

## Parassiti degli animali domestici (Lucia Grana).

Diana, gattina europea, femmina, 2 mesi, fatto esame feci per flottazione, sverminata per ascaridi e positiva. Alla fine ha avuto dei problemi gastroenterici, causati dalla *Giardia*: diarrea.

**Genere *Giardia***: protozoo unicellulare, fa parte del subphylum ***Sarcomastigophora***, classe ***Mastigophora***, quindi è un **flagellato**; si può definire un agente di infezioni opportunistiche (non tutti coloro che vi entrano in contatto contrarranno la malattia, cioè la diarrea).

Espleta la sua azione patogena soprattutto su alcuni soggetti più a rischio, cioè i **soggetti giovani**, immunodepressi.

Il suo ciclo è oro-fecale: entra dalla bocca ed esce con le feci, non ci sono ospiti intermedi o vettori.

Infesta tutti gli animali, mammiferi e non, quindi anche gli uccelli (cane, gatto, uomo e numerosi altri mammiferi, ma anche rettili ed uccelli).



Ha due forme vitali: il **trofozoite**, cioè quello che l'animale infetto alberga nel suo apparato gastroenterico come forma vegetativa, ed una **ciste** (forma resistente) che si trova nell'ambiente esterno ed è una forma di resistenza contro agenti atmosferici e chimici.

Il trofozoite attivo si trova adeso alla superficie epiteliale del piccolo intestino (tratto digiuno-ileo). Le cisti vengono emesse all'esterno con le feci.

Proprio perché si localizza a livello intestinale è chiamata anche *Giardia duodenalis*, quindi si localizza nell'intestino tenue, non nel crasso.

Attualmente si conoscono 6 specie:

1. *Giardia agillis*.
2. *Giardia muris*.
3. ***Giardia intestinalis***: quella che riguarda tutti i mammiferi con cui lavoriamo, anche detta *Giardia duodenalis* o *lamblia*.
4. *Giardia psittaci*.
5. *Giardia ardeae*.
6. *Giardia microti*.

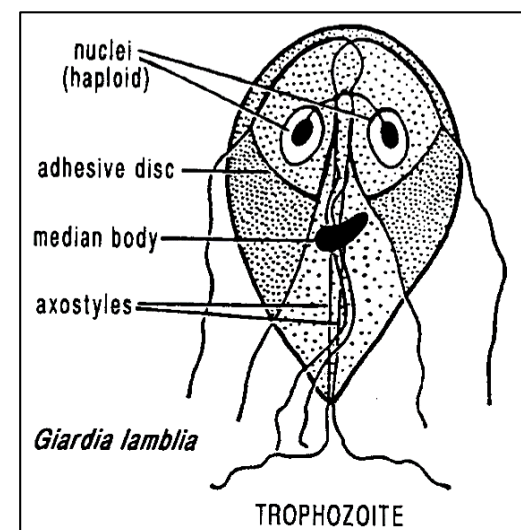
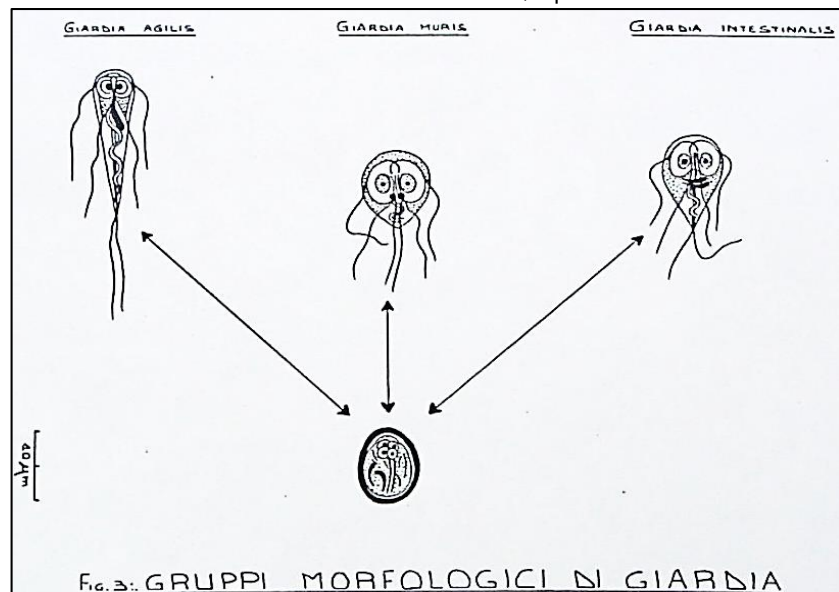
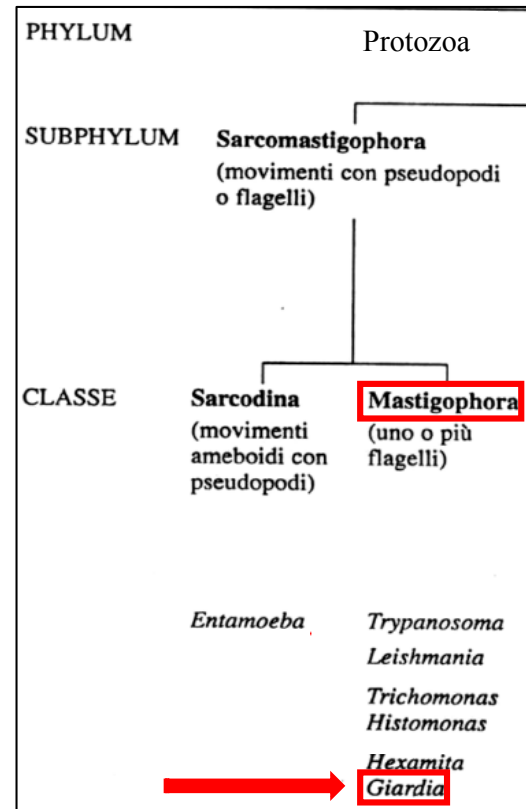
***Giardia intestinalis***: nota anche come *G. lamblia* e *G. duodenalis*, è un organismo unicellulare anaerobico appartenente al genere *Giardia* (protozoi flagellati).

È un parassita dell'intestino tenue dell'uomo e di altri mammiferi (in particolare dei primati e del maiale), responsabile della **giardiasi**.

### Morfologia:

→ la **forma trofozoita**, localizzata dentro l'organismo, osservata dorso-ventralmente ha una forma a pera, **piriforme**, mentre osservandola lateralmente notiamo **una parte convessa** – dato che ventralmente ha una specie di **ventosa** che gli conferisce un aspetto a cucchiaio.

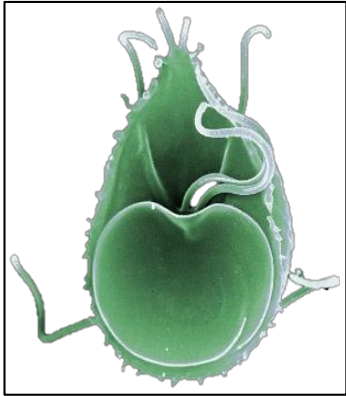
Le dimensioni sono piccole e vederla al microscopio ottico non è facile: 10-12-15 µm.



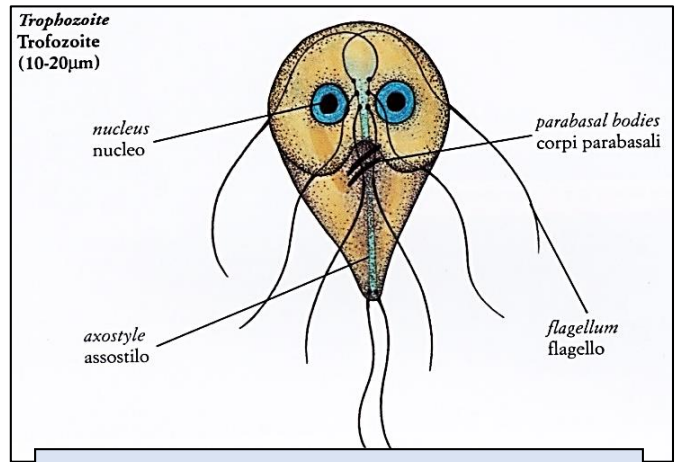
Ha una **simmetria bilaterale**: dividendola a metà, la parte destra è uguale alla parte sinistra.

Ha **due nuclei**, **4 paia di flagelli** (2 ventrali, 1 caudale, 1 latero-anteriore) separati da **due assonemi** (strutture tubulari assiali che le danno sostegno). Possiede anche **due corpi basali**.

La parte caratterizzante è il **disco ventrale** che permette l'adesione ai villi intestinali: si attacca ai



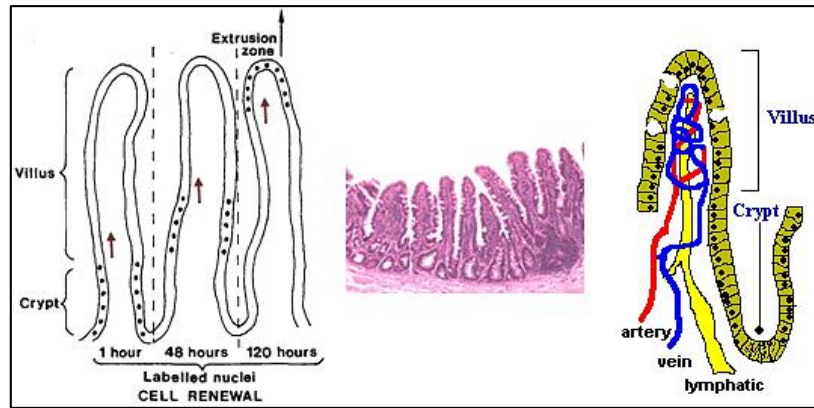
microvilli e ne succhia i nutrienti. Sono presenti anche delle protrusioni (aventi funzione di recettori biochimici), ovvero dei piccoli rilievi frastagliati, il cui scopo è quello di aderire ai villi intestinali. L'intestino può, così, subire dei danni da schiacciamento sulla mucosa. La riproduzione avviene per **scissione binaria**: quando il parassita è nell'intestino si moltiplica velocemente.



**Assonema**: struttura assiale formata da microtubuli che sorregge i flagelli.

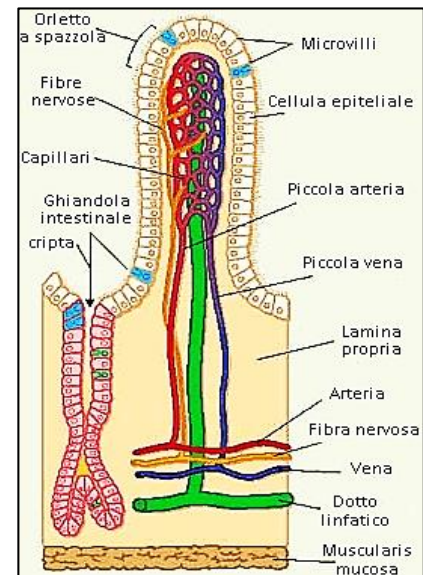
**Corpi basali**: strutture microtubulari dal significato ancora non ben chiarito.

È importante capire anche la struttura dei villi intestinali: sono estroflessioni della mucosa dell'intestino, che consentono di aumentare la superficie dell'organo per avere una maggior area assorbente dei nutrienti ingeriti con l'alimentazione. Si trovano numerosissimi sulle pliche intestinali, che sono delle pieghe permanenti composte da mucosa e sottomucosa.



Nella mucosa intestinale troviamo circa 40 milioni di villi (18-40/mm<sup>2</sup>).

Questa scansione al microscopio



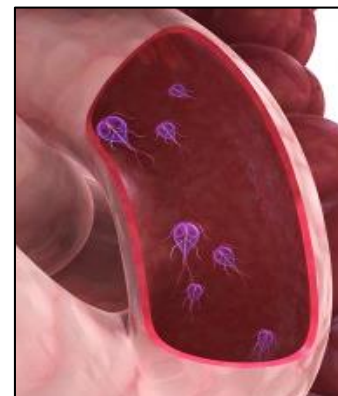
elettronico (SEM) raffigura un protozoo intestinale specie *Giardia* sui microvilli (100 nm) delle cellule epiteliali intestinali. Ogni piccolo profilo circolare sotto il protozoo rappresenta la punta arrotondata di un singolo microvillo, e si stima che da 2000 a 3000 microvilli coprano la superficie di una singola cellula epiteliale intestinale. Il disco adesivo ventrale, che facilita l'adesione alla superficie intestinale, può essere visto sul lato inferiore dell'organismo.



La principale fonte alimentare di *Giardia*, il glucosio, è ottenuta per un processo di diffusione o per pinocitosi.

Come le amebe, questi protozoi sono degli anaerobi aero-tolleranti e le riserve alimentari sono stoccate sotto forma di glicogeno.

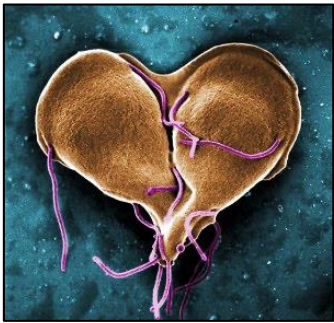
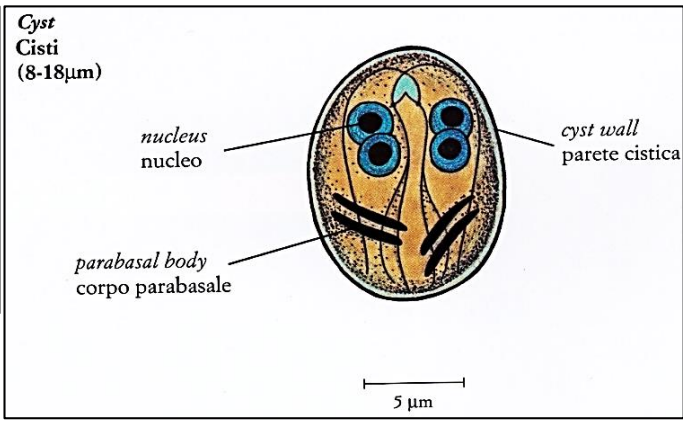
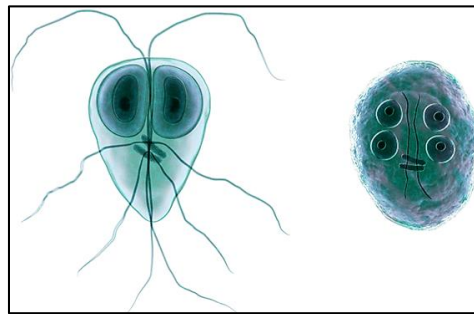
→ La **forma di resistenza** è una **forma cistica** circondata da una **parete spessa** che la protegge da qualsiasi insulto esterno (clima, sostanze chimiche



come i disinfettanti) di dimensioni da 8 a 10 μm. Si formano a livello del **colon**.

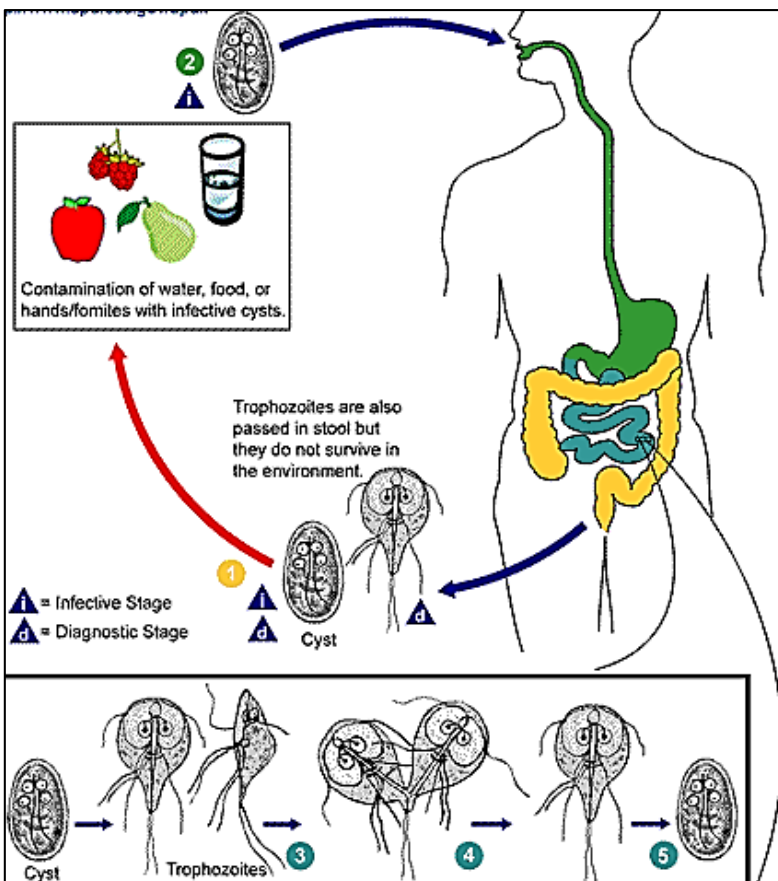
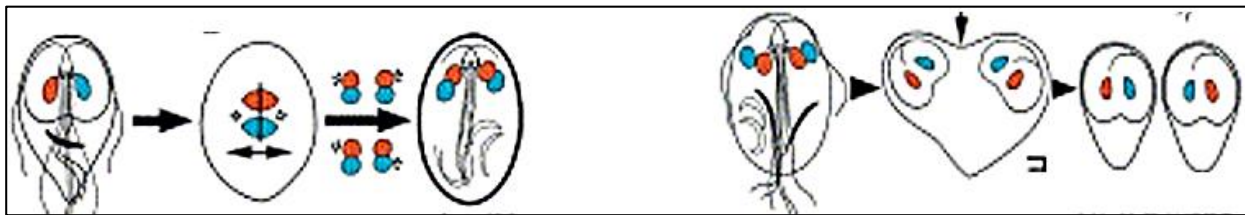
La cisti contiene un doppio trofozoita: quando si schiude verranno fuori 2 trofozoiti, quindi ci saranno **4 nuclei**. Hanno **4 corpi parabasali** e, all'interno, sono a volte visibili i flagelli.

Le cisti, **appena vengono emesse all'esterno sono già infettive e non necessitano di un periodo di maturazione**: se un cane infetto da *Giardia* defeca ed un altro cane annusa le feci, non necessariamente avrà la malattia, ma sicuramente sarà infettivo e diffonderà *Giardia*.



La replicazione del trofozoita avviene quando è adeso all'epitelio intestinale, per fissione binaria longitudinale.

**Nelle forme cistiche**, la moltiplicazione avviene dopo che queste hanno raggiunto l'ambiente esterno. Nelle cisti appena emesse sono generalmente distinguibili 2 nuclei e solo più tardi i 4 nuclei che formeranno 2 trofozoiti.



**Ciclo biologico**: inizia quando un mammifero ingerisce le cisti infettive.

Le cisti rappresentano lo stadio infettivo di *G. intestinalis* e possono sopravvivere nell'ambiente per molti mesi. Sono anche relativamente resistenti alla clorazione, al freddo ed all'esposizione ai raggi UV.

Quando vengono ingerite il pH dello stomaco favorisce l'ex-cistamento, quindi queste si aprono e fuoriescono i due trofozoiti.

L'ex-cistamento provoca anche l'attivazione dei flagelli, che fuoriescono rompendo la parete cistica. Questo processo avviene nel duodeno. È proprio nel piccolo intestino che esercitano la loro attività: si nutrono del glucosio che arriva tramite l'alimentazione dell'ospite definitivo e nel contempo schiacciano la mucosa, creando danni intestinali.

Si dividono ogni 12 ore, moltiplicandosi; nel frattempo restano adesi alla mucosa dell'intestino

finché quel pezzo di intestino non ha più elementi nutritivi da offrire, per poi spostarsi grazie ai loro flagelli.

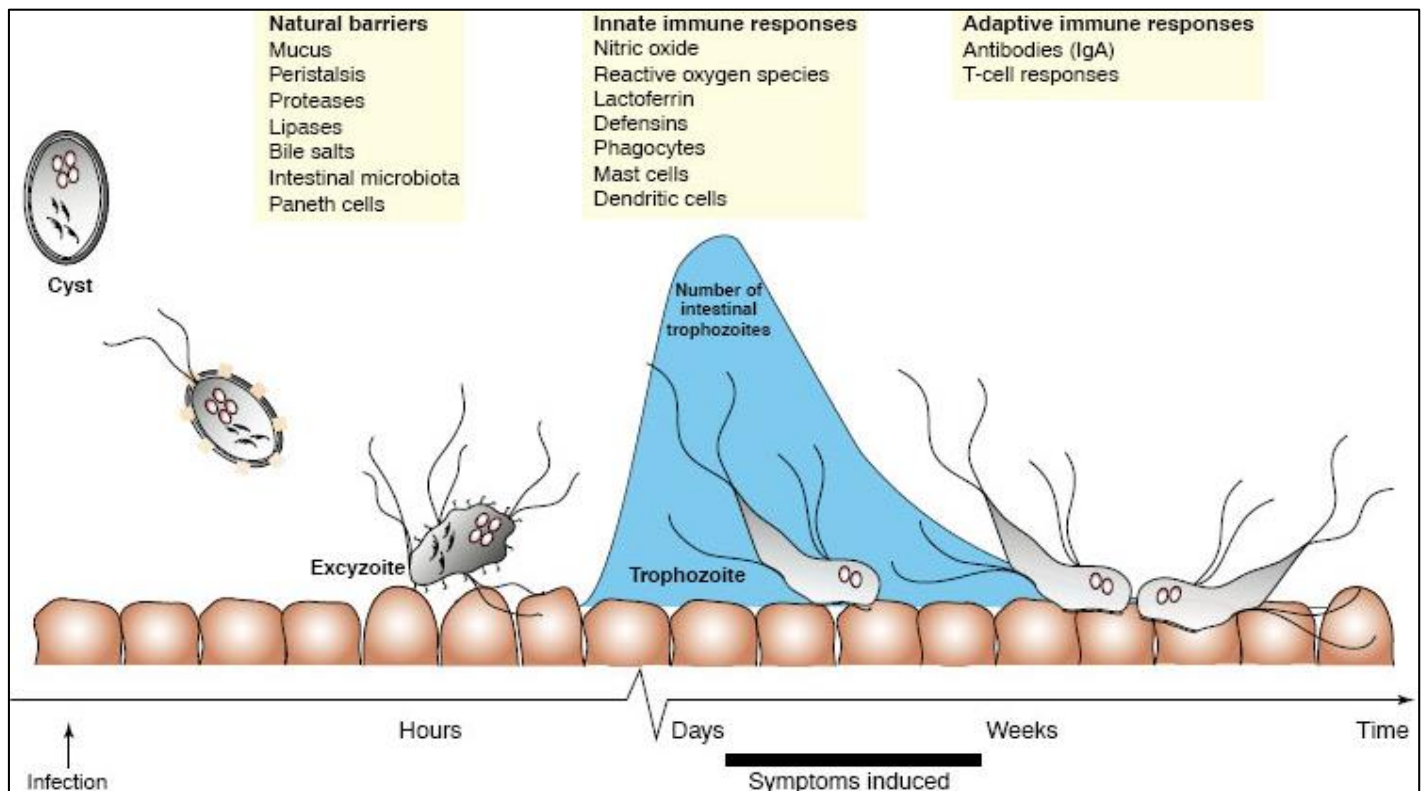
Possono sia nuotare liberi che restare adesi alla mucosa del lume intestinale attraverso le loro ventose ventrali.

Alcuni trofozoiti si incistano nel piccolo intestino, ma il processo di incistamento avviene quando i trofozoiti transitano nel grosso intestino, probabilmente per l'esposizione ai sali biliari che rendono l'ambiente più alcalino. Sia le cisti che i trofozoiti passano all'esterno tramite le feci.

In pratica avviene che molti trofozoiti si staccano dalla mucosa dell'intestino e poi arrivano nel grosso intestino. A causa di un cambio di pH si incistano a questo livello, formando la parete cistica e vengono riemessi all'esterno attraverso le feci come cisti.

Il trofozoita non sopravvive molto nell'ambiente esterno e spesso capita che qualcuno di essi non si incisti e muoia. Le cisti, invece, possono resistere anche mesi grazie alla loro parete spessa.

In 1 g di feci ci possono essere, di fronte ad infestazioni gravi, fino a 300 milioni di cisti.



Possiamo osservare, nell'immagine, l'interazione di *Giardia lamblia* con l'intestino umano.

L'infezione del piccolo intestino con questo protozoo parte, generalmente, con l'ingestione di cisti che esistono nella parte iniziale del tenue. A questo processo segue la liberazione dei trofozoiti.

La dose infettante è molto bassa e va da 10 a 100 cisti di *Giardia* necessarie perché si abbiano i sintomi.

I trofozoiti si stabiliscono nell'intestino tenue e moltiplicano nel lume. Ad una certa concentrazione intestinale di trofozoiti si ha la comparsa della sintomatologia – generalmente da 6 a 15 giorni dopo l'infezione.

Il sistema immunitario dell'intestino è molto complesso ed in grado di discriminare antigeni diversi presenti nel cibo e nei liquidi che ingeriamo, ma anche nei batteri nostri commensali e nei patogeni in risposta a stimoli esterni.

Le differenti porzioni del sistema immunitario intestinale sono mostrate, nell'immagine, nell'ordine in cui interagiscono con *Giardia* durante l'infezione.

Il numero di trofozoiti nell'intestino durante l'infezione è rappresentato dall'area colorata di azzurro.

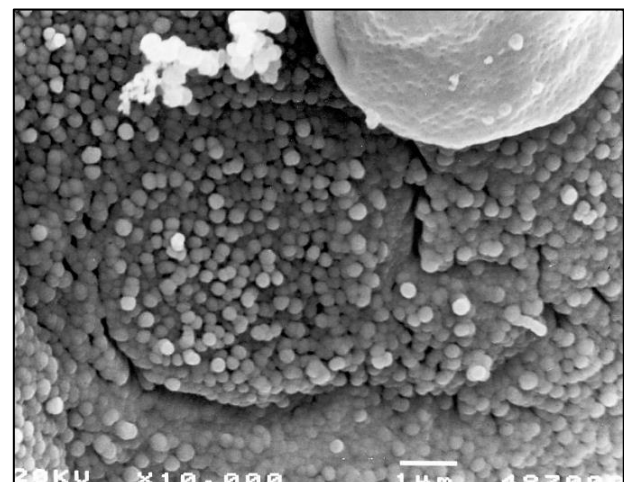
Localmente, la concentrazione di trofozoiti può essere alta e un paziente affetto da giardiasi può ospitare  $1 \times 10^8$  cisti vitali per grammo di materiale fecale.

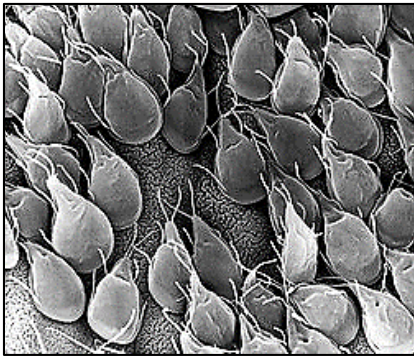
Bastano circa 10 cisti ingerite perché nell'ospite si possa parlare di infezione; tuttavia, non sempre l'ingestione corrisponde alla malattia, ma se il sistema immunitario non funziona correttamente allora sì.

Il ciclo parte dal momento in cui l'animale ingerisce le cisti fino a che nuove cisti non vengono espulse con le feci: può durare dai 4 ai 10-15 giorni, a seconda dello stato del sistema immunitario – ovviamente più veloce se il sistema immunitario è compromesso.

È importante ricordare che l'espulsione delle cisti non è costante: ecco perché è necessario fare più di un esame delle feci e questo è fondamentale per quanto riguarda la diagnosi.

**Patogenesi:** *Giardia* provoca un danno meccanico irritativo alla mucosa intestinale, distruggendo ed appiattendolo i microvilli, che quindi perdono la loro capacità assorbente e non producono più gli enzimi di membrana.



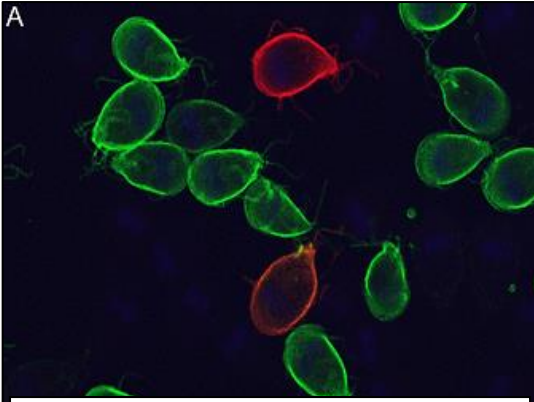


I dischi adesivi, che riescono con le loro parti periferiche ad inserirsi tra i microvilli degli enterociti, causano un danno meccanico che provoca la distruzione dell'epitelio intestinale (i villi si appiattiscono, gli enterociti vengono distrutti e perdono gli enzimi disaccaridici di membrana).

Come conseguenza si avrà *infiammazione* dell'intestino, *malassorbimento*, *animali che non crescono* e che sono *magri* (cosa che si vede soprattutto nei vitelli), dato che non riescono più ad assorbire il cibo.

**Immuno-evasione:** se il sistema immunitario non funziona correttamente

*Giardia* ha una vita relativamente semplice, ma anche se questo funziona comunque possiede dei meccanismi, riuscendo a creare una certa *immuno-evasione*: *Giardia* è in grado di cambiare le proteine di superficie, quindi i suoi antigeni si modificano regolarmente, cosicché il sistema immunitario dell'ospite non riesca a fare in tempo a riconoscere *Giardia* come non-self, come antigene, perché nel frattempo essa ha cambiato gli antigeni di superficie.



Trofozoiti in coltura legati a due anticorpi monoclonali per proteine VSP:

- » T. In verde= VSP9B10.
- » T. In rosso= VSP1267.
- » Trofozoiti non legati = esprimono antigeni non rilevati dai 2 anticorpi

Per sopravvivere nell'ambiente intestinale, quindi, *Giardia* subisce una variazione antigenica, processo in cui il parassita cambia in continuazione le sue molecole di superficie. Ciò fa sì che il parassita riesca ad eludere il sistema immunitario dell'ospite, producendo infezioni croniche e ricorrenti.

Il meccanismo attraverso il quale riesce a far ciò è una variazione antigenica che comprende delle proteine di membrana specifiche (VSPs, *Variant-specific Surface Proteins*).

La maggior parte dei parassiti esprime un certo antigene di superficie che è riconosciuto dall'anticorpo e quindi dal sistema immunitario dell'ospite come non-self. Tuttavia, alcune specie di parassiti – come *Giardia* – hanno sviluppato l'espressione di altri antigeni differenti, che non sono riconosciuti immediatamente dal sistema immunitario: in questo modo, il parassita riesce continuamente ad evadere il sistema immunitario grazie alle

proteine di superficie che cambiano.

**Segni clinici:** nella maggior parte dei soggetti infetti l'infezione è asintomatica, cioè la replicazione del parassita è ben controllata dal sistema immunitario dell'ospite.

Sintomi clinici si osservano più frequentemente in **soggetti giovani, immunodepressi** od in **soggetti che vivono in comunità** (allevamenti, canili, gattili).

Il periodo di prepatenza va dai 6 ai 15 giorni.

*Giardia* provoca una "banalissima" **diarrea** e non ha nessun aspetto caratteristico, ma si può sospettare in animali cuccioli, piccoli, giovani: è difficile che si vedano sintomi in animali di 6-10 anni. I piccoli, invece, sono particolarmente esposti perché hanno il sistema immunitario ancora poco competente, soprattutto cuccioli che vengono da canili o gattili, ovvero quei luoghi in cui l'infestazione è semplice perché troviamo molti animali che vivono a stretto contatto.

Quindi la diarrea è il sintomo più comune, quale risultante di un'enterite e dell'alterata secrezione intestinale.

La diarrea può manifestarsi in forma **acuta** (per 2-4 giorni), soprattutto nei giovani, **cronica** od **intermittente** (generalmente in adulti ed anziani).

Le feci si presentano spesso soffici, schiumose, maleodoranti e steatorriche.

Nei soggetti immunocompromessi (anche temporaneamente, magari in seguito a stress di diversa natura) le localizzazioni "profonde" del parassita sono più frequenti (a livello della lamina propria, delle vie biliari, delle vie urinarie, della cavità peritoneale del cane e gatto), con sintomi più gravi, quali ittero e coliche.