dimostrata efficace nel ridurre il numero degli animali che sviluppa la malattia conseguentemente all'immunizzazione (0,2%, Di Giulio, dati non pubblicati).

Secondo alcuni Autori (25), l'impiego di questo tipo di vaccino, in aree dove i ceppi vaccinali utilizzati non risultano presenti, potrebbe determinare l'introduzione di nuovi ceppi di *Theileria parva*. In particolare, animali sopravvissuti a precedenti infezioni potrebbero essere sensibili a questi nuovi ceppi. In pratica, tenendo in considerazione l'esistenza di una fase sessuale del ciclo biologico, con conseguente scambio di materiale genetico, possibile formazione di ceppi eterologhi (29) e i normali movimenti delle mandrie bovine (nomadismo), tale evento esiste già normalmente in natura. La vaccinazione "infezione e trattamento" con l'utilizzo di ceppi eterologhi viene effettuata con buoni livelli di protezione, tra l'85% e il 90% (12).

La necessità di conservare questi vaccini in azoto liquido, rende il loro impiego spesso difficoltoso e rappresenta un notevole fattore limitante al loro utilizzo su ampia scala.

Presenza e distribuzione della theileriosi in Italia

A causa dell'assenza di *R. appendiculatus*, la zecca vettore di *T. parva*, la ECF non è presente in Italia ed eventuali ampliamenti dell'attuale areale di distribuzione, verso il bacino del Mediterraneo, non sono per ora ipotizzabili.

Nel bacino del Mediterraneo e anche in Italia, è invece presente la theileriosi sostenuta da *T. annulata*, ma la sua reale distribuzione, incidenza e impatto economico non sono però ben conosciuti.

Nonostante emoparassiti attribuiti a *T. annulata* siano stati segnalati in molte regioni dell'Italia centro-meridionale, isole comprese, la presenza di *T. annulata* in Italia è stata finora confermata soltanto in Sicilia (17, 36).

In passato, la presenza di *T. annulata* era stata riportata in Umbria (2, 3), nelle Marche (40) e in Sardegna (8). Un focolaio di theileriosi era stato in seguito segnalato da Battelli *et al.* (5) in Puglia, dove su 10 bovine di razza frisona, con segni clinici ascrivibili alla malattia, 3 vennero a morte.

Successivamente, Gallo *et al.* (16) e Turlà *et al.* (37) hanno segnalato la presenza di *T. annulata* in Sicilia; in particolare, su 664 strisci di sangue di bovini appartenenti a 48 aziende distribuite in sei province siciliane, 89 campioni (14,7%) appartenenti a 16 aziende (33,3%) sono stati trovati positivi. Sempre in Sicilia, Balbo *et al.* (4) hanno riportato una più elevata incidenza di *T. annulata* nella zona della costa orientale di Ragusa, ipotizzando, tra le possibili spiegazioni, l'alta densità di animali nell'area, il notevole commercio di bestiame, l'alto numero di zecche o la presenza di ceppi di *Theileria* molto patogeni. Gli Autori hanno identificato il parassita come *T. annulata* (su strisci di sangue) in ragione della sua morfologia (prevalenza di forme ad anello), gravità dei segni clinici e per le specie di zecche presenti sugli animali infetti (*Hyalomma* spp.), ma non hanno escluso che il parassita potesse essere *T. mutans*. Va però osservato che *T. mutans* non dovrebbe essere presente in Italia data l'assenza del suo vettore biologico, zecche del genere *Amblyomma*. È peraltro possibile che queste zecche vengano regolarmente introdotte in Italia tramite uccelli migratori provenienti dal continente africano, ma non sembrano comunque sussistere le condizioni ambientali per la loro sopravvivenza e sviluppo.

È relativamente recente la prima segnalazione di *T. orientalis/buffeli* in Italia meridionale (Puglia) (7). Nella ricerca citata, gli Autori non hanno riscontrato la presenza di *T. annulata*, per cui è possibile ipotizzare che le segnalazioni di *T. annulata* riportate in passato nell'Italia centro-meridionale, possano essere attribuite a *T. orientalis/buffeli*, emoparassita normalmente non patogeno, oppure essere causate da infezioni miste. La contemporanea presenza di *T. annulata* e di *T. orientalis/buffeli* è stata segnalata sia in Macedonia (Grecia), attraverso indagini sierologiche (30), sia in Sicilia, tramite tecniche di biologia molecolare (17, 36); *T. sergenti* e *T. orientalis/buffeli* sono state osservate anche in Abruzzo (34).

Per quanto riguarda il trattamento delle forme cliniche di theileriosi, in Italia, i farmaci correntemente utilizzabili contro questa malattia sono quasi sconosciuti e, comunque, non registrati e autorizzati. In Sicilia è stato riportato l'uso nei bovini di halofuginone (per uso avicolo) (Di Giulio, osservazione personale). L'impiego di efficaci farmaci theilericidi, una volta regolarmente autorizzati anche in Italia, potrebbe garantire un adeguato trattamento di sindromi cliniche come quelle descritte in questo articolo, trattamento che ben potrebbe affiancare e integrare gli interventi di controllo contro le zecche vettori, già attualmente praticabili.

Nonostante la recente disponibilità di nuove tecnologie per la diagnosi delle theileriosi (36), in Italia, non sono state finora condotte indagini epidemiologiche approfondite e su ampia scala per studiare la presenza, distribuzione attuale e incidenza di questa malattia e dei suoi vettori. A questo proposito, va segnalato il recente interesse che alcuni Istituti Zooprofilattici Sperimentali e Facoltà di Veterinaria, soprattutto dell'Italia meridionale, hanno dimostrato verso queste problematiche.

La prosecuzione e l'approfondimento delle ricerche su theileriosi e altre malattie trasmesse da zecche, attualmente in corso in alcune regioni dell'Italia meridionale (Puglia, Basilicata, Sicilia, etc.), consentiranno di ottenere dati importanti per la messa a punto di adeguate strategie di controllo, con una ricaduta positiva sia sul veterinario aziendale sia sull'allevatore.

Bibliografia

1. **Anonimo** 1990. Butalex injection: the treatment for theileriosis. Pitman-Moore LTD, Harefield, p. 21.

2. **Asdrubali M.** 1932. *Th. annulata* in Umbria. La Nuova Veterinaria, **8**: 342.

3. **Asdrubali M.** 1935. Le piroplasmosi dei bovini nella media valle del Tevere: osservazioni sulla anaplasmosi e le sue lesioni. Rivista di biologia, **18**: 3-15.

4. **Balbo S.M., S. Caracappa, C. Gallo e V. Iannotta** 1981. Segnalazione sull'incidenza di parassiti endoglobulari dei bovini nella Sicilia centro orientale. Quaderni dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, **5**: 1-7.

5. **Battelli C., G. Memola e M. Pepe** 1955. Segnalazione della Theileriosi bovina da *Th. annulata* in Puglia. Veterinaria italiana, **6**: 264-267.

6. **Boulter N., D. Brown, G. Wilkie, E. Williamson Kivar, P. Knight, E. Glass, J. Campbell, S. Morzaria, V. Nene, A. Musoke, C. D'Oliveira, M.J. Gubbels, F. Jongejan and R. Hall** 1999. Evaluation of recombinant sporozoite antigen SPAG-I as a vaccine candidate against *Th. annulata* by the use of different delivery systems. Tropical Medicine & International Health, **4**(9): A71-77.

7. **Ceci L., E. Kivar, G. Carelli, C.G.D. Brown, M. Sasanelli and O. Sparagano** 1997. Evidence of *Theileria buffeli* infection in cattle in Southern Italy. Veterinary Record, **140**: 581-583.

8. **Cerruti C.G.** 1934. *Th. mutans* e *Th. annulata* nei bovini della Sardegna. Boll. Soc. Ital. Microb., p. 329.

9. **Cox F.E.G.** 1992. Interactions between chemotherapy and immunity in bovine theileriosis. Parasitology, **105**: S79-S84.

10. **Cunningam M.P., C.G.D. Brown, M.J. Burridge, A.J. Musoke, R.E. Purnell, D.E. Radley and C. Sempebwa** 1974. East Coast fever: titration in cattle of *Theileria parva* derived from ticks. British Veterinary Journal, **130**: 336-345.

11. **DeVos A.J. and J.A. Roos** 1983. Chemotherapy of *Theileria parva lawrencei* in cattle with halofuginone. Ondersterpoort Journal of Veterinary Research, **50**: 33-35.

12. **Di Giulio G.** 1993. Immunization against ECF in Southern and Central Province of Zambia and epidemiology of Tick Borne Diseases in Southern Province. End of assigment report. (dati non pubblicati), FAO-Rome, p. 43.

13. **Dolan T.T.** 1986. Chemotherapy of East Coast fever: the long-term weight changes, carrier state and disease manifestations of parvaquone treated cattle. Journal of Comparative Pathology, **96**: 137-145.

14. **Dolan T.T., A.J. Teale, D.A. Stagg, S.J. Kemp, K.N. Cowan, A.S. Young, B.L. Leitch, R.L. Spooner and C.G.D. Brown** 1984. Histiocompatibility barrier to immunization against East Coast fever using *Theileria parva* infected lymphoblastoid cell lines. Parasite Immunology, **6**: 243-250.

15. **Fujisaki K.** 1992. A review of the taxonomy of *Theileria sergenti/buffeli/orientalis* group parasites in cattle. Journal of Protozoology Research, **2**: 87-96.

16. **Gallo C., V. Guercio e B. Turlà** 1971. La theileriosi bovina in Sicilia da *Th. annulata*. Parassitologia, **13**(1-2): 189-190.

17. **Greco A., G.R. Loria, O. Sparagano, F. Vitale e S. Caracappa** 1999. Diagnosi di theileriosi bovina con tecniche di biologia molecolare. Atti Soc. It. Sci. Vet., **53**: 183-184.

18. **Innes E.A., C.G.D. Brown and R.L. Spooner** 1992. Comparative immunology of *Theileria annulata* and *Theileria parva*. AgBiotech News and Information, **4**: 193N-199N.

19. **Jongejan F.** 1994. Development and transfer of biotechnological methods for the diagnosis of tick-borne pathogens with special reference to *Cowdria ruminantium* and *Theileria annulata*. In: Proceeding of the Expert Consultation on the Use of applicable biotechnological methods for diagnosing haemoparasites, Merida, Mexico, 4-6 October 1993. FAO, Rome, pp. 126-135.

20. **Katende J.M., S.P. Morzaria, P.G. Toye, R.A. Skilton, V. Nene, C.G. Nkonge and A.G Musoke** 1998. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Theileria parva* antibodies in cattle using recombinant polymorphic immunodominant molecule. Parasitological Research, **84**: 406-416.

21. **Kaufman J.** 1996. Theileridae. In: Parasitic infection of domestic animals. A diagnostic manual. Birkhauser Verlag, pp. 65-72.

22. **Lynen G., J. Melewas, K. Majaliwa, C. Bakuname and G. Di Giulio** 2000. The use of a 30% formulation of oxytetracyclines long acting in East Coast fever immunization in Tanzania. In: Proc. 9th Inter. Conf. of the Association of Institutions of Tropical Veterinary Medicine, 14-18 September 1998, Harare (Zw), **1**: 367-375.

23. **McHardy N., A.T. Hudson, D.W.T. Morgan, D.G. Rae and T.T. Dolan** 1983. Activity of 10 naphthoquinones including parvaquone (993C) and menoctone in cattle artificially infected with *Theileria parva*. Research in Veterinary Science, **35**: 347-352.

24. **McHardy N., L.S. Wekesa, A.T. Hudson and A.W. Randall** 1985. Antitheilerial activity of BW 720C (buparvaquone): a comparison with parvaquone. Research in Veterinary Science, **39**: 29-33.

25. **McKeever D.J., E.L.N. Taracha, W.I. Morrison, A.J. Musoke and S.P. Morzaria** 1999. Protective immune mechanisms against *Theileria*

parva: evolution of vaccine development strategies. Parasitology Today, **15**(7): 263-267.

26. **Morrison W.I., B.M. Goddeeris, A.J. Teale, C.M. Groocock, S.J. Kemp and D.A, Stagg** 1987. Cytotoxic T cell elicited in cattle challenged with *Theileria parva* (Muguga): evidence for restriction by class I MHC determinants and parasite strain specificity. Parasite Immunology, **9**: 563-578.

27. **Morzaria S.** 1989. Identification of *Theileria* species and characterization of the *Theileria parva* stocks. In: Theileriosis in Eastern, Central and Southern Africa - Proceedings of a workshop on East Coast Fever Immunization held in Lilongwe, Malawi, 20-22 September 1988, ILRAD, Nairobi, pp. 102-110.

28. **Morzaria S., A.D. Irvin, W.P. Voigt and E.L.N. Taracha** 1987. Effect of timing and intensity of challenge following immunization against East Coast Fever. Veterinary Parasitology, **26**: 29-41.

29. **Norval R.A.I, B.D. Perry and A.S. Young** 1992. The epidemiology of theileriosis in Africa. Academic Press, London, p. 481.

30. **Papadopulos B., N.P. Periè and G. Uilenberg** 1996. Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece. 1. Serological cross-reactions. Veterinary Parasitology, **63**: 41-56.

31. **Pipano E.** 1992. Vaccination of cattle against *Theileria annulata* using culture-derived schizonts. In: Recent Developments in the research and control of *Theileria annulata* - Proceeding of a workshop held at ILRAD, Nairobi, Kenya, 17-19 September 1990, ILRAD, Nairobi, pp. 46-58.

32. **Preston P.M., F.R Hall, E.J. Glass, J.D.M. Campbell, M.A. Darghouth, J.S. Ahmed, B.R. Shiels, R.L. Spooner, F. Jongejan and C.G.D. Brown** 1999. Innate and adaptive immune responses co-operate to protect cattle against *Theileria annulata*. Parasitology Today **15**(7): 253-300.

33. **Radley D.E.** 1981. Infection and treatment method of immunization. In: Advances in the Control of Theileriosis, Irvin A.D., M.P. Cunningham & A.S. Young (eds.), Martinus Nijhoff, The Hague, pp. 227-237.

34. **Savini G., M. Onuma**, P. **Scaramozzino, T. Kakuda, G. Semproni and V. Langella** 1998. First report of *Theileria sergenti* and *T. orientalis/buffeli* in cattle in Italy. Ann. N. Y. Sci., **849**: 404-407.

35. **Schein E. and W.P. Voigt** 1981. Chemotherapy of theileriosis in cattle. In: Advances in the Control of Theileriosis. Irvin A.D., M.P Cunningham. & A.S. Young (eds.), Martinus Nijhoff publ., The Hague, pp. 212-214.

36. **Sparagano O., L. Maxia, G.R. Loria, G. Carelli, S. Reale, A. Greco, F. Vitale e S. Caracappa** 1999. Tecniche di biologia molecolare per l'identificazione dei patogeni trasmessi da zecche. Atti Società Italiana Buiatria, **31**: 337-346.

37. **Spooner P.R.** 1990. The effects of oxytetracycline on *Theileria parva* in vitro. Parasitology, **100**: 11-17.

38. **Turlà B., C. Gallo e P. Sanna** 1975. Le theileriosi bovine da *Th. parva*, *Th. annulata*, *Th. mutans*. La Clinica Veterinaria, **98**(7): 253-267.

39. **Uilenberg G.** 1981. *Theileria* infection other than East Coast fever. In: Diseases of Cattle in the Tropics. Ristic M. & I. McIntyre (eds). Martinus Nijhoff publ., The Hague, pp. 411-427.

40. **Ventura L.** 1934. Piroplasmosi bovina da *Th.annulata* nelle Marche. La Nuova Veterinaria, **12**: 222-224.

41. **Wilde J.K.H.** 1967. East Coast Fever. Advances in Veterinary Science, **11**: 207-259.