



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO-VETERINARIE

Corso di Laurea Magistrale a Ciclo Unico in Medicina Veterinaria

EOSINOFILIA NEL CANE E NEL GATTO: È ASSOCIATA AGLI ENDOPARASSITI?

PERIPHERAL BLOOD EOSINOPHILIA IN DOGS AND CATS: IS IT ASSOCIATED WITH ENDOPARASITES?

Relatore:

Chiar.ma Prof.ssa Serena CROSARA

Correlatore:

Dott.ssa Maria Chiara SABETTI

Laureando:
Linda DANIELI

ANNO ACCADEMICO 2022-2023

Sommario

1. GLI EOSINOFILI.....	6
1.1 Maturazione degli eosinofili.....	6
1.1.1 <i>Microambiente midollare</i>	6
1.1.2 <i>I precursori degli eosinofili</i>	7
1.2 Struttura, morfologia e contenuto cellulare	9
1.3 Migrazione tissutale.....	11
1.4 Modalità di secrezione dei granuli	11
1.5 Funzioni degli eosinofili	11
1.5.1 <i>Infezioni batteriche, virali, fungine e protozoarie</i>	12
1.5.2 <i>Infestazioni parassitarie</i>	12
1.5.3 <i>Reazioni da ipersensibilità</i>	13
1.5.4 <i>Ruolo immunoregolatore</i>	14
1.5.5 <i>Riparazione e rimodellamento dei tessuti</i>	14
1.5.6 <i>Neoplasie</i>	15
1.6 Conta strumentale e interpretazione	15
1.7 Sistema ematologico ADVIA 2120-2120i.....	16
1.7.1 <i>Metodo della perossidasi</i>	17
1.7.2 <i>Metodo Basofilia-lobularità</i>	18
1.7.3 <i>Utilizzo del canale dei reticolociti per il conteggio degli eosinofili del gatto</i>	19
2.0 L'EOSINOFILIA IN MEDICINA INTERNA E NELLE MALATTIE PARASSITARIE	
.....	20
2.1 Interpretazione clinico patologica dell'eosinofilia	20
2.1.1 <i>Cause infettive-infiammatorie</i>	20
2.2.3 <i>Cause parassitarie</i>	21
2.2.4 <i>Cause neoplastiche</i>	21
2.2.5 <i>Cause autoimmuni</i>	21
2.2.6 <i>Cause ormonali</i>	22
2.2.7 <i>Miscellanea</i>	22
2.2 Parassiti associati ad eosinofilia	22
2.2.1 <i>Spirocerca lupi</i>	23
2.2.2 <i>Physaloptera praeputialis</i>	25
2.2.2 <i>Ascariidiosi</i>	26
2.2.4 <i>Giardia duodenalis</i>	28
2.2.5 <i>Coccidiosi</i>	30
2.2.6 <i>Sarcocystis spp.</i>	33
2.2.7 <i>Famiglia Ancylostomatidae</i>	34
2.2.8 <i>Strongyloides stercoralis</i>	36
2.2.9 <i>Trichuris vulpis</i>	38

2.2.10 <i>Angiostrongylus vasorum</i>	39
2.2.11 <i>Aelurostrongylus abstrusus</i> e <i>Troglostrongylus brevior</i>	41
2.2.12 <i>Eucoleus aerophilus</i> (<i>Capillaria aerophila</i>).....	42
2.2.13 <i>Crenosoma vulpis</i>	44
2.2.14 <i>Oslerus osleri</i>	45
2.2.15 <i>Filaroides hirti</i>	46
2.2.16 <i>Paragonimus kellicotti</i>	48
3.0 PARTE SPERIMENTALE	50
3.1 Introduzione	50
3.2 Obiettivi dello studio	50
3.3 Materiali e metodi	50
3.3.1 <i>Tipo di studio</i>	50
3.3.2 <i>Criteri d'inclusione</i>	51
3.3.3 <i>Criteri di esclusione</i>	51
3.3.4 <i>Disegno di studio</i>	51
3.3.5 <i>Protocollo operativo per l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico presso il Laboratorio di Patologia Clinica Veterinaria dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico, UniPr</i>	51
3.3.6 <i>Protocollo operativo per l'esecuzione dell'esame copromicroscopico mediante metodica mini-FLOTAC e tecnica di Baermann presso il Laboratorio di Parassitologia Veterinaria, UniPr</i>	53
3.3.7 <i>Protocollo operativo per l'acquisizione di informazioni cliniche e anamnestiche relative ai pazienti</i>	56
3.3 Risultati	57
4.0 DISCUSSIONE.....	64
4.1 Conclusione	70
BIBLIOGRAFIA	76
ALLEGATI.....	71

INDICE DELLE FIGURE

Figura 1: Raffigurazione schematica dei componenti del midollo	7
Figura 2 <i>Modello generale di emopoiesi</i>	8
Figura 3 <i>:Precursori degli eosinofili</i>	8
Figura 4: <i>Eosinofili del cane e del gatto</i>	9
Figura 5: <i>Granulocita eosinofilo, dettaglio dei granuli</i>	11
Figura 6: <i>Citogramma perox</i>	17
Figura 7: <i>Eosinofili nel citogramma perox</i>	19
Figura 8: <i>Canale baso</i>	19
Figura 9: <i>Uovo di Spirocerca lupi</i>	24
Figura 10: <i>Uova di T. canis, T. cati e T. leonina</i>	27
Figura 11: <i>Trofozoita di Giardia duodenalis</i>	29
Figura 12: <i>Oocisti di C. caninum</i>	32
Figura 13: <i>Uova di Uncinaria stenocephala, Ancylostoma caninum e Ancylostoma tubaeforme</i>	35
Figura 14: <i>Larva L1 di Strongyloides stercoralis</i>	37
Figura 15: <i>Uovo di Trichuris vulpis</i>	38

Figura 16: Larva L1 di <i>Angiostrongylus vasorum</i>	40
Figura 17: Larva L1 di <i>A. abstrusus</i> ; larva L1 di <i>T. brevior</i>	42
Figura 18: Uova di <i>E. aerophilus</i>	43
Figura 19: Larva L1 di <i>Crenosoma vulpis</i>	44
Figura 20: Larva L1 di <i>Oslerus osleri</i>	46
Figura 21: Larva L1 di <i>Filaroides hirthi</i>	47
Figura 22: Uovo di <i>P. kellicotti</i>	49

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1: Intervallo di riferimento degli eosinofili nel cane e nel gatto.....	16
Tabella 2: Mediana e range degli eosinofili per ciascuna categoria di malattie che ha causato eosinofilia nel cane..	59
Tabella 3: Profilassi dei cani inclusi.....	61
Tabella 4: Mediana e range degli eosinofili per ciascuna categoria di malattie che ha causato eosinofilia nel gatto..	63
Tabella 5: Profilassi dei gatti inclusi.....	64

INTRODUZIONE

In ambito clinico le parassitosi gastrointestinali del cane e del gatto sono di frequente riscontro. Esse causano una varietà di segni clinici gastrointestinali (diarrea, ematochezia, prurito perianale) che possono variare a seconda dell'età degli animali colpiti (Riggio *et al.*, 2013). I cuccioli e gli animali giovani mostrano infatti segni clinici più accentuati rispetto agli animali adulti in cui i segni sono spesso più limitati. Seppure diversi studi riportino la presenza di alterazioni clinico-patologiche in corso di infestazione parassitaria da ematofagi ed emoparassiti (Kottadamane *et al.*, 2017; Thongsahuan *et al.*, 2020; Bonilla-Aldana *et al.*, 2022), la letteratura non ha ancora descritto il loro ruolo in corso di endoparassitosi. Sebbene in ambito clinico è frequente l'associazione dell'eosinofilia con una infestazione parassitaria, l'entità della carica e la varietà di specie parassitarie che possono infestare l'ospite rende il dato sull'eosinofilia non facilmente interpretabile.

Sebbene l'esame coprologico sia diventato un esame di routine nella clinica dei piccoli animali l'associazione eosinofilia-parassitosi comporta spesso, soprattutto in realtà ambulatoriali e in proprietari low-budget, l'inserimento della terapia antiparassitaria senza conferma coprologica. L'attuale problematica dell'antibiotico resistenza che si estende anche alle molecole antiparassitarie pone la necessità di studiare in modo prospettico il reale legame delle alterazioni clinico patologiche e in modo particolare dell'eosinofilia in corso di infestazione. L'ipotesi è che sia sovrastimata la correlazione tra eosinofilia e parassiti gastrointestinali. Non solo questo può far trascurare il rilevamento clinico, e quindi malattie sottostanti, ma comporta anche l'utilizzo di molecole antiparassitarie senza conferma coprologica.

Lo scopo di questo Lavoro di Tesi è valutare se esiste un'associazione tra il riscontro di eosinofilia ematica e la positività agli endoparassiti nel cane e nel gatto.

1. GLI EOSINOFILI

Nel cane e nel gatto i granulociti eosinofili rappresentano circa il 2% della popolazione leucocitaria circolante (Tizard, 2018b). Essi originano nel midollo osseo e, una volta intrapreso il circolo sanguigno, vi restano per circa 30 minuti prima di arrivare nei tessuti di destinazione, dove in condizioni fisiologiche hanno un'emivita media di 12 ore (Lilliehöök *et al.*, 2003; Tizard, 2018b). Gli eosinofili sono cellule pleotrofiche multifunzionali che svolgono ruoli fisiologici complessi. Essi intervengono nella risposta immunitaria del paziente, nei processi di rimodellamento tissutale e nello sviluppo cellulare (Kim e Jung, 2020; Young e Layne, 2022).

1.1 Maturazione degli eosinofili

1.1.1 Microambiente midollare

La produzione di cellule del sangue avviene nel midollo osseo delle ossa piatte, delle vertebre e delle estremità prossimali di omero e femore (Stacy e Harvey, 2022).

Il midollo osseo è caratterizzato da cellule emopoietiche e da una componente stromale di tessuto connettivo, cellule endoteliali e matrice extracellulare (Stacy e Harvey, 2022).

Il tessuto connettivo è costituito da cellule reticolari, adipociti, elementi vascolari e cellule accessorie (Weiss, 1976).

La matrice extracellulare viene prodotta dalle cellule stromali ed è composta da fibre collagene, laminina, reticolina, fibronectina, acqua, sali, glicosaminoglicani e glicoproteine (Kuter *et al.*, 2007; Harvey, 2012a; Stacy e Harvey, 2022).

I componenti dello stroma forniscono supporto strutturale alle cellule emopoietiche e attraverso la secrezione di citochine, fattori di crescita e ormoni creano un microambiente che regola la sopravvivenza, la proliferazione e la differenziazione delle cellule staminali emopoietiche (Abboud e Lichtman, 2006; Carr, 2010; Stacy e Harvey, 2022a).

Il midollo osseo è un organo molto vascularizzato e l'apporto di sangue viene garantito dalle arterie nutritive che attraversando la corticale dell'osso. Dalle diramazioni delle arterie originano i capillari che nella cavità midollare confluiscono tra di loro per formare dei seni venosi (Stacy e Harvey, 2022). I seni venosi infine sboccano all'interno di una grande vena centrale, dalla quale il sangue prende la via sistemica attraverso la vena emissaria che passa per il foro nutritivo dell'osso (Abboud e Lichtman, 2006; Stacy e Harvey, 2022).

Attorno ai seni venosi si dispone la complessa rete tridimensionale costituita dalle cellule del tessuto midollare; si distingue quindi uno spazio midollare extravascolare e uno spazio midollare intravascolare (Stacy e Harvey, 2022).

Lo spazio midollare extravascolare comunica con lo spazio intravascolare e attraverso la migrazione transendoteliale le cellule emopoietiche mature lasciano il midollo per intraprendere il circolo sistemico (Nilsson e Simmons, 2004; Sage e Carman, 2009).

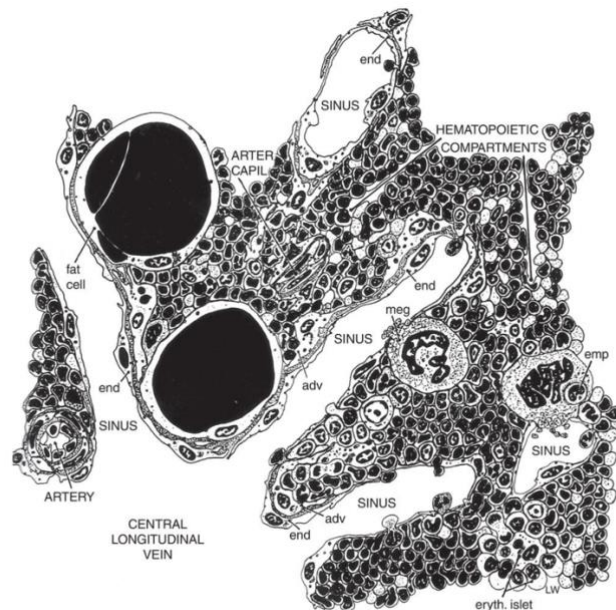


Figura 1: Rappresentazione schematica dei componenti del midollo (tratta da Schalm's Veterinary Hematology, edizione 7)

1.1.2 I precursori degli eosinofili

La produzione delle cellule del sangue avviene nel midollo a partire dalle cellule staminali emopoietiche (Stacy e Harvey, 2022).

Le cellule staminali emopoietiche sono cellule multipotenti in grado di auto rigenerarsi a lungo termine e di differenziarsi sia nei progenitori comuni mieloidi sia nei progenitori comuni linfoidi (Kiel e Morrison, 2008). Quest'ultime, rispetto alle cellule staminali, sono dotate di una maggiore capacità replicativa e di una minore possibilità di auto rigenerazione. Dai progenitori comuni linfoidi originano altre cellule progenitrici che si differenzieranno progressivamente in linfociti B, linfociti T e cellule *Natural Killer* (Borjesson e Overmann, 2022).

Dai progenitori comuni mieloidi originano le cellule progenitrici comuni di megacariociti ed eritrociti e le cellule progenitrici comuni di granulociti e macrofagi. Quest'ultime si differenzieranno successivamente in progenitori dei macrofagi e in progenitori dei granulociti.

Dal progenitore dei granulociti si svilupperanno due precursori denominati GATA+ e GATA-; il GATA+ si differenzia nei precursori di eosinofili e basofili, il precursore GATA- si indirizza verso i precursori dei neutrofilo (Weller e Spencer, 2017).

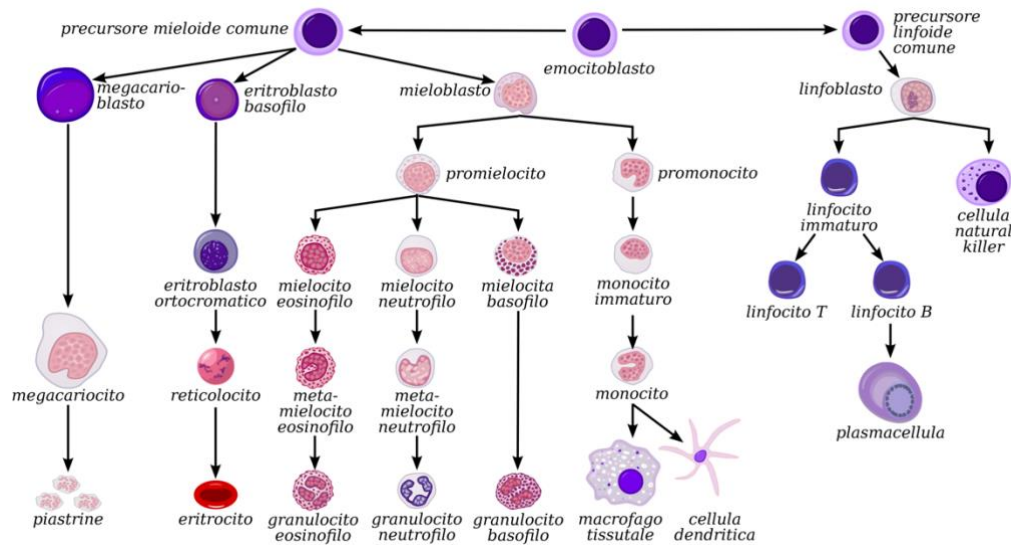


Figura 2 modello generale di emopoiesi. (Tratto da https://amsacta.unibo.it/id/eprint/3437/31/30-fisiopatologia_del_sistema_eritrocitario_II_ed_ebook.pdf).

Il progenitore degli eosinofili affronta diverse tappe maturative che comprendono gli stadi di mieloblasto, promielocita, mielocita, metamielocita e una forma banda che evolve successivamente in cellula matura (Harvey, 2012c).

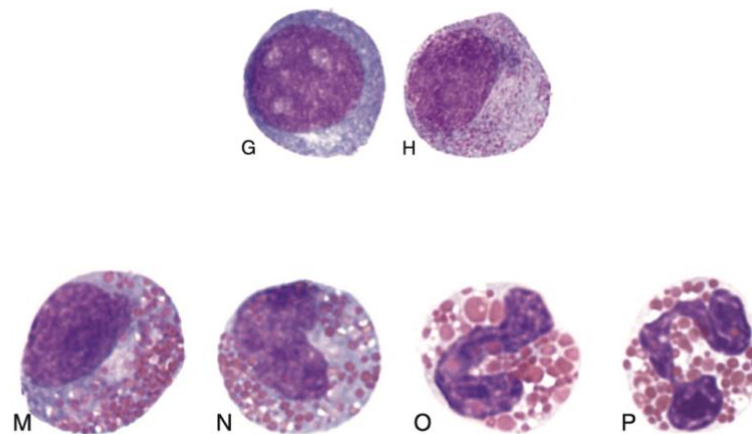


Figura 3: Precursori degli eosinofili: G: mieloblasto con citoplasma blu privo di granuli chiaramente visibili. Il nucleo ha cromatina finemente aggregata e contiene tre nucleoli circolari.

H: promielocita con citoplasma blu contenente molti granuli di colorazione magenta

M: Mielocita eosinofilo con un nucleo rotondo e tanti granuli eosinofili nel citoplasma.

N: Metamielocita eosinofilo con nucleo a forma di rene e granuli eosinofili nel citoplasma.

O: Eosinofilo banda con granuli eosinofili nel citoplasma

P: Eosinofilo maturo

(Modificato da Harvey, 2012c).

Durante questo processo, cambia l'aspetto della cellula che diminuisce di dimensioni e vede una riduzione del rapporto nucleo-citoplasma; nello stadio di mielocita compaiono i granuli citoplasmatici che permettono di discriminare le varie tipologie di granulociti. Allo stadio di metamielocita il nucleo, che prima era rotondo, si allunga fino a formare, nello stadio finale, la caratteristica indentatura (Harvey, 2012c).

La via che conduce verso il lignaggio eosinofilo è sotto il controllo di citochine e fattori critici di trascrizione, che forniscono segnali per la differenziazione e la proliferazione cellulare (Hara e Miyajima, 1996; Rothenberg e Hogan, 2006).

Sebbene il percorso di differenziazione cellulare sopradescritto preveda una differenziazione cellulare selettiva, studi recenti hanno dimostrato come tale processo, sotto l'influenza di citochine e fattori di crescita, possa perdere la sua selettività. È stato dimostrato che neutrofilii immaturi, definiti anche cellule mieloidi multipotenti, sotto stimoli infiammatori appropriati, si possano differenziare in eosinofili e monociti. Di conseguenza, gli eosinofili possono essere generati non solo da progenitori eosinofili unipotenti precedentemente definiti, ma anche da cellule mieloidi multipotenti (Berdnikovs, 2021).

1.2 Struttura, morfologia e contenuto cellulare

Gli eosinofili sono leucociti polimorfonucleati, così denominati per via del nucleo segmentato, caratteristica che condividono con neutrofilii e basofili. Gli eosinofili presentano dimensioni cellulari di 12-17 μm (Harvey, 2012c).

Insieme, neutrofilii, basofili ed eosinofili vengono identificati anche con il termine di granulociti per via della presenza di granuli intracitoplasmatici (Harvey, 2012c).

La dimensione, la forma e il numero dei granuli degli eosinofili variano considerevolmente da specie a specie (Harvey, 2012c).

Nel cane i granuli assumono una forma tondeggiante; nei soggetti appartenenti alla razza Greyhound possono avere dimensioni maggiori rispetto a quelli delle altre razze ed essere accompagnati a vacuolizzazioni citoplasmatiche (Harvey, 2012c).

Nei gatti domestici i granuli assumono una forma allungata e sono immersi in un citoplasma debolmente azzurro (Harvey, 2012c).

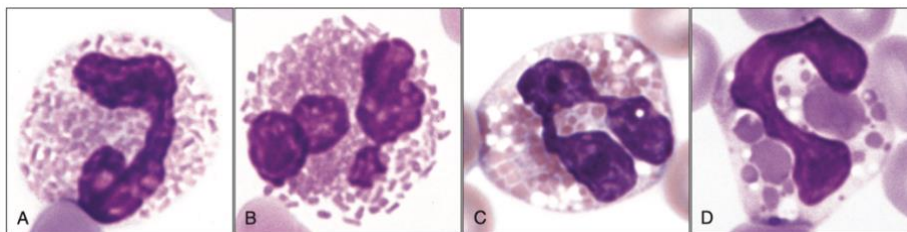


Figura 4: Eosinofili del cane e del gatto: A e B, eosinofili di gatto; C e D, eosinofili di cane (Modificato da Harvey, 2012c).

Esistono tre tipologie di granuli citoplasmatici: i granuli specifici (detti anche secondari o cristalloidi), i granuli primari e i piccoli granuli densi (Hogan *et al.*, 2008; Young e Layne, 2022). Di questi, i granuli specifici sono quelli maggiormente rappresentati. Compaiono allo stadio di mielocita e le loro caratteristiche di colorazione distinguono gli eosinofili dagli altri granulociti (McEwen, 1992; Bainton, 2005; Harvey, 2012c; Young e Layne, 2022). Essi contengono la maggior parte delle proteine cationiche tipiche degli eosinofili, ovvero la proteina basica maggiore (MBP), la proteina cationica eosinofila (ECP), la perossidasi eosinofila (EPO) e la neurotossina derivata dagli eosinofili (EDN) (McEwen, 1992).

La MBP, l'ECP e l'EPO mediano una tossicità diretta nei confronti di batteri, virus, protozoi, parassiti, micoplasmi, funghi, cellule tumorali e cellule epiteliali provocando un danno diretto a livello di membrana cellulare. L'MBP inoltre stimola i fattori che favoriscono il rimodellamento delle cellule epiteliali, aumenta la permeabilità vascolare, promuove l'attivazione piastrinica e stimola la contrazione della muscolatura liscia (Rosenberg e Domachowske, 2001; Walsh, 2001; Hogan *et al.*, 2008; Blanchard e Rothenberg, 2009; Young e Layne, 2022).

L'EDN ha attività ribonucleasica e antivirale, danneggia le fibre mielinizzate dei nervi (assieme all'ECP) ed è coinvolta nel contrastare i virus respiratori (Young e Layne, 2022).

Tutte e tre le proteine infine collaborano con le altre cellule immunitarie favorendone l'attivazione (Yang *et al.*, 2008; Young e Layne, 2022).

I granuli primari e i piccoli granuli densi contengono rispettivamente la perossidasi eosinofila e la proteina cationica eosinofila.

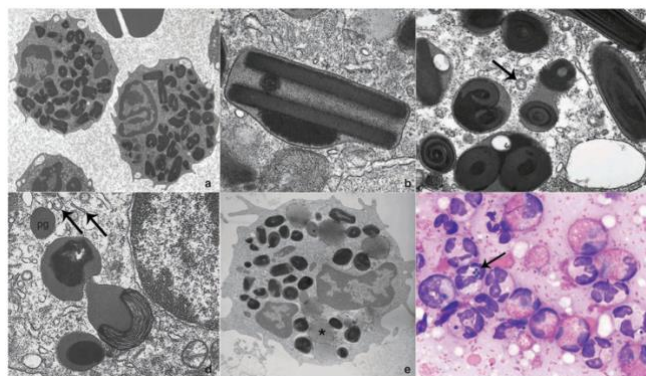


Figura 5: granulocita eosinofilo, dettaglio dei granuli (tratta da Young e Layne, 2022)

Gli eosinofili oltre alle proteine dei granuli sintetizzano una serie di citochine, chemochine, fattori di crescita e altri enzimi che intervengono nelle varie funzioni della cellula all'interno dell'organismo (Young e Layne, 2022).

1.3 Migrazione tissutale

La mobilitazione attraverso l'endotelio vascolare è un processo multifase che prevede una fase iniziale di rotolamento, seguita da un'adesione ferma della cellula all'epitelio che porta poi alla migrazione vera e propria nel sito di destinazione.

Ciascuna fase è regolata dall'interazione coordinata tra citochine, chemochine e molecole di adesione presenti costitutivamente sia sull'eosinofilo che sull'endotelio vascolare (Mishra *et al.*, 1999; Young e Layne, 2022)

1.4 Modalità di secrezione dei granuli

La secrezione dei granuli avviene attraverso tre modalità: la via di esocitosi classica, la degranulazione citolitica e la degranulazione frammentaria.

La via di esocitosi classica è poco frequente in vivo e prevede la fusione dei granuli intracellulari alla membrana plasmatica della cellula; a seguito della fusione il contenuto granulare viene liberato all'esterno (Kim e Jung, 2020).

Con la degranulazione citolitica i granuli citoplasmatici vengono rilasciati intatti all'esterno per via della dissoluzione della membrana cellulare dell'eosinofilo conseguente ad un fenomeno di apoptosi cellulare (Ueki *et al.*, 2013; Spencer *et al.*, 2014). I granuli sono dotati di recettori per citochine, chemochine ed eicosanoidi che guidano il rilascio del loro contenuto in ambiente esterno (Ueki *et al.*, 2016; Kim e Jung, 2020).

Con la degranulazione frammentaria intervengono delle vescicole secretorie che originano dai granuli, inglobano parte del loro contenuto e lo riversano esternamente. Questa modalità preserva l'integrità cellulare e consente la degranulazione differenziale dei prodotti degli eosinofili in risposta alle stimolazioni proveniente dall'esterno (Spencer *et al.*, 2014; Kim e Jung, 2020).

1.5 Funzioni degli eosinofili

Gli eosinofili sono cellule appartenenti alla risposta immunitaria innata e grazie all'ampia disponibilità di citochine, chemochine, mediatori lipidici, molecole di adesione e recettori instaurano una fitta rete di comunicazione con le cellule appartenenti al sistema immunitario e ai tessuti a cui è destinato (Spencer *et al.*, 2014; Kim e Jung, 2020; Berdnikovs, 2021). Questo gli consente di ricoprire diverse funzioni: intervengono nella clearance di agenti patogeni infettivi e parassitari, partecipano alle reazioni da ipersensibilità di tipo I, hanno ruoli immunoregolatori, contribuiscono al rimodellamento tissutale, partecipano all'immunità in corso di neoplasie e rivestono una serie di altri ruoli omeostatici (Spencer *et al.*, 2014; Weller e Spencer, 2017; Kim e Jung, 2020; Berdnikovs, 2021; Gurtner *et al.*, 2021; Young e Layne, 2022;).

1.5.1 Infezioni batteriche, virali, fungine e protozoarie

In corso di infezioni batteriche, virali, fungine e protozoarie gli eosinofili possiedono una serie di recettori in grado di riconoscere porzioni di molecole caratteristiche di alcuni patogeni. L'interazione dei recettori con queste molecole stimola l'attività fagocitaria della cellula e promuove il rilascio di citochine, chemochine, proteine dei granuli, leucotrieni e specie reattive dell'ossigeno che creano un danno diretto ai patogeni. Inoltre, il granulocita eosinofilo è dotato di molecole presentanti l'antigene che espongono antigeni solubili di origine virale e parassitaria alle altre cellule immunitarie (in particolare ai linfociti T), promuovendo il loro reclutamento e attivazione nel sito di infezione (Ravin e Loy, 2016; Young e Layne, 2022).

1.5.2 Infestazioni parassitarie

Studi in vitro hanno dimostrato che gli eosinofili sono in grado di svolgere il ruolo di cellule effettrici finali nelle infestazioni parassitarie. Nei confronti delle infestazioni da elminti, la risposta immunitaria dell'ospite prevede una citotossicità diretta mediata da un'attivazione dei linfociti T-helper II, con formazione di immunoglobuline e richiamo locale di eosinofili. Gli eosinofili sono dotati di appositi recettori di membrana in grado di riconoscere i parassiti opsonizzati dal complemento, dalle immunoglobuline di tipo G (IgG) e dalle immunoglobuline di tipo E (IgE). A seguito di questo riconoscimento rilasciano le proteine dei granuli citoplasmatici e potenti ossidanti extracellulari che agiscono sulla membrana del parassita danneggiandola (Harvey, 2012b).

In modelli murini e sull'uomo, studi condotti in vivo hanno dimostrato che in corso di infestazione da elminti gli eosinofili vengono richiamati nei tessuti da una serie di segnali molecolari (citochine, chemochine) che possono essere prodotti dalle cellule danneggiate dal parassita, dalla risposta immunitaria T-helper II o da sostanze rilasciate dal parassita stesso. Gli eosinofili possono attivarsi sia a seguito di un riconoscimento anticorpo dipendente (come in vitro) ma anche a seguito del riconoscimento di molecole associate al parassita o attraverso la secrezione di segnali molecolari derivati da parte del parassita stesso (Mitre e Klion, 2021).

Tuttavia, la risposta eosinofilica alle infestazioni elmintiche non è stata ad oggi del tutto chiarita. Fattori legati all'ospite e al parassita possono portare a risposte variabili e non sempre concordi. Negli ospiti suscettibili gli elminti possono sopravvivere per periodi molto lunghi, sebbene la

migrazione tissutale e la prima fase della infestazione sembrano essere determinanti per la mobilitazione eosinofila (Mitre e Klion, 2021).

Gli eosinofili contrastano i parassiti attraverso il rilascio delle proteine cationiche, di ossidanti cellulari e attraverso la secrezione di citochine. Queste strategie messe in atto dagli eosinofili sono mirate a contrastare l'infestazione sebbene possano esacerbare l'infiammazione locale e comportare conseguente danno tissutale. Quest'ultimo, per alcuni parassiti (es. *Trichinella spiralis*), può favorire l'infestazione stessa (Mitre e Klion, 2021; Jackson e Pavord, 2023).

1.5.3 Reazioni da ipersensibilità

Le reazioni di ipersensibilità di tipo I sono scatenate da un'aberrante risposta immunitaria nei confronti di antigeni che l'organismo riconosce come no-self. Queste reazioni sono dominate da una risposta di tipo T-helper II e da un'elevata produzione di immunoglobuline di tipo IgE. Questo tipo di immunoglobuline si lega ai mastociti, che sono concentrati a livello di cute, polmoni e intestino. Quando l'animale incontra nuovamente l'allergene, questo viene riconosciuto dalle immunoglobuline presenti sui mastociti, che si attivano e liberano il contenuto dei loro granuli, mediatori infiammatori e chemochine che sono importanti nel reclutamento selettivo degli eosinofili (Tizard, 2018b).

In questo contesto gli eosinofili si comportano come cellule effettrici; una volta attivate rilasciano il contenuto dei granuli e mediatori infiammatori che danneggiano la mucosa degli organi coinvolti e promuovono il mantenimento della risposta infiammatoria. Al tempo stesso le cellule danneggiate stimolano gli eosinofili a rilasciare citochine in grado di stimolare la riparazione tissutale (Williams, 2004; Rao *et al.*, 2017; Young e Layne, 2022).

I tessuti maggiormente coinvolti nei fenomeni da ipersensibilità di tipo I sono la cute, i polmoni e l'intestino (Young e Layne, 2022). Le dermatiti allergiche del cane e del gatto possono essere scatenate da una varietà di antigeni. Sono note reazioni da antigeni ambientali, alimentari o presenti nella saliva di insetti o parassiti (Lorenz, 1979). A livello polmonare, le reazioni di ipersensibilità possono manifestarsi mediante forme asmatiche di frequente riscontro nel gatto (Trzil, 2020). Esiste inoltre una categoria di disturbi la cui eziologia è ancora ignota ma che potrebbe essere legata a fenomeni di ipersensibilità di tipo I. Questi sono il complesso delle gastroenteriti eosinofile nel cane e la broncopneumopatia eosinofila del cane (Clercx e Peeters, 2007; Sattasathuchana e Steiner, 2014; Cianferoni e Spergel, 2015).

1.5.4 Ruolo immunoregolatore

Per quanto riguarda il loro ruolo immunoregolatore gli eosinofili comunicano attraverso la secrezione di citochine e tramite interazioni cellulari con le altre cellule dell'immunità innata e acquisita, dirigendone le funzioni sia nel contesto infiammatorio che omeostatico. Attraverso queste mutue interazioni, quindi, gli eosinofili possono agire promuovendo, smorzando e indirizzando le risposte immunitarie (Ravin e Loy, 2016; Gurtner *et al.*, 2021).

Il ruolo immunoregolatore è reso evidente nel tratto gastroenterico, dove gli eosinofili sono maggiormente distribuiti in condizioni omeostatiche. Qui intervengono nel mantenimento delle risposte immunitarie omeostatiche indirizzando lo switch isotipico delle plasmacellule verso la sintesi di immunoglobuline IgA, aventi un ruolo cruciale nella difesa in prima linea delle superfici delle mucose che si interfacciano con l'ambiente e che sono esposte a microrganismi potenzialmente patogeni e antigeni estranei (Weller e Spencer, 2017; Powell *et al.*, 2010). Garantiscono inoltre il mantenimento a lungo termine delle plasmacellule attraverso il rilascio di fattori che sostengono la loro sopravvivenza nel midollo.

Il ruolo immunoregolatore degli eosinofili durante l'omeostasi è stato studiato anche nella mucosa respiratoria; qui gli eosinofili residenti prevengono la sensibilizzazione agli allergeni inalati dagli animali da parte dei linfociti T-helper II (Mesnil *et al.*, 2016).

In qualità di cellule immunoregolatrici producono citochine che dirigono le funzioni dei macrofagi presenti nel tessuto adiposo, responsabili della regolazione del metabolismo del glucosio e nel controllo dell'obesità (Wu *et al.*, 2011).

1.5.5 Riparazione e rimodellamento dei tessuti

Gli eosinofili possono essere richiamati anche nei tessuti danneggiati o sottoposti a fenomeni di rimodellamento grazie alla disponibilità di particolari recettori in grado di riconoscere molecole associate al danno, citochine, chemochine e fattori di crescita rilasciati dalle molecole sottoposte a moltiplicazione. In questi contesti liberano citochine che stimolano la rigenerazione e il rimodellamento tissutale, come è stato visto in corso di danno alle cellule epiteliali della mucosa gastroenterica e polmonare (Williams, 2004; Lotfi, 2007; Lee *et al.*, 2010; Huang e Appleton, 2016; Ravin e Loy, 2016; Chusid, 2018).

Intervengono inoltre nella riparazione tissutale di organi altamente rigenerativi come il tessuto muscolare ed epatico, stimolando i progenitori residenti all'interno dei rispettivi organi (Goh *et al.*, 2013; Heredia *et al.*, 2013).

1.5.6 Neoplasie

Gli eosinofili sono di comune riscontro all'interno del microambiente tumorale di diverse neoplasie. Il loro ruolo resta oggi controverso ed è stato indagato in diversi studi condotti in vitro in ambito umano.

Gli eosinofili vengono richiamati nei tessuti tumorali da mediatori rilasciati dalle cellule neoplastiche, dalle cellule immunitarie e da segnali di stress prodotti dalle cellule necrotiche. La loro funzione viene influenzata dal microambiente tumorale; qui possono rivestire ruoli contrastanti.

Essi, infatti, possono danneggiare le cellule neoplastiche in modo diretto attraverso il rilascio delle proteine dei granuli e di ossidanti cellulari che stimolano l'apoptosi. Al tempo stesso intervengono in modo indiretto grazie ad una varietà di citochine che regolano la risposta immunitaria locale promuovendo la differenziazione dei linfociti T citotossici; inoltre secernono alcune citochine in grado di inibire l'angiogenesi tumorale. Gli eosinofili possono però rilasciare anche una serie di citochine che favoriscono la crescita tumorale; si è visto che sono in grado di indirizzare una risposta immunosoppressiva inibendo l'azione dei linfociti T citotossici e delle cellule Natural Killer, che hanno un ruolo cardine nell'eliminazione delle cellule neoplastiche (Simon *et al.*, 2019; Mattei *et al.*, 2020).

1.6 Conta strumentale e interpretazione

L'interpretazione dei dati di laboratorio ottenuti da singoli pazienti si basa sul confronto con degli intervalli di riferimento (RI) (Paltrinieri *et al.*, 2014). Per intervallo di riferimento si intende un insieme di valori entro il quale è possibile racchiudere il 95% dei risultati di laboratorio ottenuti da una popolazione di pazienti sani (Friedrichs *et al.*, 2012).

Il calcolo dei range di riferimento standard per una specie animale viene eseguito selezionando gruppi, possibilmente ampi (120 animali), di soggetti di entrambi i sessi, sani, appartenenti a razze diverse e con un'età variabile. Tuttavia, nell'interpretazione della conta totale degli eosinofili, è sempre opportuno tenere in considerazione la variabilità di razza. Sebbene non esistano RI specifici per ciascuna razza, alcuni studi hanno evidenziato un aumento nella conta totale nel Rottweiler e nel Pastore Tedesco (Lilliehöök *et al.*, 2003; Bourgès-Abella *et al.*, 2011; Lawrence *et al.*, 2013). Al contrario sono stati riportati valori al di sotto dei RI per il Breton, il Bracco Italiano, il Bleu de Gascogne, l'Ariegois, il Segugio Italiano, il Briquet Griffon Vandeens e il Setter Irlandese (Lawrence *et al.*, 2013; Miglio *et al.*, 2020).

Nel gatto c'è poca letteratura e quella disponibile ha indagato solo alcune razze che non hanno evidenziato alterazioni nel valore medio degli eosinofili (Paltrinieri *et al.*, 2014; Spada *et al.*, 2015; Ferriani *et al.*, 2022).

Secondo alcuni studi, l'effetto del sesso e dell'età nella conta degli eosinofili del cane e nel gatto non è un fattore determinante (Nielsen *et al.*, 2010; Bourghès-Abella *et al.*, 2011; Granat *et al.*, 2014; Lavoué *et al.*, 2014; Rørtveit *et al.*, 2015).

Sebbene i valori di riferimento descritti in letteratura ci permettano di fornire un'interpretazione della conta ottenuta è opportuno che ogni laboratorio calcoli intervalli di riferimento interni come da linee guida della società americana di patologia clinica veterinaria (Friedrichs *et al.*, 2012).

Esistono range di riferimento specifici per ogni analizzatore ematologico e per ogni specie animale (Moritz *et al.*, 2004). Quelli standard per il cane e il gatto calcolati con ADVIA 2120i sono riportati nella tabella sottostante

Parametro	Unità	Range di riferimento (a)	Range di riferimento (b)
<i>Eosinofili cane</i>	10 ⁹ /L	0-0.6	0.1-1.3
<i>Eosinofili gatto</i>	10 ⁹ /L	0.3-1.7	0-1.8

tabella 1: range di riferimento degli eosinofili per Advia 2120i :

a) valori estrapolati da Schaefer, (2022); McCourt e Rizzi, (2022). (schalm's veterinary hematology, ed.7).

b) valori estrapolati da Harvey, (2012e). *Veterinary Hematology, a Diagnosti Guide and Color Atlas*

1.7 Sistema ematologico ADVIA 2120-2120i

Il sistema ematologico ADVIA 2120-2120i è uno strumento di conteggio automatico delle cellule del sangue basato sulla citometria a flusso laser (Moritz *et al.*, 2004).

Nella citometria a flusso laser le cellule vengono fatte passare attraverso un fascio di luce. Ciascuna cellula è in grado di assorbire e deviare parte della luce che incontra e questo viene sfruttato dallo strumento per ricavare informazioni numeriche e qualitative (conta cellulare, tipologia di cellule).

Per la conta differenziale dei leucociti, ADVIA 2120-2120i sfrutta la citometria a flusso laser abbinata a due metodiche: la metodica della perossidasi e la metodica basofilia/lobularità (ADVIA 2120-2120i Operator's Guide, 2010).

1.7.1 Metodo della perossidasi

Il metodo della perossidasi distingue i leucociti in base alla loro attività perossidasi, resa manifesta grazie a reazioni colorimetriche che si scatenano in seguito all'aggiunta di appositi coloranti citochimici. Il processo è composto da due fasi. Nella prima fase avviene la lisi dei globuli rossi e il fissaggio dei globuli bianchi. Nella seconda fase, avviene la colorazione dei siti di attività perossidasi.

Neutrofili ed eosinofili hanno livelli significativi di attività perossidasi e si colorano maggiormente rispetto ai monociti, nei quali l'attività perossidasi è più ridotta. Linfociti basofili e altri elementi cellulari presenti nel campione restano incolore.

Una volta avvenuta la reazione, le cellule vengono fatte passare attraverso il raggio laser.

Le cellule più colorate assorbono più luce rispetto a quelle debolmente colorate o incolore e questo dato viene recepito da appositi fotodiodi. Esistono inoltre fotodiodi che rilevano in che modo le cellule deviano la luce, che è in relazione alle dimensioni cellulari.

I fotodiodi convertono le informazioni in segnali elettrici e da questi il macchinario crea un citogramma (ADVIA 2120-2120i Operator's Guide, 2010).

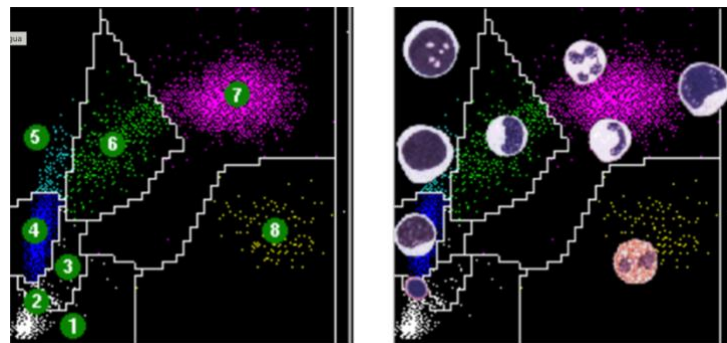


Figura 6: citogramma perox : 1: interferenza; 2: globuli rossi nucleati; 3: aggregati piastrinici; 4: linfociti e basofili; 5: cellule grandi non differenziate; 6: monociti; 7: neutrofili; 8: eosinofili (modificato da ADVIA Operator's guide, 2010)

Le cellule vengono collocate nell'area del citogramma in base alle loro caratteristiche di assorbimento e in base alle loro dimensioni. Si generano così dei cluster distinti formati da popolazioni cellulari con caratteristiche simili.

La macchina identifica le tipologie cellulari in base a dove si collocano i cluster nel citogramma; inoltre converte la densità di ciascun cluster di cellule in valori numerici.

Gli eosinofili sono cellule grandi pressappoco quanto i neutrofili ma nel citogramma non occupano la stessa posizione poiché gli eosinofili assorbono più luce e ne deviano di meno, apparendo alla macchina più piccoli (ADVIA 2120-2120i Operator's Guide, 2010).

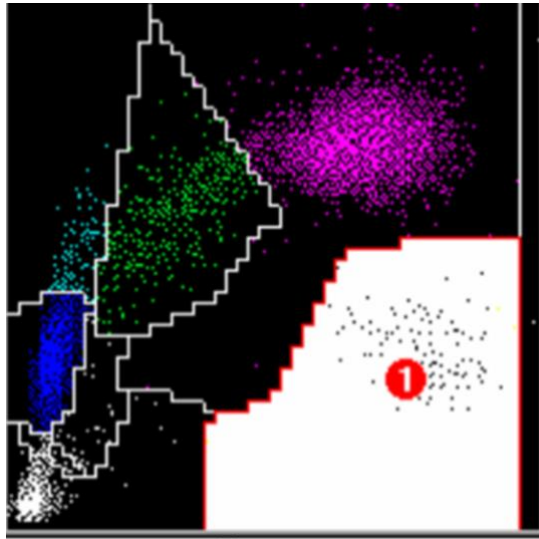


Figura 7: Eosinofili nel citogramma perox (punto 1) (modificato da ADVIA 2120-2120i Operator's Guide, 2010).

Il conteggio dei globuli bianchi si avvale anche dell'utilizzo del metodo basofilia-lobularità per annullare l'interferenza degli aggregati piastrinici che, essendo dotati di attività perossidasi, nel canale perox possono falsare la conta dei globuli bianchi (Moritz *et al.*, 2004).

1.7.2 Metodo Basofilia-lobularità

Il metodo basofilia-lobularità è in grado di identificare le cellule in base alla complessità del loro nucleo. Per fare questo, al campione ematico viene aggiunto un apposito reagente che lisa le membrane cellulari delle emazie e dei leucociti, eccetto quelle dei basofili che sono più resistenti. Successivamente il campione processato viene fatto passare attraverso la cella di flusso con il raggio laser. La luce che incontra i nuclei delle cellule lisate e i basofili viene deviata con angoli diversi in relazione alla dimensione dei nuclei/cellule (basofili) e alla loro complessità.

I segnali ottici vengono rilevati da fotodiodi che convertono le informazioni luminose in impulsi elettrici.

Il macchinario costruisce un diagramma, dove sulle ascisse vengono disposte le cellule in base alla complessità del nucleo, mentre sulle ordinate vengono disposte le cellule in base alle loro dimensioni.

Si generano così dei cluster cellulari e in base alla loro posizione e densità la macchina fornisce informazioni sul tipo cellulare e sulla conta.

I basofili sono rilevati in modo preciso; gli altri leucociti vengono così raggruppati: polimorfonucleati (neutrofili ed eosinofili) e monomorfonucleati (monociti e linfociti) (ADVIA 2120-2120i Operator's Guide, 2010).

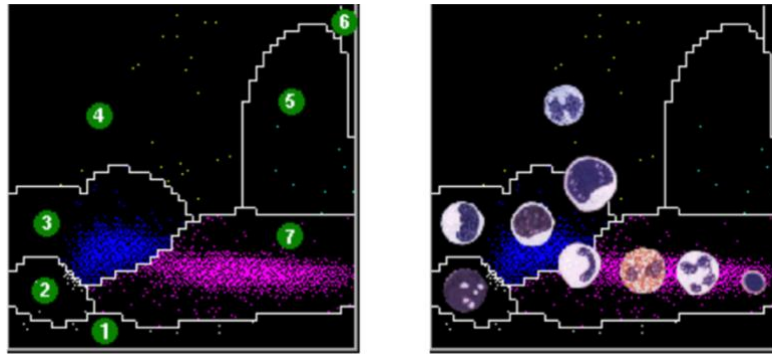


Figura 8: canale baso: 1: interferenza; 2: nuclei di blasti; 3: nuclei di monomorfonucleati (linfociti e monociti); 4: basofili; 5: sospetti basofili; 6: saturazione 7: nuclei di polimorfonucleati (neutrofili ed eosinofili). (modificato da ADVIA 2120-2120i Operator's Guide, 2010).

1.7.3 Utilizzo del canale dei reticolociti per il conteggio degli eosinofili del gatto

Gli eosinofili del gatto hanno un minor contenuto di perossidasi rispetto a quelli di altre specie e con la metodica della perossidasi non riescono ad essere distinti dai neutrofili.

Per questo motivo il sistema ADVIA 2120i sfrutta il reagente per i reticolociti per poter eseguire un corretto conteggio degli eosinofili del gatto. Nel canale dei reticolociti i leucociti del gatto non vengono lisati; neutrofili ed eosinofili vengono distinti in base alle dimensioni cellulari e alla granularità del citoplasma (Moritz *et al.*, 2004).

2.0 L'EOSINOFILIA IN MEDICINA INTERNA E NELLE MALATTIE PARASSITARIE

2.1 Interpretazione clinico patologica dell'eosinofilia

Con il termine eosinofilia si descrive un aumento del numero di eosinofili circolanti rispetto ai range di riferimento di specie (Lilliehöök *et al.*, 2000; Lilliehöök *et al.*, 2003). È la conseguenza di una serie di disturbi che provocano un aumento della produzione e del rilascio di eosinofili dal midollo osseo (Rothenberg, 1998; Young e Layne, 2022).

Le situazioni che scatenano l'eosinofilia nel cane e nel gatto possono essere transitorie o croniche e riguardano soprattutto organi dotati di superfici mucose, come l'intestino, i polmoni e la pelle, dove gli eosinofili sono maggiormente concentrati anche in condizioni omeostatiche (Weller *et al.*, 1996; Lilliehöök *et al.*, 2003; Young e Layne, 2022).

Le principali cause di eosinofilia vengono raggruppate in cinque principali categorie:

1. Infettive -infiammatorie
2. Parassitarie
3. Neoplastiche
4. Autoimmuni
5. Ormonali
6. Miscellanea

2.1.1 Cause infettive-infiammatorie

L'eosinofilia può essere conseguente a fenomeni di ipersensibilità di primo di tipo che possono esitare in manifestazioni cliniche quali forme asmatiche e dermatiti atopiche (Lilliehöök *et al.* 2000; Lilliehöök *et al.*, 2003; Grotheer *et al.*, 2019; Guija-de-Arespachoga *et al.*, 2022; Young e Layne, 2022). Tra le malattie infiammatorie possono associarsi al riscontro di eosinofilia periferica alcune malattie dall'eziologia non ancora chiarita; queste comprendono patologie dell'apparato respiratorio (broncopneumopatia eosinoflica del cane), del tratto gastroenterico (esofagite eosinoflica del cane e del gatto, malattia infiammatoria eosinoflica del gatto, gastroenterite eosinoflica del cane), il complesso granuloma-eosinoflico del gatto e la panosteite eosinoflica del cane (Bell *et al.*, 1995; Clercx *et al.*, 2000; Lilliehöök *et al.* 2000; Barrs *et al.*, 2002; Lilliehöök *et al.*, 2003; Buckley e Nuttall, 2012; Sattasathuchana e Steiner, 2014; Johnson *et al.*, 2019; Abbott e Allen, 2020; Kook 2021; Young e Layne, 2022).

L'eosinofilia nel cane è stata riscontrata anche in corso di infezioni batteriche localizzate al tratto urogenitale (piometra, epididimiti), della mammella, dell'orecchio e della cute (Lilliehöök *et al.*, 2000; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022).

2.2.3 Cause parassitarie

Generalmente i parassiti tendono a scatenare l'eosinofilia quando entrano in contatto con le cellule immunitarie. Per questo motivo è più caratteristica delle infestazioni elmintiche che prevedono fasi migratorie all'interno dell'ospite ed è meno evidenziata con i parassiti endoluminali o con i protozoi (Klion e Nutman, 2004; Nutman, 2007).

L'eosinofilia è la conseguenza del richiamo di eosinofili all'interno di tessuti. Gli elminti scatenano una risposta immunitaria di tipo T-helper II che porta al rilascio di una serie di citochine in grado di attirare gli eosinofili e di stimolare la loro sintesi a livello del midollo osseo.

Il grado di eosinofilia varia in relazione alla fase di sviluppo, alla localizzazione del parassita all'interno dell'ospite, al carico infestante a cui è sottoposto l'animale e al tempo trascorso dall'inizio dell'infezione (Nutman, 2007).

2.2.4 Cause neoplastiche

Diversi studi riportano la presenza di eosinofilia in corso di malattie neoplastiche, sia nel cane che nel gatto. In particolare, è stata descritta in pazienti con linfosarcoma, linfoma mastocitoma e in diversi tumori solidi (specialmente carcinomi) (Losco, 1986; Sellon *et al.*, 1992; Barrs *et al.*, 2002; Marchetti *et al.*, 2005; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022; Conrado *et al.*, 2023). L'eosinofilia può essere legata anche ad un fenomeno leucemico cronico (leucemia eosinofila), che tuttavia negli animali è raro (Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022; Young e Layne, 2022).

2.2.5 Cause autoimmuni

Tra i disordini autoimmuni l'eosinofilia si è registrata in casi di pemfigo, una malattia che vede l'attacco da parte di autoanticorpi nei confronti delle proteine desmosomiali delle cellule epiteliali della cute. Il processo è guidato dall'attivazione dei linfociti T-helper II, che rilasciano una serie di citochine che richiamano gli eosinofili nel tessuto cutaneo. Gli eosinofili hanno un ruolo chiave nella patogenesi poiché rilasciano le proteine dei granuli che contribuiscono alle lesioni tipiche della malattia (Vaughan *et al.*, 2010; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022).

2.2.6 Cause ormonali

Si può verificare un aumento degli eosinofili in corso di ipoadrenocorticismo sia nel cane che nel gatto, anche se non è un dato costante. I glucocorticoidi endogeni regolano l'attività delle citochine che promuovono la sintesi degli eosinofili e la loro assenza causa un'alterazione di questo equilibrio (Peterson *et al.*, 1989; Nutman, 2007; Decôme e Blais, 2017; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022; Young e Layne, 2022).

2.2.7 Miscellanea

Nella categoria miscellanea vengono inserite una serie di altre malattie che in alcuni studi sono state associate al riscontro di eosinofilia nel cane e nel gatto. Tra queste nel cane compaiono i disturbi cardiaci, l'epilessia, danni spinali, l'idrocefalo, meningoencefaliti idiopatiche, malattie oftalmologiche, complicanze post-chirurgiche, intossicazioni (compresi casi di morso da vipera nel cane) e la sindrome ipereosinofila (Lilliehöök *et al.* 2000; Williams *et al.*, 2008; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022).

Nel gatto la presenza di eosinofilia si è associata a malattie renali e del tratto urinario, malattie cardiache, ipertiroidismo, pneumotorace, traumi dei tessuti molli e alla sindrome ipereosinofila (Barrs *et al.*, 2002).

La sindrome ipereosinofila (HES) è un aumento inspiegato e cronico degli eosinofili circolanti, accompagnato ad un fenomeno di infiltrazione tissutale che con il tempo causa disfunzioni multiorgano (McEwen *et al.*, 1985; Barrs *et al.*, 2002; James e Mansfield, 2009; Young e Layne, 2022). È una condizione descritta raramente nei gatti e ancora meno nei cani, con predisposizione per la razza Rottweiler (James e Mansfield, 2009). La causa resta ignota anche se si pensa che possa essere scatenata da una disfunzione immunoregolatrice o una malattia intrinseca del midollo (Lilliehöök *et al.* 2000; Madden e Schoeffler, 2016; Young e Layne, 2022).

2.2 Parassiti associati ad eosinofilia

Sebbene nel cane e nel gatto il riscontro di eosinofilia sia frequentemente associato alla presenza di malattie parassitarie, i lavori che riportano l'aumento degli eosinofili ematici in questo contesto sono pochi e quelli disponibili riguardano soprattutto le infestazioni da parte di *Aelurostrongylus abstrusus* e *Angiostrongylus vasorum* (Cury *et al.*, 2002; Chapman *et al.*, 2004; Grandi *et al.*, 2005; Sasanelli *et al.*, 2008; Willesen *et al.*, 2009; Dracz *et al.*, 2014; Schnyder *et al.*, 2014; Elsheikha *et al.*, 2016).

Tra gli elminti broncopolmonari, sono stati riscontrati alcuni casi di eosinofilia anche in *Paragonimus kellicotti*, *Crenosoma vulpis* e *Filaroides hirti* (Bowman *et al.*, 1991; Shaw *et al.*, 1996; Harrus *et al.*, 1997; Torgerson *et al.*, 1997; Unterer *et al.*, 2002; Dubey, 2022; Lilliehöök *et al.*, 2003; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022).

Per i parassiti gastrointestinali, diversi lavori hanno rilevato eosinofilia in relazione alle infestazioni da Ascaridi e Anchilostomi nel cane e nel gatto (Hayden e Kruiningen, 1975; Carroll e Grove, 1984; Jenkins e Rickard, 1984; Lukes, 1985; Carroll e Grove, 1986; Hotez *et al.*, 2002; Fahrion *et al.*, 2008; Schnieder *et al.*, 2011).

Per le altre specie di elminti del tratto gastroenterico la letteratura si limita ad uno o due studi per ciascuno dei seguenti parassiti: *Spirocerca lupi* (nel cane), *Physaloptera praeputialis* (nel gatto), *Giardia duodenalis* (nel cane), *Strongyloides stercoralis*, *Sarcocystis spp.* (cane) (Grove *et al.*, 1982; Spencer *et al.*, 1985; Gustafson, 1995; Allison *et al.*, 2006; Rosa *et al.*, 2007; Aroch *et al.*, 2017; Paradies *et al.*, 2017; Cervone *et al.*, 2018 Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022).

Nel complesso sono disponibili solo due lavori che hanno indagato le cause generali di eosinofilia nel cane. In questi due studi, oltre ai parassiti gastrointestinali e polmonari già citati si sono accompagnati a riscontro di eosinofilia anche *Trichuris vulpis*, *Capillaria aerophila*, e *Oslerus Osleri*. Sono stati inoltre segnalati anche alcuni tra i parassiti trasmessi da vettore quali *Dirofilaria repens*, *Babesia canis*, *Leishmania infantum*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Dirofilaria immitis* (Lilliehöök *et al.*, 2003; Bonilla-Aldana *et al.*, 2022; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022).

Nel gatto è disponibile solo un lavoro che elenca alcune malattie che si possono accompagnare ad eosinofilia; nell'elenco compaiono anche i parassiti gastrointestinali ma non sono disponibili informazioni sulle specie di parassiti e sull'incidenza di questa alterazione clinico-patologica (Barrs *et al.*, 2002).

L'eosinofilia infine è stata riportata in corso di infestazioni da parte di ectoparassiti. Tra questi sono stati segnalati *Sarcoptes scabiei*, *Pneumonyssus caninum* e le specie di pulci del cane e del gatto. In quest'ultimo caso l'eosinofilia è scatenata da un fenomeno di ipersensibilità dell'ospite nei confronti della saliva dei parassiti (soprattutto nei confronti della specie di pulce *Ctenocephalides felis*) (Lilliehöök *et al.*, 2003; Guija-de-Arespacochaga *et al.*, 2022).

Ai fini di questo Lavoro di Tesi sono state approfondite le specie di parassiti gastrointestinali e polmonari nei quali la letteratura ha riportato casi di aumento degli eosinofili circolanti.

2.2.1 Spirocerca lupi

Nematode appartenente alla Classe Secernentea, Superfamiglia Spiruroidea (Taylor, 2016).

Il parassita si localizza nella sottomucosa esofagea degli ospiti intermedi, che sono i canidi e occasionalmente il gatto e i felidi selvatici. Il riscontro di eosinofilia è raro, tuttavia in letteratura è riportato uno studio che l'ha rilevata a seguito di infestazione sperimentale nel cane (van der Merwe *et al.*, 2008; Aroch *et al.*, 2017). Si è visto che l'aumento degli eosinofili circolanti era legato solo alle fasi iniziali dell'infestazione, mentre nelle fasi più avanzate i valori rientravano. Questo è probabilmente legato ad un meccanismo di evasione del sistema immunitario da parte del parassita (Aroch *et al.*, 2017).

Ciclo biologico

Prevede la presenza di coleotteri coprofagi come ospiti intermedi e altri ospiti paratenici (pollame, uccelli, conigli, roditori e lucertole). Le uova in ambiente contengono le larve L1. Le uova vengono ingerite dall'ospite intermedio, nel quale la larva matura nella forma infettante L3. Gli ospiti paratenici che predano l'ospite intermedio conservano la larva L3 all'interno dei tessuti. L'ospite definitivo assume la larva ingerendo l'ospite intermedio o l'ospite paratenico. La larva penetra nella mucosa gastrica ed entra nelle pareti dei vasi sanguigni, dove risale fino all'aorta toracica, dove completa il suo sviluppo. Il parassita adulto esce dalle pareti dell'aorta per migrare nella sottomucosa dell'esofago, dove poi stimola la formazione di lesioni nodulari. All'interno dei noduli si localizzano i parassiti adulti che producono uova larvate, deglutite ed eliminate attraverso le feci (van der Merwe *et al.*, 2008).

Diagnosi

Rilevazione delle uova attraverso esame delle feci per flottazione (van der Merwe *et al.*, 2008).



Figura 9: uovo di *Spirocerca lupi* (tratto da Genchi *et al.*, 2010)

Patogenesi e sintomatologia

Il parassita causa lesioni a livello del punto di uscita dalle arterie, e a livello esofageo. È stato dimostrato che i noduli esofagei possono evolvere in sarcomi. In alcuni animali è presente una discospindilite delle vertebre toraciche la cui eziologia non è ancora nota.

I sintomi variano in relazione al carico di parassiti. I principali riportano nausea, rigurgito, vomito e dispnea. Nei casi gravi la migrazione dei parassiti può causare un aneurisma e la conseguente rottura dell'aorta toracica, con sviluppo di emotorace. Infine, la migrazione delle larve può determinare mediastinite, piotorace, pleurite e pneumomediastinite (van der Merwe *et al.*, 2008).

Trattamento

Il trattamento con doramectina risulta essere efficace nel contrastare il parassita (van der Merwe *et al.*, 2008).

2.2.2 Physaloptera praeputialis

Nematode appartenente alla Classe Secernentea, Superfamiglia Spiruroidea.

Si localizza nello stomaco del gatto e dei felidi selvatici e occasionalmente nel cane (Taylor, 2016).

Nonostante non sia un parassita diffuso in Europa, viene riportato in questo capitolo in quanto l'infestazione è stata associata ad un caso di eosinofilia nel gatto (Gustafson, 1995).

Ciclo biologico

Sovrapponibile a quello di *S. lupi*, con la differenza che la localizzazione dell'adulto è a livello gastrico. Il periodo di prepatenza è di 8/10 settimane (Taylor, 2016).

Diagnosi

Riscontro di uova larvate nelle feci e nel vomito tramite test di Baermann (Taylor, 2016).

Patogenesi e sintomatologia

Gli adulti aderiscono alla mucosa gastrica grazie a particolari denticoli e provocano ulcere sanguinolente. Questo può evolvere in una gastrite catarrale. I sintomi sono più evidenti nelle infestazioni massive e prevedono vomito, anoressia, dimagrimento e melena (Taylor, 2016).

Trattamento

Le molecole d'elezione sono il pirantel, il praziquantel e il febantel; sono necessarie dosi ripetute (Taylor, 2016). Anche l'ivermectina sottocutanea è efficace (Gustafson, 1995).

2.2.2 Ascaridiosi

Gli ascaridi sono Nematodi appartenenti alla classe Secernentea, Superfamiglia Ascaridoidea, Famiglia Ascarididae (Taylor, 2016).

Esistono diverse specie, le più comuni sono *Toxocara canis*, *Toxocara cati* (o *Toxocara mystax*) e *Toxascaris leonina* (Parsons, 1987).

Le forme adulte risiedono nell'intestino tenue degli ospiti definitivi, che per *T. canis* sono i canidi (volpi, cani e lupi), per *T. cati* sono i gatti e i felidi selvatici e per *T. leonina* sono il cane, il gatto, la volpe, canidi e felidi selvatici (Parsons, 1987; Taylor *et al.*, 2016).

L'aumento degli eosinofili circolanti è stato dimostrato per *T. canis* e *T. cati*, mentre per *T. leonina* la letteratura è pressoché assente nel cane e nel gatto ma ha riportato eosinofilia in altre specie animali (Hayden e Kruiningen, 1975; Jenkins e Rickard, 1984; Lukes, 1985 Fahrion *et al.*, 2008; Schnieder *et al.*, 2011; Dillon *et al.*, 2013). Nel presente capitolo è stata comunque descritta anche *T. leonina*, poiché condivide con le altre due specie lo stesso ciclo biologico e gli stessi ospiti definitivi.

L'eosinofilia è una possibile conseguenza del danno tissutale provocato dalle larve migranti sulla mucosa gastroenterica o a livello polmonare (Hayden e Kruiningen, 1975; Parsons, 1987; Overgaauw, 1997; Schnieder *et al.*, 2011; Masure *et al.*, 2013).

Ciclo biologico:

Esistono quattro possibili modalità di infezione: diretta, paratenica, transplacentare e transmammaria.

T. canis prevede tutte e quattro le modalità (Parsons, 1987; Taylor *et al.*, 2016). Con *Toxocara cati* sono contemplate la trasmissione diretta, transmammaria e paratenica (Parsons *et al.*, 1987). Infine, *T. leonina* ha una trasmissione diretta e paratenica (Taylor, 2016; Rostami *et al.*, 2020).

Con l'infezione diretta le uova vengono ingerite dall'ospite. Dalle uova si liberano le larve che dall'intestino sfruttano il sistema vascolare per arrivare ai polmoni. Dai polmoni iniziano una migrazione verso le vie aeree superiori, arrivano in faringe e vengono deglutite. Nello stomaco e nel piccolo intestino mutano nella forma adulta e producono uova che alimentano i cicli successivi (Overgaauw, 1997). Nei soggetti adulti infestati da *T. canis* le larve vengono bloccate a livello polmonare grazie alla memoria immunitaria e anziché intraprendere la migrazione tracheale, riprendono il circolo sistemico per distribuirsi in diversi tessuti (fegato, polmoni, reni e cervello), dove instaurano un equilibrio con il sistema immunitario raggiungendo uno stato di ipobiosi (Parsons, 1987; Overgaauw, 1997). Al contrario, con *T. cati* quasi tutte le larve sfruttano la migrazione tracheale indipendentemente dallo stato immunitario dell'ospite (Parsons, 1987).

L'infezione diretta di *T. leonina* non prevede la migrazione tracheale ma le larve maturano direttamente nell'intestino (Taylor, 2016; Rostami *et al.*, 2020).

Infezione transplacentare e transmammaria

Le larve in ipobiosi, probabilmente per l'effetto immunosoppressivo della gravidanza e dell'allattamento, possono riattivarsi e migrare attraverso la placenta per infettare i feti o nel tessuto mammario da cui passano al cucciolo mediante il latte (Overgaaauw, 1997). Non tutte le larve all'interno dei tessuti si riattivano, alcune restano quiescenti e possono attivarsi in gravidanze successive.

Nel feto le larve passano la placenta, raggiungono il fegato e dopo la nascita migrano ai polmoni; le forme adulte sono presenti a livello intestinale dopo 21 giorni dalla nascita (Parsons, 1987).

Infezione paratenica

Prevede l'ingestione delle larve infettanti da parte di un ospite paratenico, nel quale esse migrano all'interno dei tessuti senza procedere nel loro sviluppo (Parsons, 1987).

Tra gli ospiti paratenici di *T. canis* vi sono roditori, conigli, pecore, bovini, maiali, capre, scimmie, esseri umani, uccelli e lombrichi. Con *T. cati* prevalgono roditori, scarafaggi, polli e lombrichi. Infine, *T. leonina* ha come ospiti paratenici roditori, conigli e polli (Parsons, 1987).

Le larve vengono rilasciate a seguito del processo digestivo; con *T. canis* intraprendono il percorso maturativo che passa per la migrazione tracheale, mentre con *T. cati* e *T. leonina* maturano nella mucosa gastrica e nel lume intestinale (Parsons, 1987).

Diagnosi

Visualizzazione delle uova tramite esame copromicroscopico per flottazione o presenza di vermi adulti nelle feci o nel vomito (Genchi *et al.*, 2010).

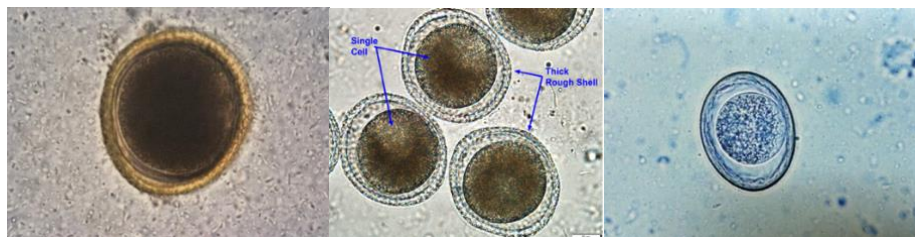


Figura 10: Uova di *T. canis*, *T. cati* e *T. leonina* (<https://wcv.m.usask.ca/learnaboutparasites/parasites/toxocara-cati.php>; Genchi *et al.*, 2010)

Patogenesi e sintomatologia

In genere si distingue una micro-ascaridiosi, dovuta al fenomeno migratorio delle larve e una macro-ascaridiosi, data dalle forme adulte nell'intestino (Taylor, 2016).

La micro-ascaridiosi evoca una polmonite che generalmente si manifesta nei cuccioli interessati da un'infezione prenatale da parte di *Toxocara canis*. Quando le infestioni sono gravi possono portare a morte il neonato in pochi giorni (Parsons, 1987; Overgaauw, 1997; Schnieder et al., 2011).

La macro-ascaridiosi è causata dai parassiti adulti che nell'intestino causano un'enterite irritativa; gli ascaridi non si ancorano alla parete intestinale ma si nutrono del chimo e determinano privazioni di vitamine, aminoacidi ed elettroliti. Clinicamente possono decorrere in forme asintomatiche ma possono presentarsi anche con diarrea, addome a botte, intestino spesso alla palpazione e condizioni scadenti del pelo. I sintomi sono maggiormente evidenti nei cuccioli e quando il carico di parassiti è elevato c'è il rischio di morte per rottura dell'intestino, intussuscezione, infarto regionale, ostruzione del dotto biliare o del dotto pancreatico. In questi casi la sintomatologia include diarrea mucoide associata a episodi di costipazione, vomito, inappetenza e malessere generale (Parsons, 1987; Lloyd et al., 1991; Overgaauw, 1997; Schnieder et al., 2011; Taylor, 2016, Miller, 2020).

Toxascaris leonina è meno patogena negli animali giovani rispetto alle altre due specie di ascaridi descritte (Parsons, 1987).

Trattamento

Esistono diverse molecole a disposizione: piperazina, ivermectina pamoato, dietilcarbamazina, milbemicina, selamectina, moxidectina, emodepside, fenbendazolo, pirantel pamoato, mebendazolo, levamisolo. I cuccioli devono essere trattati dalla seconda settimana di vita e successivamente dopo 2/3 settimane per eliminare le forme larvali acquisite a seguito di infezione prenatale. Il trattamento va ripetuto ogni mese fino a 5/6 mesi di vita. Anche le cagne che hanno partorito vanno trattate contemporaneamente ai cuccioli. Gli animali adulti andrebbero sverminati ogni 3/4 mesi per controllare possibili reinfestazioni (Taylor, 2016)

2.2.4 Giardia duodenalis

Giardia è un genere di protozoi flagellati appartenenti al Phylum Metamonada, Classe Treponadea, Famiglia Giardiidae (Taylor, 2016).

Colpiscono l'intestino tenue di un vasto gruppo di vertebrati. Cane, gatto, uomo e altri mammiferi vengono infettati dalla specie *Giardia duodenalis* (Monis e Thompson, 2003). È stato descritto che i cani affetti da giardiasi hanno tendenza a sviluppare eosinofilia del sangue periferico, mentre non sono disponibili informazioni per il gatto (Rosa et al., 2007).

Il meccanismo patogenetico sottostante all'eosinofilia è stato indagato in uno studio effettuato su modelli murini. Pare che le proteine secrete/escrete dal parassita siano responsabili di una reazione da ipersensibilità di tipo I, con l'attivazione dei linfociti T-helper II e la produzione di immunoglobuline IgE. Gli eosinofili infiltrano la mucosa degli animali infestati e vengono richiamati da citochine, probabilmente prodotte dagli enterociti invasi dal parassita (Jiménez *et al.*, 2004).

Morfologia

Esistono due stadi morfologici di *Giardia duodenalis*, il trofozoita e la forma cistica (Vivancos *et al.*, 2018). I trofozoiti sono la forma vegetativa che vive dentro l'ospite. La forma cistica conferisce resistenza ambientale a *Giardia duodenalis*.



Figura 10: Trofozoita di *Giardia duodenalis* (Taylor, 2016); cisti di *Giardia* spp. colorate con Lugol (Modificato da Genchi *et al.*, 2010)

Ciclo biologico

Il ciclo è diretto e prevede l'evoluzione del parassita dalla forma cistica alla forma vegetativa nell'intestino degli ospiti. Quando le cisti vitali entrano in contatto con i succhi digestivi e gli acidi biliari dell'ospite si dissolvono e liberano il loro contenuto, che subisce due cicli di divisione risultando in quattro trofozoiti (Monis e Thompson, 2003; Adam, 2021).

I trofozoiti successivamente si attaccano e colonizzano la mucosa intestinale del piccolo intestino. Qui si dispongono in cluster, replicano e una volta che raggiungono un certo numero iniziano a svilupparsi nelle forme cistiche che vengono eliminate con le feci (Vivancos *et al.*, 2018).

Patogenesi e sintomatologia

La trasmissione è diretta e avviene attraverso il contatto fecale/orale o attraverso l'ingestione di cibo o acqua contaminati (Monis e Thompson, 2003). *G. duodenalis* è considerato un patogeno non invasivo del piccolo intestino, poiché aderisce allo strato superficiale della mucosa (Vivancos

et al., 2018). Aderisce infatti ai villi intestinali alterandone la struttura e le funzionalità. Inoltre, secerne enzimi che possono compromettere la funzione della barriera intestinale arrecando danni agli enterociti e alle giunzioni intercellulari (Vivancos *et al.*, 2018). La sintomatologia nel cane e nel gatto prevede forme acute, croniche o asintomatiche (Adam, 2021). La forma acuta colpisce animali non completamente immunocompetenti (cuccioli) e si manifesta con diarrea, perdita di peso, dolorabilità addominale, anoressia, meteorismo e raramente vomito (Adam, 2021). Le infezioni croniche colpiscono gli animali adulti, che possono presentarsi con uno stato di nutrizione più o meno scadente, accompagnato a feci maleodoranti e poco formate (Adam, 2021).

Diagnosi

Esame a fresco delle feci o flottazione con diverse soluzioni (Tamponi *et al.*, 2017). Esistono kit basati sulla tecnica di immunoassorbimento enzimatico (ELISA) che rilevano porzioni antigeniche del parassita. Infine, i metodi diagnostici più sofisticati sono l'immunofluorescenza (IFA) e la reazione a catena della polimerasi. Quest'ultima identifica gli assemblaggi del parassita (Papini *et al.*, 2007; Bouzid *et al.*, 2015; Taylor, 2016; Tamponi *et al.*, 2017). L'esame copromicroscopico è meno sensibile rispetto al test ELISA, all'IFA e alla PCR (Papini *et al.*, 2007). Inoltre, il numero di campioni analizzati è determinante per fare diagnosi poiché *Giardia* viene eliminato in modo incostante dall'ospite (Papini *et al.*, 2007; Bouzid *et al.*, 2015).

Trattamento

Le molecole efficaci nel trattamento della giardiasi nel cane e nel gatto sono il fenbendazolo, il metronidazolo, l'associazione pyrantel-praziquantel-febantel, l'albendazolo (non per trattamenti lunghi poiché deprime il midollo osseo) e l'associazione metronidazolo-fenbendazolo.

Potrebbe essere utile la somministrazione di fibre alimentari per controllare i segni clinici e ostacolare l'adesione dei trofozoiti ai villi intestinali. In commercio è disponibile anche un vaccino applicabile sia per i cani che per i gatti (Tangtrongsup e Scorza, 2010).

2.2.5 Coccidiosi

I coccidi sono protozoi *Apicomplexa* appartenenti alla classe *Coccidea* (Taylor, 2016). All'interno di questa classe, il genere *Cystoisospora* (famiglia Sarcocystidae) è quello maggiormente rilevato nel cane nel gatto (Mitchell *et al.*, 2007)

Nel cane si è a conoscenza di quattro specie: *C. canis*, *C. ohioensis*, *C. burrowsi* e *C. neorivolta*. Nel gatto si considerano *C. felis* e *C. rivolta* (Dubey, 2018; Dubey e Lindsay, 2019; Scorza *et al.*, 2021).

Non sono riportati studi riguardo la presenza di eosinofilia concomitante a queste specie di parassiti nel cane e nel gatto, salvo lo studio di Guija-de-Arespachoga *et al.*,(2022) che l'ha registrata in cani positivi al genere *Cystoisospora spp.* Vengono di seguito descritte anche le specie di *Cystoisospora spp.* nel gatto poiché condividono lo stesso ciclo biologico e la stessa patogenesi delle specie di *Cystoisospora* del cane.

Ciclo biologico del genere *Cystoisospora*

Prevede una fase sporogonica in ambiente esterno e due fasi (merogonica e gametogonica) all'interno dell'ospite. Diverse specie (*C. felis*, *C. rivolta*, *C. canis* e *C. ohioensis*) possono infettare ospiti paratenici (Lindsay *et al.*, 1997).

Fase sporogonica:

Le uova in ambiente esterno e in condizioni ambientali adeguate (30/37 °C) sviluppano sporozoitii infettivi all'interno delle oocisti (Lindsay *et al.*, 1997).

Fasi merogonica e gametogonica:

Nell'ospite dalle oocisti sporulate escono gli sporozoitii, che invadono l'epitelio dell'intestino tenue. È stato dimostrato che gli sporozoitii di *Cystoisospora spp.* possono raggiungere alcuni tessuti extraintestinali dell'ospite e incistarsi. Lo stesso accade negli ospiti paratenici previsti per *C. canis* e *C. ohioensis*, dove i parassiti possono sopravvivere per almeno 2 anni (Shrestha *et al.*, 2015).

Gli sporozoitii negli enterociti diventano trofozoiti e successivamente schizonti. Gli schizonti crescono nella cellula e attraverso la riproduzione asessuata (fase merogonica) producono i merozoiti. Dai merozoiti si sviluppano altri trofozoiti e il ciclo può ripetersi un numero indefinito di volte fino a quando si instaura la fase di riproduzione sessuata (Shrestha *et al.*, 2015).

La fase gametogonica prevede la fusione di macro e micro gameti per formare uno zigote; dallo zigote prenderà origine l'oocisti non sporulata che viene escreta con le feci (Shrestha *et al.*, 2015).

Patogenesi e sintomatologia

La trasmissione è diretta di tipo oro-fecale per tutte le specie di *Cystoisospora* (Lindsay *et al.*, 1997). È possibile anche l'infezione paratenica. Tra gli ospiti paratenici di *C. canis* vi sono pecore, asini, maiali e ratti; quelli di *C. felis* e *C. rivolta* includono conigli, ratti, pecore, cani, maiali, vacche e alcuni insetti (Ferreira *et al.*, 2019; Scorza *et al.*, 2021).

Le lesioni di *Cystoisospora spp.* nel cane e nel gatto sono causate dalla moltiplicazione di sporozoitii e merozoiti nell'epitelio dell'intestino. Questo comporta atrofia, necrosi e fusione dei

villi, iperplasia delle cripte intestinali, desquamazione delle cellule epiteliali e iperplasia linfoide delle placche del Peyer (Mitchell *et al.*, 2007; Shrestha *et al.*, 2015).

Questi cambiamenti persistono per un tempo considerevole dopo l'infezione e compromettono l'assorbimento dei nutrienti, con conseguente perdita di peso dell'animale (Shrestha *et al.*, 2015). La malattia clinica è ancora oggetto di dibattito, poiché non tutti i gatti e i cani la manifestano. Si verifica più comunemente negli animali giovani, debilitati e immunodepressi, mentre negli adulti le infezioni sono subcliniche e autolimitanti. Nei sintomatici possono comparire diarrea, perdita di peso, vomito, abbattimento e inappetenza (Lappin, 2005; Dubey, 2018; Scorza *et al.*, 2021; Murnik *et al.*, 2023).

All'infezione da *C. canis* e *C. felis* segue una memoria immunitaria che protegge dalla malattia clinica e riduce o annulla l'escrezione di oocisti; questa è meno efficace contro *C. rivolta* e *C. ohioensis-like* (Lindsay *et al.*, 1997; Mitchell *et al.*, 2007; Houk *et al.*, 2013).

Diagnosi

Eseguita mediante dimostrazione di oocisti in campioni fecali sottoposti a esame microscopico dopo flottazione fecale (Scorza *et al.*, 2021).

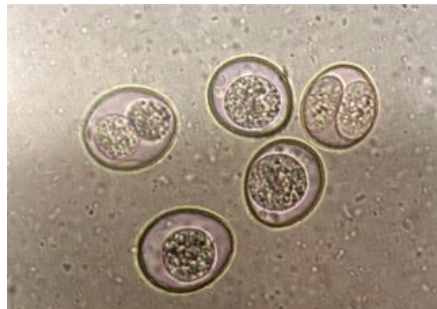


Figura 11: Oocisti di *C. caninum* (Modificato da Genchi *et al.*, 2010)

Trattamento

Esistono diverse molecole efficaci nel trattamento dei coccidi del cane e del gatto: sulfonamidi, sulfonamidi con antifolati, amprolium, spiramicina, diclazuril, toltrazuril, ponazuril (Dubey, 2018; Dubey e Lindsay, 2019).

In commercio esiste un farmaco composto da due molecole, Emodepside/toltrazuril (Procox®) che è efficace contro *C. canis*, *C. felis* e *C. rivolta* (Altreuther *et al.*, 2011; Petry *et al.*, 2011).

2.2.6 Sarcocystis spp.

Genere di protozoi appartenenti al Phylum Apicomplexa, Ordine Eucoccidiorida, Famiglia Sarcocystiidae. Comprende diverse specie che infestano il cane e il gatto. Si localizzano nell'intestino tenue degli ospiti definitivi (Taylor, 2016).

Il cane può fungere anche da ospite intermedio di alcune specie di Sarcocystis.

Ciclo biologico

Ciclo biologico indiretto. Gli ospiti intermedi variano a seconda delle specie e comprendono bovini, ovini, caprini, equini, suini e la gallina (Taylor, 2016).

L'ospite intermedio assume dall'ambiente esterno le oocisti eliminate con le feci dell'ospite definitivo. Nell'ospite intermedio avviene la replicazione asessuata del parassita, con formazione di schizonti; dagli schizonti si sviluppano i merozoiti, i quali si incistano all'interno dei tessuti dell'animale formando sarcocisti (Sykes *et al.*, 2011).

L'ospite definitivo assume i bradizoiti incistati all'interno dei tessuti dell'ospite intermedio.

I bradizoiti penetrano nella mucosa intestinale ed evolvono formando macro e micro gameti che fondendosi determinano la produzione di oocisti. Ciascuna oocisti sporula nel lume intestinale dando origine a due sporocisti contenenti ciascuna quattro sporozoiti (Taylor, 2016).

I cani e i gatti possono fungere anche da ospiti intermedi e sviluppare sarcocisti all'interno dei tessuti. Esiste una specie, *Sarcocystis canis*, dal ciclo biologico non ancora noto, che forma sarcocisti all'interno di fegato, polmone, cute, encefalo e muscoli del cane. Resta tuttavia di raro riscontro (Ye *et al.*, 2018).

Patogenesi e sintomatologia

L'infezione da parte delle specie che vedono come ospiti definitivi il cane e il gatto sono poco patogene e spesso gli animali sono asintomatici o presentano lieve diarrea (Taylor, 2016).

Sarcocystis canis può causare una malattia grave nel cane, con possibile epatite, encefalite, polmonite e miosite. È stato segnalato un caso clinico in letteratura che ha evidenziato un aumento importante degli eosinofili in concomitanza a questa infezione (Allison *et al.*, 2006; Sykes *et al.*, 2011). Inoltre, uno studio di Guija-de-Arespachaga *et al.* (2022) ha rilevato eosinofilia in cani positivi al genere *Sarcocystis*.

Diagnosi

Evidenziazione delle oocisti tramite esame fecale per flottazione (per i parassiti specie specifici del cane) (Taylor, 2016).

Trattamento

Non esistono terapie efficaci per combattere l'infezione dell'ospite definitivo (Taylor, 2016).

2.2.7 Famiglia Ancylostomatidae

Nematodi appartenenti alla classe Secernentea, Superfamiglia Ancylostomatoidea.

In parassiti più diffusi in Europa nel cane e nel gatto sono *Ancylostoma caninum* (canidi), *Ancylostoma tubaeforme* (gatto) e *Uncinaria stenocephala* (canidi e felidi). Si localizzano nell'intestino tenue degli ospiti definitivi (Taylor, 2016).

Ancylostoma caninum e *Uncinaria stenocephala* possono causare la sindrome della larva migrans cutanea nell'uomo (Traversa, 2012).

Esistono molti studi in medicina umana riguardo le infestazioni da Anchilostomi relazionati al comportamento degli eosinofili nel sangue. In medicina veterinaria esistono solo alcuni lavori che hanno riportato l'aumento degli eosinofili in corso di infestazione nel cane da parte di *Ancylostoma caninum* e *Ancylostoma ceylanicum*, quest'ultimo diffuso in Asia. Per quanto riguarda l'eosinofilia associata ad *Uncinaria stenocephala* e *Ancylostoma tubaeforme*, la letteratura è pressoché inesistente ma vengono ugualmente descritti poiché hanno un ciclo biologico simile a quello di *A. caninum* e *A. ceylanicum* (Carroll e Grove, 1984; Carroll e Grove, 1986; Hotez *et al.*, 2002).

Ciclo biologico Ancylostomatidae

Sono previste una fase di vita in ambiente e una fase di sviluppo all'interno dell'ospite definitivo. In ambiente esterno dalle uova esce la larva in stadio maturativo L1, che in pochi giorni si nutre e muta nella forma infettiva L3.

L'infezione dell'ospite può avvenire attraverso diverse modalità ed esistono differenze tra le specie di parassiti: infezione diretta, infezione transmammaria e infezione paratenica. A sua volta l'infezione diretta può avvenire per penetrazione delle larve nei tessuti o per contatto oro-fecale (Kalkofen, 1987; Taylor, 2016).

Con *A. caninum* sono previste entrambe le modalità di infezione diretta e l'infezione transmammaria. Con l'infezione diretta oro-fecale, le larve completano lo sviluppo direttamente nell'intestino o maturano seguendo la migrazione tracheale. Anche le larve che penetrano nei tessuti sfruttano la migrazione tracheale per la maturazione. Alcune larve in circolo si incistano in

alcuni tessuti; le forme incistate si riattivano in condizioni particolari (es. gravidanza) e migrano nel tessuto mammario (Kalkofen, 1987; Traversa, 2012; Taylor, 2016).

A. tubaeforme e *A. ceylanicum* prevedono l'infezione diretta oro-fecale e percutanea.

In *Uncinaria stenocephala* si verificano l'infezione diretta oro-fecale (senza la migrazione tracheale) e percutanea e l'infezione paratenica (attraverso i roditori) (Traversa, 2012). Con l'infezione percutanea le larve si arrestano nei tessuti (Taylor, 2016).

I parassiti adulti di tutte e quattro le specie risiedono nell'intestino tenue dell'ospite definitivo e producono uova non embrionate dopo un periodo prepatente di 2-3 settimane (Kalkofen, 1987; Traversa, 2012; Taylor, 2016).

Diagnosi

Messa in evidenza delle uova tramite esame copromicroscopico per flottazione (Genchi *et al.*, 2010).



Figura 13: Uova di *Uncinaria stenocephala*, *Ancylostoma caninum* e *Ancylostoma tubaeforme* (Genchi *et al.*, 2010)

Patogenesi e sintomatologia

I parassiti utilizzano dei denti per aggrapparsi alla mucosa intestinale e nutrirsi del sangue proveniente dalle arteriole.

I sintomi dipendono dall'età dell'animale, dal numero di parassiti e dalle specie parassitarie coinvolte. Riguardano maggiormente i cuccioli, poiché gli adulti sono soggetti a carichi infestanti minori (Traversa, 2012). Con *A. caninum* possono comparire anemia, stanchezza, eczemi e ulcere della cute e delle mucose e talvolta risentimento respiratorio. Nei lattanti sono generalmente più severi e si può manifestare anche diarrea emorragica/mucosa, versamenti addominali e edemi causati dall'ipoalbuminemia (Genchi *et al.*, 2010; Taylor, 2016). Nelle infestazioni croniche i cani sono deperiti, disoressici e possono sviluppare una forma di anemia da carenza di ferro (Traversa, 2012; Taylor, 2016).

U. stenocephala, *A. tubaeforme* e *A. ceylanicum* sono considerati poco patogeni ma a volte possono indurre la malattia con sintomi simili a quelli di *A. caninum* (Bowman *et al.*, 2010; Traversa, 2012).

A. caninum e *A. ceylanicum* hanno riportato eosinofilia periferica nel cane (Carroll e Grove, 1984; Carroll e Grove, 1986; Hotez *et al.*, 2002; Dracz *et al.*, 2014).

Il ciclo biologico dei parassiti prevede l'interazione con diverse barriere dell'organismo (cute, tratto respiratorio e mucosa gastrointestinale) e questo li mette maggiormente in contatto con il sistema immunitario dell'ospite (Loukas e Prociv, 2001). L'eosinofilia si scatena sia a seguito della fase migratoria del parassita sia a causa del contatto prolungato del parassita adulto con la mucosa gastrointestinale ed è mediata da una risposta di tipo T-helper II (Falcone *et al.*, 2004).

Il ruolo degli eosinofili in vivo resta tutt'ora enigmatico. Potrebbero svolgere il compito di cellule effettrici finali nel proteggere l'organismo dagli stadi larvali migranti ma potrebbero anche essere richiamati da una reazione allergica scatenata da alcune sostanze secrete dal parassita, sia durante la migrazione che presso il sito di ancoraggio nella mucosa gastrointestinale (Carroll e Grove, 1984; Loukas e Prociv, 2001).

Trattamento

Le molecole attive contro queste specie di elminti sono il pirantel, il mebendazolo, il febendazolo, e il flubendazolo. Questi eliminano i parassiti adulti e gli stadi giovanili a livello intestinale.

Nelle cagne in gravidanza o in allattamento è utile la somministrazione topica della selamectina per inibire la trasmissione transplacentare e transmammaria (Taylor, 2016).

2.2.8 Strongyloides stercoralis

Strongyloides stercoralis, noto anche come verme filiforme, è un nematode appartenente alla famiglia Strongyloididae che infesta l'intestino tenue del cane, del gatto, della volpe, dei canidi selvatici e dell'uomo (Taylor, 2016; Thamsborg *et al.*, 2017).

Ciclo biologico

È prevista una fase ambientale e una fase all'interno dell'ospite.

In ambiente, la larva L1 esce dalle uova e può seguire due strade: il ciclo omogonico e il ciclo eterogonico.

Con il ciclo omogonico le larve femmine maturano la forma infettiva L3 e penetrano per via transdermica nell'ospite definitivo. Una volta raggiunto l'intestino si moltiplicano per partenogenesi generando uova larvate.

Il ciclo eterogonico prevede la maturazione in ambiente esterno delle forme maschili e femminili delle larve, che si riproducono per via sessuata rilasciando uova larvate (Thamsborg *et al.*, 2017).

La fase all'interno dell'ospite prevede due modalità di infezione: l'infezione diretta per via transdermica e l'autoinfezione.

Con l'infezione transdermica, le larve L3 dai tessuti raggiungono l'intestino tenue grazie alla migrazione tracheale; in alternativa dal sito di penetrazione possono migrare direttamente nell'intestino attraversando organi e tessuti (Taylor, 2016; Page *et al.*, 2018).

In corso di autoinfezione le larve L1 maturano nella forma infettiva L3 prima che avvenga la loro espulsione con le feci e completano il loro sviluppo direttamente nella mucosa intestinale (Thamsborg *et al.*, 2017).

Il periodo prepatente va da 5 a 21 giorni e l'escrezione di uova può durare anche 11 settimane (Thamsborg *et al.*, 2017).

Diagnosi

I test più sensibili, in ordine, sono il test di immunofluorescenza anticorpale, la PCR e il test di Baermann. Il coprologico è poco sensibile nella rilevazione della larva L1 nelle feci (Thamsborg *et al.*, 2017; Iatta *et al.*, 2019; Tamponi *et al.*, 2020).



Figura 12: Larva L1 di *Strongyloides stercoralis* (tratto da Genchi *et al.*, 2010)

Patogenesi e sintomatologia

I parassiti si localizzano alla base dei villi dell'intestino tenue e se presenti in gran numero causano un'enterite catarrale che nei casi gravi comporta necrosi e distacco della mucosa (Taylor, 2016).

Generalmente decorre in forma asintomatica e autolimitante ma con le infestazioni massive (generalmente nei cuccioli) possono comparire diarrea, disidratazione, anoressia e sintomi respiratori (Thamsborg *et al.*, 2017).

Nei soggetti immunodepressi si ha un'esacerbazione dell'autoinfezione che può causare la migrazione delle larve a diversi organi, con gravi segni clinici (Mora Carpio, 2023).

Per quanto riguarda i cambiamenti degli eosinofili nei cani positivi a *S. stercoralis*, esiste poca letteratura. L'eosinofilia è stata riscontrata in un lavoro di Paradies *et al.*, (2017) e in uno studio di Grove *et al.*, (1982) condotto su cani infestati con isolati umani di *S. stercoralis*.

Trattamento

Il fenbendazolo risulta efficace nell'eliminazione del parassita. In alternativa è possibile utilizzare le avermectine/milbemicine (Taylor, 2016).

2.2.9 Trichuris vulpis

Appartiene alla Classe Adenophorea, Superfamiglia Trichuroidea, genere Trichuridae ed è un parassita cosmopolita che invade la mucosa del grosso intestino del cane e della volpe (Taylor, 2016).

Ciclo biologico

Le uova in ambiente esterno maturano la forma larvale L1 in 1 o 2 mesi (Traversa, 2011).

L'ospite definitivo ingerisce le uova che a contatto con i succhi gastrici liberano la forma larvale L1. Il ciclo di vita all'interno del parassita prevede una fase all'interno delle cripte del Lieberkühn, dove resta quiescente da 2 a 10 giorni per poi riemergere dalla mucosa e passare nell'intestino crasso. Qui termina lo sviluppo fino alla forma adulta. Il periodo prepatente va dai 70 ai 107 giorni (Hendrix *et al.*, 1987).

Diagnosi

Evidenziazione delle uova mediante esame coprologico per flottazione (Genchi *et al.*, 2010).



Figura 13: uovo di trichuri vulpis (tratto da genchi *et al.*, 2010)

Patogenesi e segni clinici

L'infezione è diretta per via oro-fecale. La larva adulta si ancora alla mucosa del cieco e del colon grazie ad una sorta di stilo che lacera i tessuti e i piccoli vasi per trarre nutrimento dal sangue e dai fluidi dell'ospite (Traversa, 2011). L'azione traumatica del parassita causa irritazione, infiammazione ed emorragia nel cieco e nell'intestino crasso (Hendrix *et al.*, 1987).

Non tutti i cani sviluppano sintomatologia, anche in corso di infestazioni massive. Solitamente i sintomi appaiono nel cucciolo e comprendono diarrea mucoso/emorragica alternata a episodi di defecazione normale; nei casi più gravi si hanno riduzione della crescita, disordini immunologici, deperimento e maggiore suscettibilità ad altri patogeni (Hendrix *et al.*, 1987; Traversa, 2011).

L'infezione da *T. vulpis* può determinare eosinofilia nell'uomo, mentre in medicina veterinaria non ci sono studi a riguardo, salvo un lavoro di Guija-de-Arespachoga *et al.* (2022) che l'ha riportata in cani positivi al parassita.

Trattamento

Efficaci per il trattamento delle forme adulte sono i probenzimidazoli, i benzimidazoli e le milbemicine. Sono necessari diversi giorni di trattamento (Taylor, 2016).

2.2.10 Angiostrongylus vasorum

Nematode appartenente alla classe Secernentea, superfamiglia Metastrongyloidea. È un parassita del tratto respiratorio e ha come ospiti definitivi i canidi e la volpe (Taylor, 2016; Penagos-Tabares *et al.*, 2018).

Ciclo biologico

Il ciclo è indiretto. Gli ospiti intermedi sono diverse specie di gasteropodi terrestri e acquatici e la rana comune (*Rana temporaria*); quest'ultima può fungere anche da ospite paratenico. Queste specie si infestano con la forma larvale L1, assunta per ingestione o attraverso la sua penetrazione nei tessuti (Willesen, 2009; Koch e Willesen, 2009; Penagos-Tabares *et al.*, 2018). Con la predazione dell'ospite intermedio il cane assume la forma larvale infestante L3. Nel tratto gastroenterico dell'ospite definitivo le larve migrano attraverso il circolo sistemico al cuore destro e infine raggiungono la forma sessualmente matura a livello di arterie polmonari. Le forme mature producono uova che si schiudono nei capillari polmonari; le larve L1 che escono effettuano la migrazione tracheale e vengono eliminate con le feci (Ferdushy e Hasan, 2010; Penagos-Tabares *et al.*, 2018).

Diagnosi

Rilevazione della larva L1 nelle feci attraverso il test di Baermann e l'esame copromicroscopico (metodi poco sensibili); in alternativa test sierologici che rilevano l'antigene circolante del parassita e gli anticorpi specifici contro *A. vasorum* prodotti dall'ospite (Guardone *et al.*, 2013).



Figura 14: larva L1 di *Angiostrongylus vasorum* (Tratto da Genchi *et al.*, 2010).

Patogenesi e sintomatologia

La malattia causata da *A. vasorum* viene comunemente definita angiostrongilosi (Ferdushy e Hasan, 2010).

Il segno clinico più frequente è il distress respiratorio dovuto alla polmonite scatenata dalla risposta infiammatoria nei confronti di larve e uova nelle vie respiratorie. Possono manifestarsi anche vomito, edema, intolleranza all'esercizio, anoressia, sincope, perdita di peso, riduzione della crescita (Ferdushy e Hasan, 2010; Morgan *et al.*, 2021).

Nei casi fatali incorrono anche disturbi neurologici e coagulopatie causate dalle lesioni procurate dal parassita sui vasi (Cury *et al.*, 2002; Taubert *et al.*, 2009; Penagos-Tabares *et al.*, 2018).

Diversi studi hanno riportato l'eosinofilia accompagnata alle infestazioni da parte di *A. vasorum* (Cury *et al.*, 2002; Chapman *et al.*, 2004; Sasanelli *et al.*, 2008; Willesen *et al.*, 2009; Dracz *et al.*, 2014). La probabile causa scatenante questa alterazione clinico-patologica è legata a particelle immunogeniche rilasciate dai parassiti durante le fasi di sviluppo, che determinano una risposta immunitaria di tipo T-helper II (Cury *et al.*, 2002).

Trattamento

Sono efficaci il mebendazolo, il fenbendazolo (a dosi crescenti per 20/21 giorni), l'ivermectina, il levamisolo e la milbemicina ossima (Taylor, 20126).

2.2.11 Aelurostrongylus abstrusus e Troglostrongylus brevior

Nematodi appartenenti alla Classe Secernentea, Superfamiglia Metastrongyloidea.

Aelurostrongylus abstrusus appartiene alla famiglia Angiostrongylidae, mentre *Troglostrongylus brevior* alla famiglia Crenosomatidae (Tamponi *et al.*, 2014).

Infestano felidi domestici e selvatici localizzandosi a livello polmonare; *A. abstrusus* risiede nelle vie respiratorie più profonde, mentre *T. brevior* risiede in bronchi e bronchioli (Crisi *et al.*, 2018; Moskvina, 2018).

L'eosinofilia in corso di infestazione da *A. abstrusus* è un dato che pare essere costante. Può avere valori elevati persistere nel tempo; solitamente si manifesta dalla seconda/quarta settimana post infezione in poi. È stata rilevata anche in gatti asintomatici. Il meccanismo patogenetico sottostante potrebbe essere dovuto ad una continua stimolazione antigenica da parte del parassita, con un'attivazione dei linfociti T-helper II, la formazione di immunoglobuline IgE e il richiamo di eosinofili (Grandi *et al.*, 2005; Schnyder *et al.*, 2014; Elsheikha *et al.*, 2016).

Sono pressoché inesistenti studi che riportano eosinofilia in corso di infestazione da parte di *T. brevior*; è stato incluso nel capitolo in quanto condivide lo stesso ciclo biologico di *A. abstrusus* e poiché indagini istopatologiche hanno evidenziato infiltrati di eosinofili nel tessuto polmonare invaso dal parassita (Giannelli *et al.*, 2014).

Ciclo biologico di *A. abstrusus* e *T. brevior*

Prevedono ospiti intermedi e paratenici, che includono roditori, rane, lucertole, serpenti e uccelli (Grandi *et al.*, 2005; Traversa *et al.*, 2008). Questi albergano nei tessuti le forme infestanti delle larve, che vengono assunte dagli ospiti definitivi e attraverso la via emo-linfatica raggiungono il tessuto polmonare per maturare nella forma sessualmente matura (Traversa *et al.*, 2008). Nelle vie respiratorie del gatto il parassita produce le uova, le larve L1 escono e intraprendono la migrazione tracheale per poi essere eliminate con le feci. Il periodo patente può durare anche 5/6 mesi (Grandi *et al.*, 2005; Traversa *et al.*, 2008). La larva L1 in ambiente penetra nell'ospite intermedio ed evolve nella forma infettante L3, che può sopravvivere anche più di due anni (Grandi *et al.*, 2005). Il periodo prepatente è di 4/6 settimane (Taylor, 2016; Crisi *et al.*, 2018)

Diagnosi: come differenziare le due larve

Visualizzazione delle larve L1 nel materiale fecale tramite tecnica di Baermann. Essendo le larve di *A. abstrusus* e *T. brevior* molto simili, sono necessari esami morfologici e test molecolari per la loro distinzione (Genchi *et al.*, 2010; Taylor, 2016).

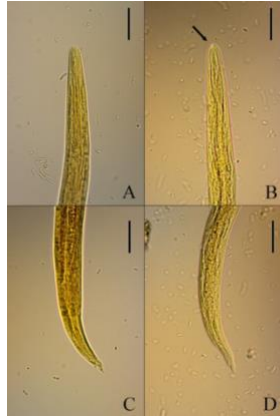


Figura 17: A,C: larva L1 di *A. abstrusus* ; B,D: larva L1 di *T. brevior* (Tamponi et al., 2014).

Patogenesi e sintomatologia di *A. abstrusus* e *T. brevior*

L'infezione è indiretta attraverso ospiti intermedi e paratenici. Per *T. brevior* è prevista anche una trasmissione transmammaria (Taylor, 2016; Crisi et al., 2018).

La patogenesi è assimilabile a quella vista per *A. vasorum* (Grandi et al., 2005). La malattia varia da soggetto a soggetto. Sono possibili forme asintomatiche, forme di polmonite lieve con tosse e forme gravi (talvolta mortali), con respirazione addominale a bocca aperta, tosse intensa, starnuti, secrezioni muco-purulente, dispnea, idrotorace e anoressia (Grandi et al., 2005; Traversa et al., 2008; Cavalera et al., 2018). I gatti infetti possono andare incontro ad una regressione spontanea della sintomatologia ed essere protetti nelle infezioni successive (Grandi et al., 2005).

Trattamento

Il trattamento prolungato (15 giorni) con fenbendazolo risulta efficace nell'eliminazione di *A. abstrusus* (Grandi et al., 2005). È disponibile anche una combinazione topica di fipronil, (S)-methoprene, eprinomectin e praziquantel (Broadline®, Merial) efficace sia contro *A. abstrusus* che *T. brevior* (Giannelli et al., 2015).

Per l'eliminazione di *T. brevior* è disponibile una formulazione spot-on costituita da una combinazione di due molecole: moxidectina e imidacloprid (Advocate®) (Diakou et al., 2019).

2.2.12 *Eucoleus aerophilus* (*Capillaria aerophila*)

Nematode appartenente alla Classe Adenophorea, Superfamiglia Trichuroidea.

La forma adulta si localizza nell'epitelio di trachea, bronchi e bronchioli di volpi e mustelidi ma anche il cane e il gatto possono fungere da ospiti accidentali (Traversa et al., 2009; Taylor, 2016).

Non sono disponibili in letteratura informazioni relative al cambiamento degli eosinofili circolanti in corso di questa infestazione ma viene descritto poiché ha un ciclo biologico e una patogenesi molto simili a quelle di *A. abstrusus*.

Ciclo biologico

Simile a quello di *A. abstrusus*, con la differenza che *E. aerophilus* anziché eliminare con le feci le larve L1 elimina le uova, che risalgono l'albero respiratorio sfruttando i colpi di tosse dell'animale. Queste in ambiente esterno maturano nella forma infettiva in circa 40 giorni o in alternativa vengono assunte da ospiti intermedi (lombrichi), nei quali si sviluppa la forma larvale infettante. Il periodo prepatente è di 3/6 settimane (Traversa *et al.*, 2009).

Diagnosi

Esame copromicroscopico per flottazione (Genchi *et al.*, 2010).



Figura 15: uova di *E. aerophilus* (tratto da Genchi *et al.*, 2010)

Patogenesi e sintomatologia

L'infezione avviene attraverso l'assunzione delle uova contenenti la larva allo stadio infettivo o attraverso l'assunzione degli ospiti intermedi (Taylor, 2016).

I parassiti causano l'infiammazione della mucosa delle vie aeree, determinando fenomeni di bronchite cronica che nei casi gravi evolve in broncopolmonite.

La sintomatologia è varia e va da casi asintomatici o lievi, che si manifestano attraverso un respiro broncovescicolare, a casi più gravi che si presentano con tosse, starnuti e distress respiratorio (Traversa *et al.*, 2009).

Trattamento

Esistono pochi dati sull'efficacia degli antelmintici nei confronti di *E. aerophilus*. Alcuni benzimidazoli e lattoni macrociclici sono efficaci, così come il levamisolo (Taylor, 2016).

2.2.13 Crenosoma vulpis

Nematode appartenente alla classe Secernentea, Superfamiglia Metastrongyloidea.

È un parassita cosmopolita che si localizza nella trachea, nei bronchi e nei bronchioli degli ospiti definitivi, che sono la volpe, il lupo e occasionalmente il cane (Shaw *et al.*, 1996; Taylor, 2016).

All'esame emocromocitometrico è frequente riscontrare eosinofilia (Shaw *et al.*, 1996; Unterer *et al.*, 2002).

Ciclo biologico

Ha un ciclo indiretto che prevede come ospiti intermedi lumache terrestri e chiocciole.

Le forme larvali L1 liberate con le feci degli ospiti definitivi penetrano attivamente all'interno degli ospiti intermedi. Nell'ospite intermedio le larve L1 mutano all'interno dei tessuti nella forma larvale infettante L3.

L'infezione dell'ospite definitivo avviene attraverso la predazione dell'ospite intermedio; le larve che arrivano a livello gastroenterico intraprendono il circolo sistemico che dalla vena porta le conduce verso la vena cava, verso il cuore e infine all'interno dei polmoni (Unterer *et al.*, 2002).

All'interno dei bronchi le larve maturano nella forma adulta sessualmente competente, con un periodo di prepatenza di 19/21 giorni (Shaw *et al.*, 1996).

Le uova prodotte dagli adulti risalgono le vie respiratorie sfruttando gli accessi di tosse dell'ospite e vengono deglutite per poi essere eliminate attraverso le feci. Nelle feci è possibile riscontrare le uova ma anche le larve L1.

Diagnosi

Riscontro della larva L1 all'interno delle feci attraverso esame di Baermann. È possibile effettuare anche l'esame coprologico per flottazione per la ricerca di uova. Spesso risulta diagnostico anche il lavaggio tracheobronchiale per la rilevazione delle larve (Shaw *et al.*, 1996).



Figura 16: larva L1 di *Crenosoma vulpis* (tratto da <https://www.microbiologiaitalia.it/parassitologia/crenosoma-vulpis/>).

Patogenesi e sintomatologia

La cuticola del parassita crea abrasioni sulla mucosa delle vie aeree; questo determina bronchite e bronchiolite con infiltrato tissutale di eosinofili, che si riflette anche nell'esito del lavaggio tracheobronchiale. (Unterer *et al.*, 2002; Taylor, 2016).

La sintomatologia è variabile; tra i sintomi principali vi sono tosse (talvolta produttiva), secrezioni mucose nasali, starnuti, disoressia. Raramente si sviluppano forme mortali (Shaw *et al.*, 1996; Unterer *et al.*, 2002; Taylor, 2016).

Trattamento

Con l'utilizzo del fenbendazolo si ha una completa eliminazione del parassita.

Sono efficaci anche il febantel, il levamisolo, l'ivermectina e la dietilcarbamazina (Shaw *et al.*, 1996; Taylor, 2016).

2.2.14 Oslerus osleri

Nematode appartenente alla classe Secernentea, Superfamiglia Metastrongyloidea.

È un parassita cosmopolita che si localizza nella trachea e nei bronchi dei canidi (Verocai *et al.*, 2013; Taylor, 2016).

Ciclo biologico

Il parassita ha un ciclo biologico diretto. L'ospite definitivo si infetta attraverso l'assunzione delle larve L1 in ambiente. Le larve L1 nell'intestino evolvono nella forma L2 e intraprendono la via emolinfatica che le porta al cuore destro e successivamente ai capillari polmonari. All'interno del polmone si sviluppano nella forma adulta, con un periodo di prepatenza di 10/20 giorni.

Le larve adulte producono uova con larve L1 che schiudono direttamente nel parenchima polmonare. Le larve L1 sfruttano l'apparato mucociliare per risalire le vie respiratorie e una volta che arrivano a livello faringeo, in parte vengono deglutite ed eliminate con le feci e in parte sono eliminate attraverso la saliva. Quest'ultima è fonte di infezione dei cuccioli che vengono leccati dalle madri o nutriti attraverso il rigurgito (Outerbridge, 1998; Taylor, 2016).

Diagnosi

La tecnica diagnostica d'elezione sarebbe la visualizzazione diretta dei noduli polmonari attraverso broncoscopia. Tuttavia, i metodi diagnostici maggiormente utilizzati sono l'esame fecale per flottazione e l'esame fecale con la tecnica Baermann. Il primo è dotato di poca sensibilità nella rilevazione delle larve, mentre il secondo è più sensibile. Tuttavia, le larve hanno un'eliminazione fecale intermittente (Outerbridge, 1998).



Figura 17: larva L1 di *Oslerus osleri* (tratto da Genchi et al., 2010)

Patogenesi e sintomatologia

Le larve in circa 2/3 mesi determinano la formazione di lesioni granulomatose di 4/5 cm nella mucosa a livello della biforcazione tracheale. Le lesioni sono caratterizzate da tessuto connettivo e infiltrati di globuli bianchi, tra cui eosinofili, presenti anche nei linfonodi bronchiali (Barr *et al.*, 1986; Outerbridge, 1998).

I cani possono essere asintomatici o manifestare sintomi respiratori che includono tosse sibilante e non produttiva, intolleranza all'esercizio, fino ad arrivare ad avere sforzo respiratorio marcato e distress respiratorio (Barr *et al.*, 1986).

Trattamento

Le molecole efficaci nell'eliminazione del parassita sono la dietilcarbamazina, il levamisolo, l'ivermectina, la doramectina, il tiabendazolo e l'albendazolo (Outerbridge, 1998; Taylor, 2016).

2.2.15 Filaroides hirti

Nematode appartenente alla Classe Secernentea, Superfamiglia Metastrongyloidea.

È un parassita che si localizza nei polmoni del cane e dei carnivori selvatici (Taylor, 2016).

Generalmente l'infezione è subclinica in cani sani e immunocompetenti, con il possibile rilievo di eosinofilia nel sangue periferico. Nei soggetti sintomatici si rilevano tosse, tachipnea, dispnea e

intolleranza all'esercizio (Spencer *et al.*, 1985; Bauer e Bahnemann; 1996; Torgerson *et al.*, 1997; Cervone *et al.*, 2018).

Ciclo biologico

Ciclo diretto. L'ospite definitivo assume le larve L1 direttamente dall'ambiente. Le larve L1 dall'intestino sfruttano il sistema emolinfatico per migrare fino al parenchima polmonare. Durante il loro tragitto mutano da L1 a L5; in alternativa maturano direttamente all'interno del polmone (Cervone *et al.*, 2018). Le larve adulte sono libere a livello di alveoli e bronchioli terminali; qui producono uova che liberano le larve L1. Le larve L1 risalgono le vie respiratorie per essere successivamente deglutite ed eliminate attraverso le feci. Il periodo di prepatenza è di 5 settimane (Bauer e Bahnemann, 1996; Cervone *et al.*, 2018).

Diagnosi

Il metodo diagnostico più sensibile per la rilevazione delle larve L1 è il lavaggio tracheobronchiale. Si sfrutta inoltre l'esame fecale tramite tecnica di Baermann ma pecca di scarsa sensibilità per l'eliminazione intermittente delle larve e per la loro scarsa motilità che rende difficile l'uscita dal contenuto fecale (Cervone *et al.*, 2018)



figura 18: larva L1 di *Filaroides hirthei* (tratto da Genchi *et al.*, 2010)

Patogenesi e sintomatologia

L'infezione è oro-fecale e nei soggetti immunodepressi esiste la possibilità dell'autoinfezione, con le larve L1 nell'intestino che anziché essere eliminate con le feci penetrano la mucosa enterica e intraprendono il ciclo di sviluppo (Bahnemann e Bauer, 1996).

Le larve vive evocano una minima risposta infiammatoria ma le larve adulte causano un'infiammazione granulomatosa, con noduli di 1/5 mm .

Si sviluppa una bronchiolite, una perivasculite e una peribronchite con infiltrati interstiziali e alveolari di cellule immunitarie, tra cui eosinofili (Bahnemann e Bauer, 1996).

Trattamento

Le molecole che hanno avuto un riscontro positivo nel trattamento sono il fenbendazolo, l'albendazolo e l'ivermectina iniettabile (Cervone *et al.*, 2018).

2.2.16 Paragonimus kellicotti

Parassita appartenente al Phylum dei Platelmini, Classe Trematodi, Famiglia Paragonimidae.

È stato incluso nel capitolo poiché in letteratura sono disponibili due lavori che associano all'infezione da *Paragonimus kellicotti* la presenza di eosinofilia periferica (Bowman *et al.*, 1991; Lilliehöök *et al.*, 2003).

Si localizza nel tratto polmonare degli ospiti definitivi, che sono il cane, il gatto e il suino (Taylor, 2016).

Ciclo biologico

Prevede due ospiti intermedi. I primi ospiti intermedi sono molluschi e gasteropodi acquatici che si infettano con le larve contenute all'interno delle uova (miracidi). Dal miracidio si sviluppa una sporocisti contenente numerose cellule germinative che successivamente danno origine all'interno dell'ospite ad altre forme larvali (redie). Dalle redie si formano gli ultimi stadi larvali (cercarie). Le cercarie sono in grado di uscire attivamente dal primo ospite intermedio, infestano il secondo ospite intermedio (granchio o gambero d'acqua) e si incistano sottoforma di metacercarie nel fegato e nei muscoli. Quando l'ospite definitivo si ciba del secondo ospite intermedio, il processo di masticazione libera gli involucri delle metacercarie. I parassiti escono e attraverso la circolazione sistemica migrano verso il tessuto polmonare, dove sono incapsulati in cisti fibrose che fistolizzano nei bronchi per poter eliminare le uova. Le uova risalgono le vie respiratorie e vengono deglutite ed eliminate attraverso le feci. Il periodo di prepatenza è di 5/6 settimane (Taylor, 2016).

Diagnosi

Esame copromicroscopico per flottazione per la rilevazione delle uova nelle feci. È possibile visualizzare le uova anche nell'espettorato (Taylor, 2016).



Figura 19: uovo di *P. kellicotti* (<https://www.k-state.edu/parasitology/625tutorials/Paragon01.html>)

Patogenesi e sintomatologia

A livello polmonare il parassita forma noduli di 1/3 cm all'interno dei quali si localizzano le forme adulte. L'esito della malattia è variabile e va da casi asintomatici a casi mortali per via delle lesioni polmonari (in un cucciolo).

I sintomi principali, quando presenti, includono tosse, dispnea, intolleranza all'esercizio, salivazione, emottisi (Harrus *et al.*, 1997).

Trattamento

L'eliminazione è efficace con alti dosaggi di fenbendazolo o albendazolo (Taylor, 2016).

3.0 PARTE SPERIMENTALE

3.1 Introduzione

Gli eosinofili sono cellule pleiotrofiche multifunzionali appartenenti alla risposta immunitaria. Essi svolgono ruoli fisiologici complessi all'interno dell'organismo, intervenendo all'interno di processi immunitari e omeostatici (Kim e Jung, 2020; Young e Layne, 2022).

Secondo la letteratura, esistono diverse problematiche in grado di scatenare l'eosinofilia nel cane e nel gatto. Gli eosinofili circolanti infatti possono aumentare per cause infettive-infiammatorie, parassitarie, neoplastiche, autoimmuni, ormonali e per una serie di altri disturbi (Guija-de-Arespachoga *et al.*, 2022).

Nonostante le patologie in grado di scatenare l'eosinofilia siano varie, l'innalzamento del valore degli eosinofili viene spesso associato alla positività agli endoparassiti. Esistono tuttavia pochi lavori nel cane e nel gatto che testimoniano l'aumento degli eosinofili a seguito di infestazioni endoparassitarie.

I pochi studi disponibili riguardano parassiti ematofagi, emoparassiti, parassiti trasmessi da vettore e poche specie di parassiti gastrointestinali e polmonari (Chapman *et al.*, 2004; Grandi *et al.*, 2005; Fahrion *et al.*, 2008; Kottadamane *et al.*, 2017; Thongsahuan *et al.*, 2020).

Per tutti gli altri parassiti la letteratura si limita alla segnalazione di singoli casi clinici.

3.2 Obiettivi dello studio

L'obiettivo della tesi è quello di dimostrare l'esistenza o meno di un'associazione tra le infestazioni parassitarie, intestinali o polmonari, e la presenza di eosinofilia ematica nei cani e nei gatti. Per raggiungere tale obiettivo, lo studio è andato a valutare:

- la probabilità di ottenere un coprologico positivo per endoparassiti in cani e gatti con aumento degli eosinofili all'esame emocromocitometrico
- la probabilità di ottenere un aumento degli eosinofili in cani e gatti con un coprologico positivo per endoparassiti.

3.3 Materiali e metodi

3.3.1 Tipo di studio

studio osservazionale prospettico.

3.3.2 Criteri d'inclusione

Canini e gatti di proprietà o provenienti dal Canile Municipale di Parma e afferiti all'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università di Parma (OVUD) per visite specialistiche, ambulatoriali o di pronto soccorso. Per i pazienti sono stati definiti i seguenti criteri d'inclusione:

- Pazienti che all'esame emocromocitometrico hanno presentato eosinofilia e per i quali, entro 15 giorni, è stato possibile recuperare un campione di feci per l'esame coprologico
- Pazienti con esame coprologico positivo per i quali, entro 15 giorni, è stato possibile effettuare un esame emocromocitometrico.

3.3.3 Criteri di esclusione

- Pazienti che sono stati trattati con terapia antiparassitaria prima dell'esecuzione di entrambi gli esami emocromocitometrico e coprologico.

3.3.4 Disegno di studio

Il disegno dello studio si compone di due fasi:

- Ai proprietari i cui cani e gatti hanno avuto un riscontro di eosinofilia all'esame emocromocitometrico è stato richiesto di far recapitare in OVUD un campione di feci da sottoporre all'esame coprologico mediante le tecniche Mini-FLOTAC e Baermann.
- Ai proprietari di cani e gatti risultati positivi all'esame coprologico è stata richiesta la disponibilità di sottoporre il paziente all'esame emocromocitometrico.

A supporto dello studio, per ogni paziente sono state recuperate informazioni di tipo anamnestico e clinico estrapolate dal fascicolo sanitario inserito nel software Fenice® e da un questionario in formato cartaceo o digitale somministrato ai proprietari secondariamente all'esecuzione degli esami sopra citati (Allegato I).

Le procedure adottate per l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico, dell'esame coprologico e il tipo di informazioni ricavate dai pazienti vengono descritte dettagliatamente nei paragrafi inerenti al protocollo operativo.

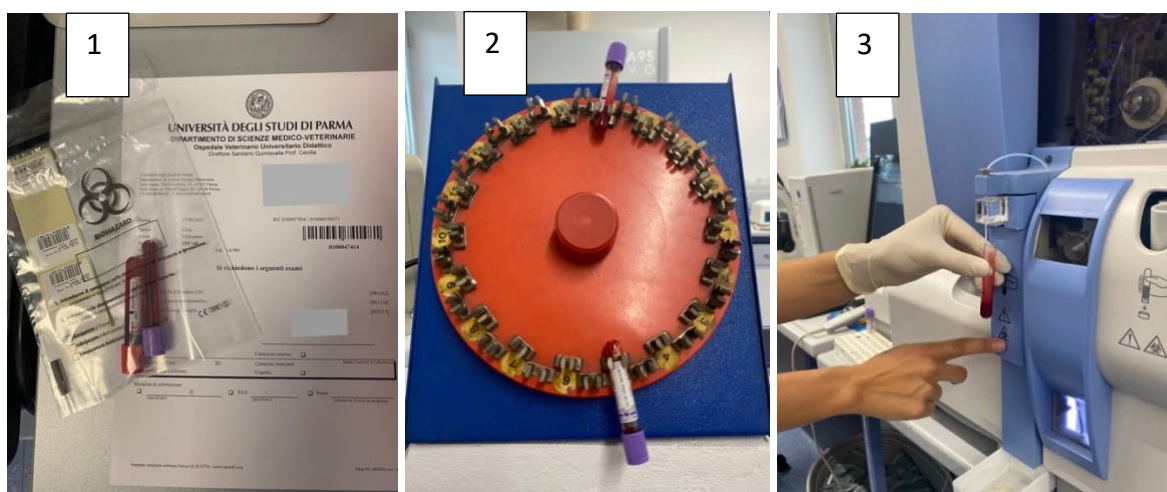
3.3.5 Protocollo operativo per l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico presso il Laboratorio di Patologia Clinica Veterinaria dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico, UniPr

L'esecuzione dell'esame emocromocitometrico si compone di diversi step:

- *registrazione dei pazienti sul portale Fenice®;*
- *prelievo della matrice di sangue;*
- *arrivo e accettazione dei campioni;*
- *esecuzione dell'esame emocromocitometrico;*
- *refertazione dell'esame e successiva validazione.*

Il campione di sangue per l'emocromo è stato prelevato utilizzando un ago butterfly collegato ad una sistema vacutainer per il prelievo del sangue in provette sottovuoto con EDTA.

Subito dopo il prelievo, la provetta di sangue è stata conferita presso il laboratorio di Patologia Clinica (fig.1). In laboratorio le provette di sangue in EDTA sono state posizionate su un agitatore di laboratorio per qualche minuto prima dell'inizio dell'analisi (fig.2). L'esame emocromocitometrico è stato effettuato con l'analizzatore ematologico ADVIA® 2120i (Siemens) Fig. 3.



I risultati di ADVIA® 2120i vengono confermati da un patologo clinico a seguito della lettura al microscopio ottico dello striscio ematico colorato con il metodo May-Grunwald e Giemsa.

Per lo studio sono stati selezionati i campioni di sangue in cui gli eosinofili circolanti superavano il limite superiore di $1,7 \times 10^9/L$ per il gatto e $0,75 \times 10^9/L$ per il cane.

Nei pazienti in cui erano disponibili, sono stati riportati i risultati relativi ad esami ematobiochimici, delle urine e dell'emogasanalisi effettuati contestualmente all'esame emocromocitometrico riportante eosinofilia.

3.3.6 Protocollo operativo per l'esecuzione dell'esame copromicroscopico mediante metodica mini-FLOTAC e tecnica di Baermann presso il Laboratorio di Parassitologia Veterinaria, UniPr

L'esecuzione degli esami coprologici richiede diversi step:

- *Registrazione dei pazienti sul portale Fenice®*
- *Consegna della matrice e stoccaggio*
- *Arrivo e accettazione dei campioni presso il Laboratorio di Parassitologia*
- *Esecuzione dell'esame coprologico mediante le tecniche mini-FLOTAC e Baermann*
- *Refertazione dell'esame sul portale Fenice®*

I campioni fecali sono stati consegnati dai proprietari presso l'ufficio accettazione dell'OVUD o ai medici curanti e sono stati stoccati in un apposito frigorifero accompagnati dalla richiesta dell'analisi da eseguire.

Esame coprologico per flottazione mediante le tecniche mini-FLOTAC e Baermann

Le procedure sintetizzate nei paragrafi sottostanti sono standardizzate e riportate nelle specifiche SOP del Laboratorio di Parassitologia. Prima di iniziare la processazione dei campioni si effettua un esame macroscopico delle feci per la visualizzazione di eventuali macro-elementi parassitari.

Mini-FLOTAC

L'esame copromicroscopico mediante tecnica mini-FLOTAC fornisce risultati quali-quantitativi sulla presenza di uova, larve, cisti e oocisti di parassiti di famiglie e generi diversi all'interno di campioni fecali. Questa tecnica rispetto all'esame copromicroscopico tradizionale fornisce informazioni sul grado di infestazione dei pazienti.

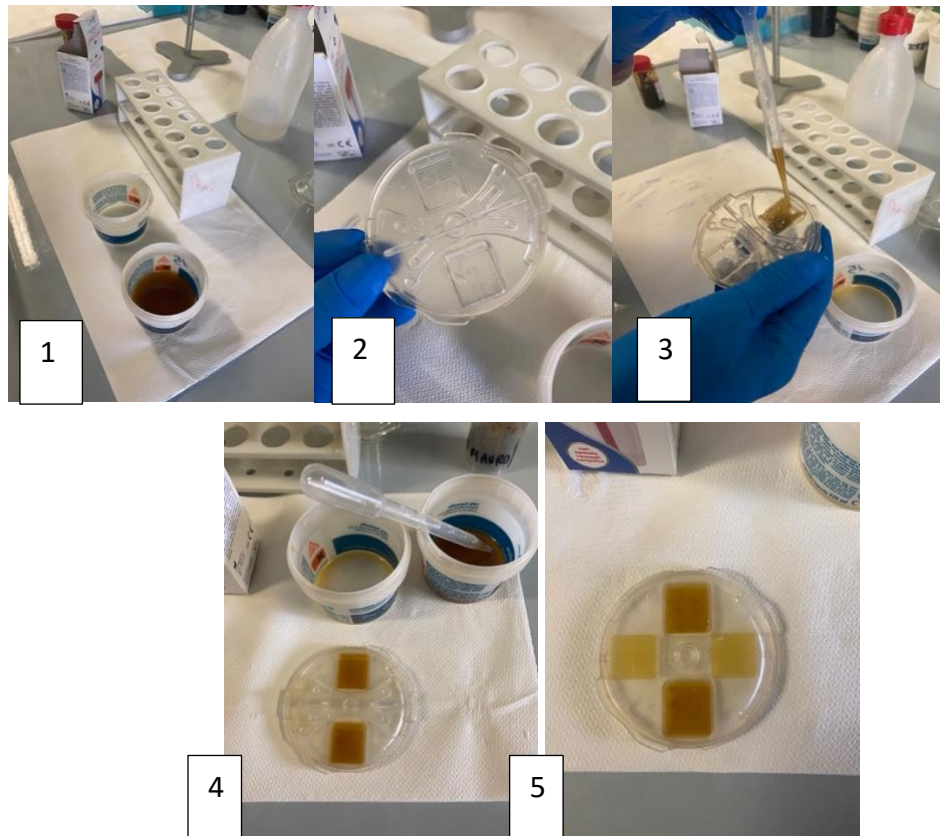
Procedimento:

Per l'esame sono necessari 2g di feci fresche. Queste vengono stemperate all'interno di una soluzione salina concentrata che ha la finalità di liberare uova e larve dal contenuto fecale facendole risalire in superficie.

Una volta stemperate, le feci vengono filtrate con l'ausilio di un colino che trattiene i frammenti grossolani presenti nel campione.

La soluzione filtrata viene travasata una decina di volte all'interno di due contenitori per mescolare adeguatamente il contenuto (fig. 1). Subito dopo con una pipetta Eppendorf viene prelevata una parte della soluzione, che viene depositata all'interno delle due camere di flottazione della base

del mini-FLOTAC (fig. 2, 3). Le camere di flottazione devono essere completamente riempite e non devono essere presenti bolle d'aria. Una volta terminato questo procedimento, sulla base del dispositivo si monta il disco di lettura del mini-FLOTAC che va girato in senso antiorario rispetto alla base. Si lascia riposare il campione per 10 minuti (fig. 4).



Trascorsi i 10 minuti si effettua una rotazione oraria del disco di lettura rispetto alla base del mini-FLOTAC. Con questo passaggio si creano altre due camere di lettura riempite con la soluzione presente nelle prime due camere di lettura, che in questo modo viene ulteriormente filtrata (fig. 5). Le due nuove camere di lettura sono quelle successivamente analizzate al microscopio ottico. Al microscopio ottico le camere di flottazione vengono guardate con ingrandimento 10X; per ogni specie di parassita viene contato il numero complessivo di uova/larve/cisti/oocisti all'interno delle due camere di lettura. Il test ha una sensibilità inferiore al dato reale, per cui si è visto che per ottenere un valore quantitativo attendibile sul numero di uova per grammo di feci, si deve moltiplicare il valore ottenuto dalla conta per 5.

TECNICA DI BAERMANN

Viene allestito per consentire la rilevazione di larve all'interno delle feci. Attraverso questa metodica le larve escono dal contenuto fecale e grazie alla forza di gravità precipitano.

Procedimento:

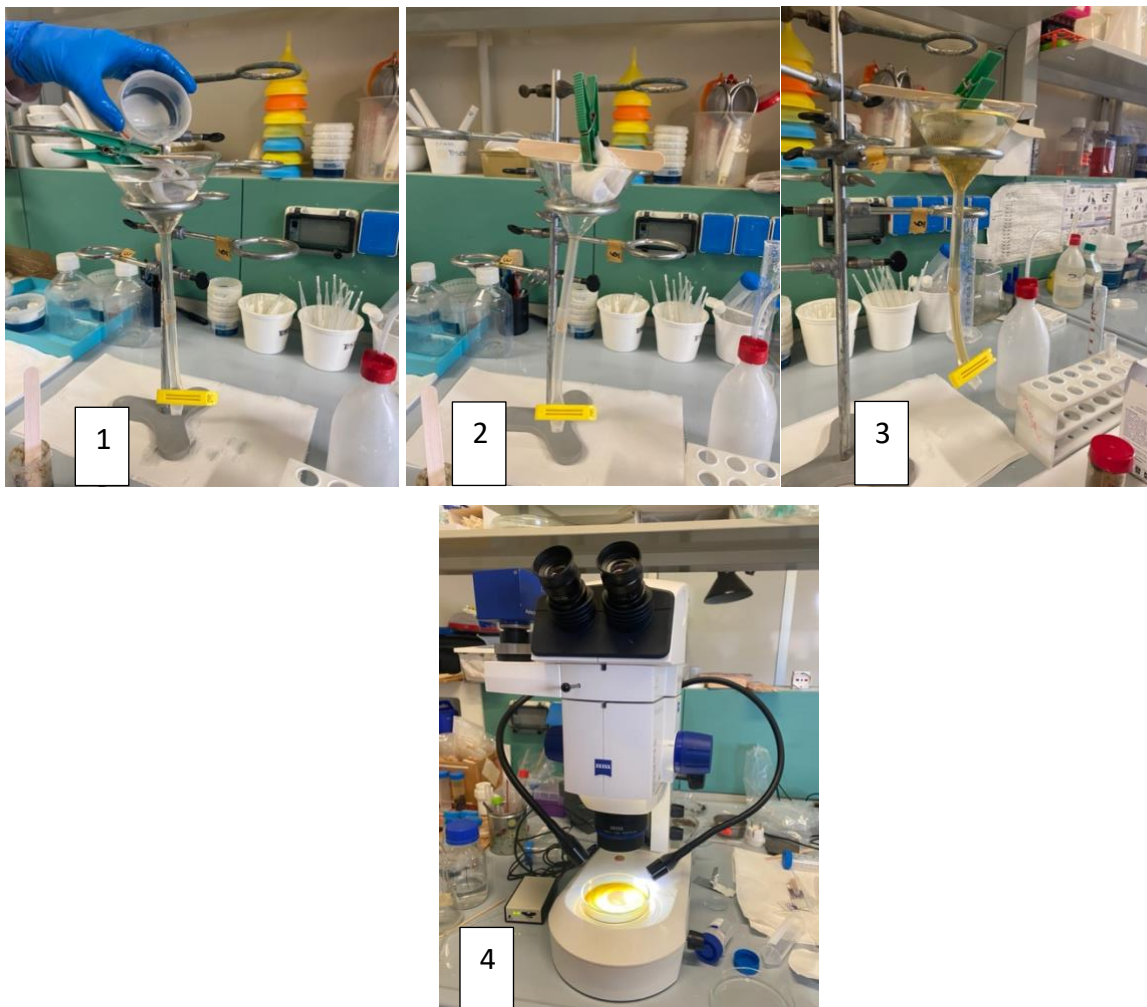
Prevede l'allestimento di una struttura che permetta la separazione delle larve dalle feci. La struttura è costituita da un imbuto sospeso, alla cui apertura viene collegato un piccolo tubo in plastica sigillato all'estremità distale.

Si preleva una porzione di feci fresche avvolte all'interno di un doppio strato di garze.

Le feci avvolte vengono sospese all'interno dell'imbuto, riempito successivamente con acqua tiepida. L'invoglio deve essere completamente sommerso dall'acqua (fig. 1, 2).

La struttura viene lasciata a riposo per 24 ore in ambiente tiepido, dove gradualmente le larve escono dalle feci e precipitano verso il fondo del tubo sigillato.

Trascorse le 24 ore, si posiziona una piastra vuota sotto il tubo sigillato e lo si apre per permettere che la soluzione sedimentata precipiti sul fondo della piastra. Una volta terminato questo passaggio, la piastra viene posizionata sotto uno stereomicroscopio, grazie al quale è possibile visualizzare l'eventuale presenza di larve sul fondo della piastra (fig.4).



3.3.7 Protocollo operativo per l'acquisizione di informazioni cliniche e anamnestiche relative ai pazienti

Vengono ricavate le informazioni anamnestiche e cliniche dei pazienti completi dell'esame emocromocitometrico e dell'esame coprologico sfruttando due diverse fonti di dati:

- Dati ricavati dal fascicolo sanitario del software Fenice®
- Dati ottenuti da un questionario somministrato ai proprietari dei pazienti.

Consultazione del fascicolo sanitario sul software Fenice®

Per ogni paziente viene consultato il fascicolo sanitario, che viene costantemente aggiornato con le informazioni ottenute dalle visite cliniche più recenti. I dati ricercati nella cartella clinica sono i seguenti:

- ◇ Specie dell'animale
- ◇ Sesso: con distinzione tra maschi interi o castrati; femmine intere o sterilizzate
- ◇ Età
- ◇ Razza
- ◇ Ambiente in cui vive l'animale
- ◇ Profilassi vaccinali
- ◇ Profilassi antiparassitaria (comprensivo di leishmaniosi e filariosi cardio-polmonare)
- ◇ Test effettuati per malattie infettive e parassitarie (Leishmania, Dirofilaria e Ehrlichia).
- ◇ Motivo della visita
- ◇ Sintomi principali
- ◇ Co-morbilità e terapie impostate
- ◇ Trattamenti antiparassitari effettuati

Somministrazione del questionario ai proprietari

Ai fini dello studio è stato creato un questionario (in allegato) disponibile sia in versione cartacea che digitale (ottenuta attraverso la piattaforma Google Forms).

Il questionario è stato rilasciato direttamente al proprietario o inviato tramite mail.

Prima della compilazione del questionario ai proprietari è stata richiesta la firma di una liberatoria per il trattamento dei dati ai fini della ricerca.

Le domande del questionario sono state formulate con il fine di completare i dati contenuti nel fascicolo sanitario, per sono state richieste le stesse informazioni elencate precedentemente.

Le domande prevedevano risposte multiple da crocettare e per ciascuna domanda era prevista una voce da poter barrare nel caso il proprietario non fosse a conoscenza dell'informazione richiesta. Le informazioni ricavate dai questionari e dalle cartelle cliniche sono state progressivamente inserite all'interno di un foglio di lavoro del software Excel (Microsoft Office).

Analisi Statistica

La distribuzione delle variabili continue è stata valutata utilizzando il test di Shapiro-Wilk - *normality test*. I dati ottenuti sono stati espressi in base alla loro distribuzione come media (\pm deviazione standard) e mediana (range minimo-massimo). È stato usato il Kruskal-Wallis test per confrontare il valore di eosinofili in alcune categorie di pazienti. L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software statistico MedCalc, versione 18.10.2, Ostend, Belgio.

3.3 Risultati

Nel periodo compreso tra il 1° novembre 2022 e il 31 luglio 2023 hanno presentato eosinofilia all'esame emocromocitometrico 79 pazienti (di cui 66 cani e 13 gatti) e 11 pazienti sono risultati positivi all'esame parassitologico (di cui 7 cani e 4 gatti). Successivamente sono stati inclusi 34 cani e 9 gatti poiché completi sia dell'esame emocromocitometrico che dell'esame parassitologico delle feci.

CANI

Dei 34 cani inclusi:

- 30 sono stati inclusi a seguito del riscontro di eosinofilia all'esame emocromocitometrico:

→ di questi solo 1/30 è risultato positivo agli endoparassiti;

- 4 cani sono stati inclusi a seguito di positività al coprologico:

→ di questi 1/4 ha successivamente mostrato eosinofilia all'esame emocromocitometrico.

Complessivamente, 31/34 cani inclusi presentavano eosinofilia, e di questi due (2/31) presentavano un esame coprologico positivo per endoparassiti. I pazienti positivi per endoparassiti erano 5/34, e 2/5 presentavano eosinofilia.

L'età media dei 34 pazienti inclusi è di 80,5 (\pm 55.6) mesi. I cani inclusi comprendevano 20 maschi (17 interi e 3 castrati) e 14 femmine (9 intere e 5 sterilizzate) appartenenti alle seguenti razze: 11 meticci, 3 Pastori Tedeschi, 2 Lagotti romagnoli, 2 Alaskan Malamute, 2 Dogue de Bordeaux, 2 Dobermann. I restanti cani presentavano un solo soggetto per ogni razza di seguito riportata: Barboncino, Chihuahua, Cavalier King Charles spaniel, Maltese, Border Collie, Mastino

Napoletano, Bracco Italiano, Bracco Tedesco, Cane Corso, Pastore Maremmano, Rhodesian Ridgeback e Rottweiler.

Soggetti con eosinofilia

31 pazienti hanno presentato eosinofilia all'esame emocromocitometrico, 29/31 con coprologico negativo e 2/31 con coprologico positivo.

Dei soggetti con eosinofilia e coprologico positivo:

- 1/31 era positivo per **Ancilostomi** e ricoverato per una broncopolmonite;
- 1/31 era infestato da **Ascaridi** e **Trichuris vulpis**, con positività ad *Ehrlichia canis* e *Leishmania infantum*.

L'età media dei cani con eosinofilia era 86 (\pm 55 mesi) di cui 18/31 maschi (15 interi e 3 castrati) e 13/31 femmine (9 intere e 4 sterilizzate) appartenenti alle seguenti razze: 11 meticci, 3 Pastori tedeschi, 2 Lagotti Romagnoli, 2 Alaskan malamute, 2 Dogue de Bordeaux, 2 Dobermann. I restanti cani presentavano un solo soggetto per ogni razza di seguito riportata: Barboncino, Chihuahua, Cavalier king Charles spaniel, Maltese, Bracco italiano, Cane corso, Pastore Maremmano, Rhodesian Ridgeback, Rottweiler. Non è stata riscontrata nessuna differenza statistica nel numero degli eosinofili tra maschi e femmine ($P=0.3$).

15/31 soggetti vivono in ambiente domestico, 12/31 in ambiente misto, 3/31 in ambiente esterno e per un paziente non è disponibile il dato.

Co-morbilità e presentazione clinica

Alla visita clinica i pazienti presentavano i seguenti sintomi:

- 7/29 presentavano **diarrea**: 4/7 avevano malattie gastrointestinali, 1/7 una malattia renale, 1/7 un'anemia emolitica immunomediata, 1/7 uno shock settico.
- 6/29 presentavano **vomito**: 4/6 avevano una malattia gastrointestinale, 1/6 una malattia renale, 1/6 un'ernia discale lombosacrale.
- 8/31 pazienti presentavano **disoressia**: 3/8 avevano malattie gastrointestinali, 2/8 erano oncologici, 1/8 una malattia renale cronica, 1/8 una broncopolmonite (positivo agli endoparassiti) e 1/8 un'ipertermia con tumefazione del gomito.
- Per 8/31 pazienti i proprietari hanno riferito **apatia**: 2/8 avevano malattie infettive/inflammatorie, 3/8 malattie gastrointestinali, 1/8 era oncologico, 1/8 aveva malattia renale cronica e 1/8 aveva una broncopolmonite (positivo agli endoparassiti)
- Per 3/29 pazienti è stato segnalato **dimagrimento**: 2/3 con enteropatia e 1/3 con megaesofago.

- 4/31 pazienti presentavano **tosse**: 2/4 erano cardiopatici, 1/4 aveva malattia renale e bronchite cronica e 1/4 una broncopolmonite (positivo agli endoparassiti).
- Per nessun paziente sono stati riportati episodi di **prurito**.

I 31 soggetti con eosinofilia sono stati raggruppati all'interno di macrocategorie a seconda delle comorbidità presentate in concomitanza al suo riscontro:

6/31 erano pazienti oncologici (2/6 emangiosarcoma sottocutaneo, 1/6 con carcinoma polmonare, 1/6 un carcinoma nasale, 1/6 carcinoma prostatico, 1/6 sospetto carcinoma epatico), 6/31 pazienti con malattie gastrointestinali (3/6 con enteropatia cronica, 2/6 con gastroenteropatia acuta, 1/6 con dilatazione gastrica), 4/31 con malattie infettive-infiammatorie (di cui uno positivo agli endoparassiti) (2/4 positivi per Ehrlichia, 1/4 con shock anafilattico, 1/4 con ipertemia di sospetta origine infettiva), 2/31 cardiopatici (1/2 con cardiopatia ipocinetica dilatativa e 1/2 con malattia mitralica), 1/31 con malattia renale cronica, 1/31 con ipotiroidismo, 1/31 con megaesofago, 1/31 con broncopolmonite (positivo agli endoparassiti), 1/31 con anemia emolitica immunomediata, 1/31 con ernia lombosacrale e 1/31 con malattia renale cronica associata a bronchite cronica. Infine, 6/31 pazienti non presentavano nessuna comorbidità ma avevano effettuato l'esame emocromocitometrico per un *health-check*. Facendo un confronto dell'eosinofilia tra le tre macrocategorie più rappresentate (cani con neoplasia vs cani con malattie gastrointestinali vs cani con malattie infettive-infiammatorie) non c'è una differenza significativa nell'eosinofilia (P=0.6). La tabella sottostante riporta il range e la mediana degli eosinofili nel cane per ciascuna categoria di malattie che hanno presentato eosinofilia.

CANE	Eosinofili/mm ³		Età (mesi)	
	Mediana	Range (min-max)	Mediana	Range (min-max)
Malattia renale cronica (n=1)	1200	-	120	120
Broncopolmonite (n=1)	940	-	96	-
Malattie neoplastiche (n=6)	940	770-1370	126	84-168
Malattie intestinali (n=6)	1155	780-5830	66	5-156
Ipotiroidismo (n=1)	1220	-	96	-
Megaesofago (n=1)	780	-	12	-
Malattie infettive-infiammatorie (n=4)	1225	810-1487	54	4-96
Malattie cardiache (n=2)	1970	780-3160	90	72-108
Anemia emolitica immunomediata (n=1)	830	-	108	-
Ernia lombo-sacrale (n=1)	790	-	144	-
Malattie renali + respiratorie (n=1)	1010	-	156	-
Nessuna comorbidità	945	790-2800	42	12-192

Tabella 2: Range e mediana degli eosinofili per ciascuna categoria di malattie che ha causato eosinofilia nel cane

Soggetti con coprologico positivo

L'età media dei soggetti è di 51 (± 44) mesi di cui 3/5 sono femmine (2 sterilizzate e 1 intera) e 2/5 maschi interi appartenenti alle seguenti razze: Mastino napoletano, Dogue de Bordeaux, Bracco Tedesco, Border Collie e meticcio. 3/5 vivevano in ambiente domestico e 2/5 vivevano all'esterno; 4/5 erano di proprietà e 1/5 proveniva dal canile.

La positività ha riguardato i seguenti parassiti:

- 1/5 positivo a *Dipylidium caninum*
- 1/5 positivo agli Ancilostomi
- 1/5 positivo ad Ancilostomi e *Giardia duodenalis* → con eosinofilia
- 1/5 positivo a *Trichuris vulpis*
- 1/5 positivo a *Trichuris vulpis* e Ascaridi → con eosinofilia

Dei 2/5 soggetti con coprologico positivo ed eosinofilia:

- quello positivo ad Ancilostomi e *Giardia duodenalis* ha effettuato prima l'esame emocromocitometrico e successivamente il parassitologico;
- quello positivo a *Trichuris vulpis* e agli Ascaridi ha avuto riscontro di positività al coprologico ed è stato successivamente sottoposto ad emocromo.

I 3/5 cani con coprologico positivo e assenza di eosinofilia presentavano le seguenti comorbilità:

- **1/3 Positivo a *Dipylidium caninum*** : ricoverato per una grave broncopolmonite
- **1/3 Positivo a *Trichuris vulpis*** : ricoverato per torsione di colon causata dalla massiva infestazione parassitaria.
- **1/3 Positivo agli Ancilostomi** : ricoverato per una broncopolmonite

Sintomi (per i 3/5 cani privi di eosinofilia)

- 2/3 cani hanno manifestato **diarrea**: 1/2 con broncopolmonite e 1/2 con colite;
- per nessun cane è stato riportato il vomito;
- per 1/3 è stata riportata **disoressia** e aveva una broncopolmonite;
- 2/3 hanno manifestato **apatia**: 1/3 aveva la broncopolmonite e 1/3 la colite.
- Per nessun cane è stato riportato **dimagrimento**
- 1/3 aveva **tosse** in concomitanza alla broncopolmonite

Profilassi:

Nei pazienti inclusi è stato riportato, dove presente, il dato sulle profilassi effettuate per: ecto e endoparassiti, Leishmania e Filaria cardio-polmonare. I dati relativi alle profilassi sono riportati, per ogni paziente incluso, nella tabella sottostante insieme alle variabili tenute in considerazione per l'inclusione del paziente (eosinofilia, esito esame coprologico e co-morbilità).

CANI										
Comorbilità	Pazienti	Eosinofilia	Esito coprologico	Sverminazione recente	Profilassi Leishmania	Testato Leishmania	Profilassi Filaria	Testato Filaria	Testato Ehrlichia	Prof. Antiparassitaria
Malattia renale	Paz.1	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	/	✓
Malattia renale + bronchite cronica	Paz.2	✓	X	X	✓	X	✓	X	/	✓
Pazienti neoplastici	Paz.3	✓	X	/	✓	/	✓	/	/	✓
	Paz.4	✓	X	X	✓	X	✓	X	/	✓
	Paz.5	✓	X	X	/	/	/	/	/	/
	Paz.6	✓	X	X	✓	X	✓	X	/	✓
	Paz.7	✓	X	X	X	X	X	X	/	X
Malattie gastrointestinali	Paz.8	✓	X	X	X	X	✓	X	/	✓
	Paz.9	✓	X	✓	✓	X	✓	X	/	✓
	Paz.10	✓	X	X	/	/	✓	/	/	✓
	Paz.11	✓	X	X	/	/	/	/	/	/
	Paz.12	✓	X	/	✓	X	✓	X	/	X
	Paz.13	✓	X	/	✓	X	✓	X	/	✓
Ipotiroidismo	Paz.14	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	/	✓
	Paz.15	✓	X	X	✓	X	✓	X	/	✓
Megaesofago	Paz.16	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	/	✓
Malattie Inf./infiammatorie	Paz.17	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	✓(positivo)	✓
	Paz.18	✓	X	X	/	/	/	/	/	/
	Paz.19	✓	X	X	✓	X	✓	X	/	✓
Malattie cardiache	Paz.20	✓	X	X	/	/	/	/	/	/
	Paz.21	✓	X	X	✓	X	✓	X	/	✓
Anemia emolitica immunomediata	Paz.22	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	/	✓
Ernia discale Lombosacrale	Paz.23	✓	X	X	✓	X	✓	X	/	✓
Health-check	Paz.24	✓	X	X	/	/	✓	/	/	✓
	Paz.25	✓	X	/	/	/	/	/	/	/
	Paz.26	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	/	✓
	Paz.27	✓	X	✓	X	X	✓	X	/	✓
	Paz.28	✓	X	X	X	X	X	X	/	✓
Broncopolmonite	Paz.29	✓	X	X	✓	✓	✓	✓	/	✓
	Paz.30	✓	✓	/	/	/	/	/	/	/
Malattia inf-infiammatoria	Paz.31	✓	✓	/	X	✓(positivo)	X	X	✓(positivo)	X
Torsione di colon	Paz.32	X	✓	/	/	/	/	/	/	/
Broncopolmonite	Paz.33	X	✓	X	X	/	/	/	/	/
Malattie gastroent. (colite)	Paz.34	X	✓	X	X	/	/	/	/	/

Tabella 3: Profilassi dei cani inclusi. Descrizione della presenza/assenza delle variabili: eosinofilia, esito coprologico, sverminazione recente, profilassi leishmania testato leishmania, profilassi Filaria, testato Filaria, Testato Ehrlichia, nei cani inclusi. In rosa i pazienti con coprologico positivo ed eosinofilia. In verde i cani con coprologico positivo senza eosinofilia. Legenda: ✓: SI; X: NO; /: dato mancante.

GATTI

In totale sono stati inclusi 9 gatti.

- 5/9 sono stati inclusi a seguito di eosinofilia all'esame emocromocitometrico:

→ di questi nessuno è risultato positivo agli endoparassiti;

- 4/9 sono stati inclusi a seguito di positività al coprologico:

→ di questi 2/4 hanno presentato successivamente eosinofilia all'esame ematico.

Complessivamente, 7/9 gatti inclusi presentavano eosinofilia, e di questi 2/7 presentavano un esame coprologico positivo per endoparassiti. I pazienti positivi per endoparassiti erano 4/9, e 2/4 presentavano eosinofilia.

L'età media dei soggetti inclusi nello studio è 54 (\pm 70) mesi, di cui 7 maschi (5 interi e 2 castrati) e due femmine (1 sterilizzata e 1 intera). 8/9 appartengono alla razza Comune Europea e 1/9 è di razza Siamese. 4/9 sono indoor, 4/9 sono outdoor e 1/9 frequente ambienti misti.

4/9 provengono dal gattile del comune di Parma e 5/9 sono di proprietà.

Gatti con eosinofilia

Dei 7/9 gatti che hanno presentato eosinofilia all'esame emocromocitometrico: 5/7 avevano un coprologico negativo e 2/7 un coprologico positivo.

Dei 2 soggetti con eosinofilia e coprologico positivo entrambi erano positivi ai Coccidi ed erano privi di comorbilità. 5/7 dei gatti inclusi con eosinofilia erano di proprietà e 2/7 provenivano dal canile (entrambi positivi agli endoparassiti). L'età media era di 64,2 (\pm 77) mesi di cui 5 maschi (2 sterilizzati e 3 interi) e 2 femmine (una intera e una sterilizzata). Un gatto era di razza siamese e gli altri comuni europei. 4/7 sono gatti indoor, 2/7 outdoor e per 1/7 non è disponibile il dato.

Co-morbilità e presentazione clinica

Alla visita clinica i pazienti presentavano i seguenti sintomi:

- 2/7 avevano manifestato episodi di **vomito** ed entrambi avevano una malattia renale cronica.
- Per 1/7 è stata riportata **disoressia** e aveva una malattia renale cronica.
- Per 3/7 è stata riportata **apatia**: 1/3 aveva l'Addison, 1/3 un piotorace e 1/3 una malattia renale cronica.

- 2/7 hanno mostrato **dimagrimento**: 1/2 aveva una malattia renale cronica e 1/2 il morbo di Addison.
- 2/7 gatti avevano manifestato episodi di **diarrea**: 1/2 aveva una malattia renale cronica e 1/2 il morbo di Addison.

Per quanto riguarda le comorbilità, 2/7 erano pazienti renali cronici, 1/7 aveva un'epilessia idiopatica, 1/7 aveva il morbo di Addison e 1/7 un pitorace. 2/7 erano privi di comorbilità e sono i 2 pazienti positivi al coprologico.

La tabella sottostante riporta il range e la mediana degli eosinofili nel gatto per ciascuna categoria di malattie che hanno presentato eosinofilia

GATTO	Eosinofili/mm ³		Età (mesi)	
	Mediana	Range (min-max)	Mediana	Range (min-max)
Malattie renali (n=2)	3991	3113-4870	168	132-204
Malattie endocrine (n=1)	2850	-	60	-
Malattie infettive-infiammatorie (n=1)	1738	-	12	-
Malattie neurologiche (n=1)	2590	-	36	-
Health check (n=2)	1750	360-1870	3	3-3

Tabella 4: Range e mediana degli eosinofili per ciascuna categoria di malattie che ha causato eosinofilia nel gatto

Soggetti positivi al coprologico

4/9 gatti sono risultati positivi agli endoparassiti e tutti provenivano dal gattile del comune di Parma. Erano tutti maschi interi, avevano un'età media <12 mesi e appartenevano tutti alla razza Comune Europea.

-2/4 hanno presentato eosinofilia con positività ai Coccidi.

-2/4 non hanno manifestato eosinofilia ed entrambi erano privi di comorbilità:

- 1/2 era positivo a Coccidi.
- 1/2 era positivo per Ancilostomi e Coccidi

Non è stato possibile ricavare informazioni riguardo le profilassi di questi gatti poiché si trattava di nuovi ingressi del gattile. Per nessun paziente sono stati riportati sintomi.

Profilassi:

Nei pazienti inclusi è stato riportato, dove presente, il dato sulle profilassi effettuate per: ecto ed endoparassiti. I dati relativi alle profilassi sono riportati, per ogni paziente incluso, nella tabella

sottostante insieme alle variabili tenute in considerazione per l'inclusione del paziente (eosinofilia, esito esame coprologico e co-morbilità).

GATTI						
Comorbilità	Pazienti	Eosinofilia	Esito coprologico	Sverminazione recente	Prof. Filaria	Prof. antiparassitaria
<i>Malattia renale</i>	<i>Paz.1</i>	✓	X	X	X	X
	<i>Paz.2</i>	✓	X	X	X	✓
<i>Ipadrenocorticismo</i>	<i>Paz.3</i>	✓	X	✓	✓	X
<i>Malattia inf. infiammatoria</i>	<i>Paz.4</i>	✓	X	X	/	✓
<i>Malattia neurologica</i>	<i>Paz.5</i>	✓	X	X	/	X
<i>Health-check</i>	<i>Paz.6</i>	✓	✓	X	/	/
<i>Health-check</i>	<i>Paz.7</i>	✓	✓	X	/	/
<i>Health-check</i>	<i>Paz.8</i>	X	✓	X	/	/
<i>Health-check</i>	<i>Paz.9</i>	X	✓	X	/	/

Tabella 5: Profilassi dei gatti inclusi. Descrizione della presenza/assenza delle variabili: eosinofilia, esito coprologico, sverminazione recente, profilassi ecto ed endo parassiti, nei gatti inclusi. In rosa i pazienti con coprologico positivo ed eosinofilia. In verde i cani con coprologico positivo senza eosinofilia. Legenda: ✓: SI; X: NO; /: dato mancante.

4.0 DISCUSSIONE

CANI

Dei 34 cani, 30 sono stati inclusi per presenza di eosinofilia e di questi soltanto un cane ha avuto successivamente un esame coprologico positivo. Dei 4 cani inclusi per positività al coprologico soltanto ad un cane è stata successivamente rilevata eosinofilia. Quindi, dallo studio emerge che solo 2 soggetti sul totale dei 34 soggetti ha avuto sia la presenza di eosinofilia sia la positività al coprologico (circa il 5,8%).

La probabilità dell'eosinofilia associata alla positività agli endoparassiti è risultata più bassa in questo studio rispetto all'unico studio a disposizione nel cane che ha studiato (in maniera retrospettiva) le malattie associate all'aumento degli eosinofili e la loro incidenza. Nello studio condotto da Guija-de-Arespacochaga *et al.*, (2022), infatti, l'associazione tra eosinofilia e positività agli endoparassiti era risultata essere del 10,4%. Va tuttavia specificato che la percentuale ottenuta nello studio includeva anche diverse specie di parassiti trasmessi da vettore, che nel nostro studio non sono stati indagati.

La bassa percentuale dei soggetti presentanti eosinofilia in relazione alla positività agli endoparassiti rilevata in questo lavoro potrebbe suggerire il fatto che le parassitosi siano sovrastimate quali causa di aumento degli eosinofili nel cane.

Dal momento che presso l'OVUD arrivano spesso casi riferiti da veterinari operanti in ambulatori e cliniche esterne, i dati estrapolati dalla cartella clinica dell'ospedale sono stati arricchiti con le informazioni ottenute dal questionario sottoposto ai proprietari. Questo è servito soprattutto per avere maggiori informazioni sul tipo di profilassi effettuata sui pazienti, che spesso viene gestita dai veterinari referenti.

In questo caso le informazioni si sono rese utili nel capire quanto reale fosse il riscontro dell'esiguo numero di pazienti con eosinofilia positivi al coprologico, poiché non era da escludere il fatto che i cani fossero stati sverminati nel periodo subito antecedente agli esami ematici.

Dai dati raccolti dai proprietari è emerso che il 74% dei cani (23/31) con eosinofilia non era stato sottoposto a sverminazione nei periodi antecedenti all'esame del sangue. Circa il 6,45% (2/31) dei pazienti era stato sverminato e per il 19,35% dei pazienti (6/31) non è stato possibile ottenere informazioni per scarsa compliance dei proprietari nel rispondere al questionario o per mancata conoscenza del dato. Il paziente trattato e i pazienti su cui non sono disponibili le informazioni costituiscono uno dei limiti di questo studio, poiché non è possibile sapere se l'aumento degli eosinofili in questi casi fosse legato ad una recente infestazione trattata.

Nello studio emerge come il numero dei pazienti con eosinofilia sia decisamente superiore rispetto al numero di pazienti positivi al coprologico e questo ha portato alla considerazione delle possibili morbilità che possono aver scatenato l'aumento degli eosinofili nei cani.

In letteratura è riportato il riscontro di eosinofilia in corso di patologie neoplastiche, di patologie infettive e infiammatorie (tra cui reazioni da ipersensibilità, infezioni batteriche e malattie infiammatorie del tratto respiratorio e gastrointestinale), in corso di malattie autoimmuni, ormonali e per una serie di altre problematiche (tra cui disturbi cardiaci, malattie neurologiche, intossicazioni, complicanze post-chirurgiche) (Losco, 1986; Sellon *et al.*, 1992; Lilliehöök *et al.*, 2000; Barrs *et al.*, 2002; Lilliehöök *et al.*, 2003; Nutman, 2007; Williams *et al.*, 2008; Vaughan *et al.*, 2010; Guija-de-Arespachoga *et al.*, 2022; Young e Layne, 2022).

Dei 31 pazienti presentanti eosinofilia sono state considerate una serie di informazioni di tipo clinico e anamnestico e sono stati successivamente raggruppati in categorie diverse in base alla diagnosi clinica riportata. I gruppi delle morbilità maggiormente rappresentati sono quelli dei pazienti oncologici (19,3%) e dei pazienti con malattie gastrointestinali (19,3%). I restanti gruppi erano rappresentati dalle malattie infettive/infiammatorie (12,9%), dalle malattie cardiache (6,4%), dalle malattie renali (3,2%), un caso di ipotiroidismo (3,2%), uno di megaesofago (3,2%), uno di anemia emolitica immunomediata (3,2%), uno di ernia lombosacrale (3,2%), uno di broncopolmonite (3,2%) e un caso di malattia renale accompagnata a malattia respiratoria cronica (3,2%). Per un cospicuo gruppo di pazienti (19,3%) non sono state segnalate morbilità.

I tre gruppi maggiormente rappresentati, ovvero i pazienti oncologici, i pazienti con malattie gastrointestinali e quelli privi di comorbidità concordano con quanto osservato nello studio di Guija-de-Arespacochaga *et al.*, (2022).

Dallo studio sono emerse anche una serie di malattie non precedentemente riportate in letteratura, tra cui un caso di ipotiroidismo, un caso di anemia emolitica immunomediata e un caso di malattia renale cronica. In ogni caso, sarebbe necessaria l'inclusione di più pazienti per valutare il reale riscontro di queste patologie in concomitanza al rilievo di eosinofilia.

Per quanto riguarda i cani, la presenza di eosinofilia è distribuita in modo abbastanza omogeneo tra maschi (18/31) e femmine (13/31).

Il confronto del valore medio degli eosinofili per le tre macrocategorie di malattie maggiormente riportate (malattie neoplastiche, gastrointestinali e infettive-infiammatorie), non ha evidenziato differenze significative.

L'età media dei soggetti inclusi è 86 mesi (\pm 55 mesi) e non sono state riscontrate differenze significative di età tra maschi e femmine.

I cani appartenevano a razze eterogenee. Il Pastore Tedesco è stata la razza maggiormente registrata, seguito dall'Alaskan Malamute, dal Dobermann e dal Dogue de Bordeaux.

La spiegazione del maggior riscontro di soggetti con eosinofilia appartenenti alla razza Pastore Tedesco potrebbe ricondursi al fatto che in questa razza il valore medio fisiologico degli eosinofili tende ad essere più alto rispetto ai range di riferimento standard utilizzati per la specie canina (Lilliehöök *et al.*, 2003; Bourgès-Abella *et al.*, 2011; Lawrence *et al.*, 2013). Per quanto riguarda le altre razze maggiormente rappresentate (Alaskan Malamute, Dobermann e Dogue de Bordeaux), non sono riportati in letteratura studi che abbiano segnalato differenze nel valore medio degli eosinofili.

In totale 5/34 cani hanno mostrato un coprologico positivo.

Le specie di parassiti riportate in questo studio appartengono tutte al gruppo dei parassiti gastrointestinali (*Trichuris vulpis*, Ancilostomi, *Giardia duodenalis*, Ascaridi, *Dipylidium caninum*) e sono le specie di più comune riscontro nei cani (Riggio *et al.*, 2013; Zanzani *et al.*, 2014).

2/5 pazienti sono risultati positivi a *Trichuris vulpis* (di cui uno con una coinfezione da parte di Ascaridi). Il paziente con la sola infestazione da *Trichuris vulpis* non ha riportato eosinofilia all'emocromo, nonostante fosse stato operato per una torsione di colon causata dalla massiva infestazione parassitaria. Questo può concordare con il fatto che la letteratura riportante casi di eosinofilia in corso di infestazione da parte di *Trichuris vulpis* sia pressoché assente. Il secondo paziente, positivo a *Trichuris vulpis* e Ascaridi aveva un innalzamento degli eosinofili (1,160 X

10⁹/L). Questo paziente era positivo anche a *Leishmania infantum* ed *Ehrlichia canis*, quest'ultima descritta in letteratura come causa di eosinofilia (Kottadamane *et al.*, 2017; Thongsahuan *et al.*, 2020).

Un paziente è risultato positivo a *Dipylidium caninum* e non ha registrato un innalzamento dell'eosinofilia. Infatti, anche per questo parassita la letteratura non riporta l'aumento degli eosinofili nei soggetti infestati.

2/5 hanno registrato un'infestazione da parte di Ancilostomi (di cui uno positivo ad una coinfezione con *Giardia duodenalis*). In un paziente (positivo ai soli Ancilostomi) è stato registrato l'aumento degli eosinofili e nell'altro (positivo ad Ancilostomi e *Giardia*) gli eosinofili rientravano nei range.

L'età media dei soggetti positivi ai parassiti è 51 (± 44) mesi. L'età dei cani in questo studio non ha influenzato la probabilità di ottenimento di un coprologico positivo, nonostante in letteratura venga riportata una maggiore probabilità di infestazione nei soggetti giovani (< 12 mesi) (Barutzki e Schaper, 2013).

Per quanto riguarda l'ambiente, l'80% dei pazienti positivi era di proprietà e di questi il 75% viveva in ambiente domestico. Questo dato si discosta da quanto riportato letteratura, che attesta una maggiore probabilità di infestazione in soggetti provenienti da canili e rifugi o con libero accesso all'ambiente esterno (Liberato *et al.*, 2018). Tuttavia, il fatto che tra i positivi al parassitologico prevalgano i cani di proprietà potrebbe essere giustificato dal fatto che in OVUD afferiscono più pazienti di proprietà rispetto ai pazienti provenienti dai canili.

I dati a nostra disposizione evidenziano come l'incidenza delle infestazioni endoparassitarie sia molto bassa se rapportata all'incidenza dei pazienti con eosinofilia ematica. Inoltre, sebbene il basso numero di pazienti positivi al coprologico non ci permetta di valutare l'andamento dell'eosinofilia su più pazienti per ciascuna specie di parassita, lo studio evidenzia come il comportamento degli eosinofili negli animali positivi al coprologico sia un dato incostante.

Nonostante l'associazione tra l'eosinofilia e la positività agli endoparassiti gastrointestinali venga maggiormente sospettata a fronte dell'innalzamento del valore degli eosinofili ematici accompagnato al riscontro di sintomatologia gastroenterica (diarrea), nello studio è emerso che sul totale dei pazienti con eosinofilia, solo 7/31 hanno manifestato diarrea (circa il 22,5%) e di questi solo 2/7 (28%) erano positivi ai parassiti (un cucciolo di 3 mesi infestato da *Dipylidium caninum* e un adulto con una coinfezione da Ancilostomi e *Giardia*). Nonostante il numero limitato di pazienti con coprologico positivo non ci consenta di generalizzare il dato, nello studio emerge come il riscontro di diarrea nel cane sia spesso legata ad altre problematiche che esulano dalle malattie endoparassitarie (soprattutto malattie gastrointestinali). Il fatto che un soggetto con

diarrea e positività al coprologico fosse un cucciolo, conferma quanto riportato in letteratura, che attesta una maggiore probabilità di riscontrare sintomatologia negli animali giovani rispetto ai soggetti adulti, in cui spesso la parassitosi decorre in forma asintomatica (Overgaaw, 1997; Traversa, 2012; Adam, 2021).

GATTI

Per quanto riguarda i 9 gatti inclusi, 5/9 sono stati inclusi in quanto presentanti eosinofilia all'esame emocromocitometrico; nessuno di questi pazienti ha presentato un coprologico positivo e si trattava di gatti di proprietà. 4/9 soggetti sono stati inclusi a seguito di positività al coprologico, tutti provenienti dal gattile; di questi 2/9 hanno successivamente presentato eosinofilia all'emocromo.

Quindi sul totale dei gatti con eosinofilia, 2/7 erano positivi agli endoparassiti (circa il 28,5%).

Sebbene lo studio abbia incluso pochi pazienti della specie felina (9 gatti vs 34 cani), dai dati ottenuti emerge come l'associazione tra l'eosinofilia e la positività ai parassiti sembri essere più forte rispetto a quando visto per il cane (28,5% gatto vs 5,8% cane).

La valutazione delle ulteriori cause che possono portare all'aumento degli eosinofili nei gatti negativi al coprologico, ha portato ad individuare una serie di morbilità. In letteratura sono disponibili pochi lavori sull'eosinofilia nel gatto, tuttavia anche in questa specie si è registrato il loro possibile aumento nei pazienti affetti da diverse tipologie di malattie: infettive/infiammatorie, neoplastiche, autoimmuni, ormonali e una serie di altri disturbi (tra cui malattie cardiache, ipertiroidismo, malattie renali, malattie del tratto urinario, traumi dei tessuti molli) (Peterson *et al.*, 1989; Barrs, 2004; Young e Layne, 2022).

Nel presente studio, le categorie maggiormente rappresentate sono state quelle dei soggetti con malattia renale cronica (2/7) e quella dei soggetti privi di comorbilità (2/7), che però erano positivi al coprologico.

Per i restanti casi, è emerso un caso di ipoadrenocorticismo, un caso di piotorace e un caso di epilessia idiopatica. Le prime due malattie trovano riscontro nella letteratura, mentre per quanto riguarda l'epilessia, non sono disponibili studi nel gatto che riportino l'aumento degli eosinofili (Barrs, 2004).

Sarebbe necessaria l'inclusione di più gatti con eosinofilia per valutare se l'associazione tra l'aumento degli eosinofili e queste malattie è un dato che si conferma in più pazienti.

Se nel cane i soggetti positivi all'esame coprologico erano affetti al tempo stesso da morbilità che potevano aver influenzato l'aumento degli eosinofili, nel caso dei 2 gatti sani con eosinofilia e

positivi al coprologico, l'aumento degli eosinofili potrebbe essere realmente legato all'infestazione parassitaria.

Tra le razze di gatti che hanno manifestato l'eosinofilia, domina la razza Comune Europea (6/7 soggetti). Questo, tuttavia, potrebbe essere dovuto al fatto che i gatti di razza sono meno diffusi rispetto ai gatti comuni europei.

L'età media dei soggetti era di 64,2 (± 77) mesi. La presenza di eosinofilia è distribuita in modo disomogeneo tra maschi (5/7) e femmine (2/7), tuttavia il numero di pazienti inclusi è troppo basso per poter avanzare ipotesi sul ruolo del sesso nell'aumento degli eosinofili.

Per quanto riguarda i pazienti positivi al coprologico, questi hanno riguardato 4/9 dei pazienti inclusi (circa il 44,4%), contro il 14,7% attestatosi nel cane (5/34).

Il dato, tuttavia, va contestualizzato a fronte del maggior numero di gatti provenienti dal gattile (4 su 9 inclusi, circa il 44,4%) rispetto a quanto verificatosi nel cane (2 su 34 inclusi, circa il 5,8%). È infatti risaputo che gli animali provenienti da canili/gattili abbiano una maggiore probabilità di essere positivi ai parassiti (Szwabe e Blaszkowska, 2017).

Inoltre, il fatto che sul totale dei gatti inclusi 4/9 (44,4%) avessero un'età \leq di 12 mesi e che di questi 3/4 fossero cuccioli di 3 mesi appena giunti in gattile (mai trattati precedentemente), potrebbe aver determinato un aumento della percentuale di incidenza delle parassitosi. Per poter ottenere una percentuale d'incidenza realistica nel gatto e per poter effettuare un confronto con il cane, sarebbe necessario che il numero di inclusi tra cane e gatto fosse simile; inoltre, si dovrebbe avere una percentuale simile di pazienti provenienti da canili/gattili.

I dati a nostra disposizione, quindi, non consentono di stimare in maniera adeguata la reale percentuale di incidenza degli endoparassiti nei gatti, tuttavia confermano quanto riportato in letteratura, che vede una maggiore probabilità di ritrovare soggetti positivi in animali giovani e non di proprietà (Szwabe e Blaszkowska, 2017).

I parassiti riscontrati nello studio sono i Coccidi e gli Ancilostomi, che sono i generi più comuni nella specie felina (Szwabe e Blaszkowska, 2017).

L'infestazione da Coccidi ha riguardato tutti i soggetti positivi al coprologico (4/4), di cui uno era coinfectato da Ancilostomi.

3/4 dei soggetti positivi ai Coccidi erano cuccioli (3 mesi) a conferma del fatto che il parassita sia maggiormente diffuso nei gatti giovani (Barutzki e Schaper, 2013).

L'eosinofilia concomitante ai Coccidi si è manifestata in 2/4 (circa il 50%); il dato non è confrontabile con la letteratura, poiché nel gatto esistono ancora meno studi rispetto al cane che descrivano i cambiamenti clinico-patologici dei pazienti positivi agli endoparassiti.

LIMITI DELLO STUDIO:

Questo lavoro di tesi presenta diversi limiti. Il numero dei pazienti inclusi, soprattutto nel gatto non ci permette di poter contestualizzare al meglio i dati ottenuti. Sebbene i dati sulle malattie principalmente coinvolte in corso di eosinofilia siano interessanti non è stato possibile effettuare degli approfondimenti sulle singole malattie. Le categorie considerate comprendono infatti malattie con degli aspetti molto eterogenei tra di loro. In futuro sarà necessario approfondirne il ruolo. La conoscenza della profilassi antiparassitaria dei pazienti inclusi non costituiva un criterio di inclusione. Se da una parte ci ha portato ad includere un numero maggiore di pazienti dall'altra non possiamo escludere che alcuni dei pazienti inclusi possano essere dei falsi negativi. Inoltre, non abbiamo indagato la presenza di emoparassiti negli animali inclusi e potremmo aver sottostimato il numero dei cani e gatti con infestazioni da emoparassiti.

4.1 Conclusione

Dal nostro studio è emerso che la probabilità di un cane di avere un coprologico positivo per endoparassiti in corso di eosinofilia è inferiore rispetto a malattie oncologiche, gastrointestinali ed infettive infiammatorie ed infiammatorie. Nel gatto, sebbene il basso numero di casi inclusi non ci permetta di giungere a conclusioni robuste, abbiamo riscontrato che la probabilità di avere un coprologico positivo in corso di eosinofilia è sovrapponibile alla malattia renale cronica. Tuttavia, nel cane il 25 % (2/5) e nel gatto il 50 % (2/4) degli animali positivi al coprologico per endoparassiti presentava eosinofilia all'esame emocromocitometrico. Possiamo suggerire che le co-morbilità che si associano all'eosinofilia sono molteplici; tuttavia, in circa la metà dei pazienti positivi per endoparassiti si potrebbe riscontrare eosinofilia all'esame emocromocitometrico.

In ogni caso, l'impostazione di trattamenti antiparassitari nei pazienti presentanti eosinofilia non è una pratica giustificata alla luce dei dati ricavati dallo studio. Sebbene l'eosinofilia possa associarsi a positività per gli endoparassiti sia nel cane e nel gatto, il vasto numero di malattie in grado di evocare questa alterazione clinico-patologica richiederebbe una più attenta valutazione dei pazienti, tenendo in considerazione tutti i dati clinici e anamnestici a disposizione che potrebbero indirizzare il clinico verso la causa più probabile dell'aumento degli eosinofili.

ALLEGATI

- ALLEGATO I

QUESTIONARIO PAZIENTI

nome e cognome _____

nome animale _____

il cane/gatto vive :

IN CASA	
FUORI CASA	
SIA DENTRO CHE FUORI CASA	

Il cane/gatto ha riportato recenti episodi di vomito ?

SI	
NO	

Se si indicativamente a quando risale ? _____

è soggetto a frequenti episodi di vomito ?

SI	
NO	

Se si ogni quanto si manifestano ? _____

il cane/gatto ha avuto episodi di diarrea ?

SI	
NO	

Se si indicativamente a quando risale ? _____

il cane/gatto è soggetto a frequenti episodi di diarrea ?

SI	
NO	

Se si ogni quanto si manifestano ? _____

il cane/gatto ha mangiato regolarmente e con appetito negli ultimi periodi ?

SI	
NO	

Se no, specificare quando _____

il cane/gatto è dimagrito nell'ultimo periodo ?

SI	
NO	

se sì, di quanto rispetto all'ultimo controllo ? _____

il cane/gatto ha manifestato episodi di tosse ?

SI	
NO	

Se sì, indicativamente a quando risalgono ? _____

SE HA AVUTO TOSSE ...

la tosse che ha manifestato è... (POSSIBILE RISPOSTA MULTIPLA)

SPORADICA (tossisce poche volte)	
CONTINUA (tosse costante)	
UN SINGOLO EPISODIO	
PRESENTE DA TANTO TEMPO	
MANIFESTATA NELL'ULTIMO PERIODO	

il cane/gatto manifesta sintomi di prurito ?

SI	
NO	

il prurito è tutt'ora presente ?

SI	
NO	

se non è più presente , quanto tempo fa si è manifestato ? _____

se sì, il prurito è/è stato ...

COSTANTE	
SPORADICO (ogni tanto)	
PRESENTE DA TANTO TEMPO	
MANIFESTATO NELL'ULTIMO PERIODO	

Applica al cane/gatto l'antiparassitario (possibile risposta multipla) ?

NO	
SI , pipette	
SI, pastiglie	

Se sì, indicare i tipi di antiparassitario fatti negli ultimi 6 mesi _____

Data dell'ultima applicazione _____

il cane/gatto fa profilassi per la filaria ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

con quale prodotto ? _____

Il cane fa profilassi per Leishmania ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

Con quale prodotto ? _____

Il cane è stato testato per Leishmania e filaria ?

SI PER ENTRAMBE	<input type="checkbox"/>
NO PER ENTRAMBE	<input type="checkbox"/>
NON LO SO	<input type="checkbox"/>
SOLO PER LEISHMANIA	<input type="checkbox"/>
SOLO PER FILARIA	<input type="checkbox"/>

Il gatto è stato testato per filaria ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

Il cane/gatto ha fatto esami delle feci recentemente ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

Il cane/gatto è stato sverminato di recente ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

Se sì, quanto tempo fa (circa) ? _____

Si ricorda il nome del farmaco utilizzato? Se sì, scriverlo _____

il cane/gatto è affetto da allergie ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

se è a conoscenza del tipo di allergia , indicarlo _____

il cane/gatto ha diagnosi di dermatite ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

Se il cane/gatto è affetto da patologie ? Se si , elencarle di seguito :

(girare foglio)

Il cane/gatto è in terapia costante con farmaci ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

Se sì, scrivere quali farmaci _____
Da quanto tempo li assume _____

Il cane/gatto ha assunto farmaci nelle ultime due settimane ?

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

Se sì, indicare quali _____

BIBLIOGRAFIA

1. Abbott, D. E. E., & Allen, A. L. (2020). Canine eosinophilic pulmonary granulomatosis: case report and literature review. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 32(2): 329–335.
2. Abboud, C.N., & Lichtman, M.A. (2006). Structure of the marrow and the hematopoietic microenvironment. In *Williams' Hematology*, 7th edition. McGraw-Hill, 29–59.
3. Adam R. D. (2021). *Giardia duodenalis*: Biology and Pathogenesis. *Clinical microbiology reviews*, 34(4): e0002419.
4. ADVIA 2120-2120i Operator's Guide, 2010
5. Allison, R., Williams, P., Lansdowne, J., Lappin, M., Jensen, T., & Lindsay, D. (2006). Fatal hepatic sarcocystosis in a puppy with eosinophilia and eosinophilic peritoneal effusion. *Veterinary clinical pathology*, 35(3): 353–357.
6. Altreuther, G., Gasda, N., Schroeder, I., Joachim, A., Settje, T., Schimmel, A., Hutchens, D., & Krieger, K. J. (2011). Efficacy of emodepside plus toltrazuril suspension (Procox® oral suspension for dogs) against prepatent and patent infection with *Isospora canis* and *Isospora ohioensis*-complex in dogs. *Parasitology research*, 109: 9–20.
7. Aroch, I., Arogeti, I., Marcovics, A., Spiegel, Y., & Lavy, E. (2017). In vitro lectin binding to the outer surface of *Spirocerca lupi* at different life-stages. *Veterinary parasitology*, 235: 94–99.
8. Bahnemann, R., & Bauer, C. (1994). Lungworm infection in a beagle colony: *Filaroides hirthei*, a common but not well-known companion. *Experimental and toxicologic pathology: official journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie*, 46(1): 55–62.
9. Bainton, D. F. (2005). Morphology of neutrophils, eosinophils, and basophils. In Lichtman, M. A., Beutler, E., Kipps, T.J., et al. (Eds.), *William's Hematology*. McGraw-Hill, 61: 831–854.
10. Barr, S. C., Lavelle, R. B., Harrigan, K. E., & Arundel, J. H. (1986). *Oslerus (Filaroides) osleri* in a dog. *Australian veterinary journal*, 63(10): 334–337.

11. Barrs, V. R., Beatty, J. A., McCandlish, I. A., & Kipar, A. (2002). Hypereosinophilic paraneoplastic syndrome in a cat with intestinal T cell lymphosarcoma. *The Journal of small animal practice*, 43(9): 401–405.
12. Barutzki, D., & Schaper, R. (2013). Age-dependant prevalence of endoparasites in young dogs and cats up to one year of age. *Parasitology research*, 112 Suppl 1:119–131.
13. Bauer, C., & Bahnemann, R. (1996). Control of *Filaroides hirthi* infections in Beagle dogs by ivermectin. *Veterinary parasitology*, 65(3-4): 269–273.
14. Bell, A. G., Chard, W. G., Grayson, J. L., & James, M. P. (1995). Eosinophilic papulocrustous dermatitis (miliary dermatitis) and eosinophilic inflammatory bowel disease in two cats. *New Zealand veterinary journal*, 43(4): 153–157.
15. Bendas, A. J. R., Alberigi, B., Galardo, S., Labarthe, N., & Mendes-de-Almeida, F. (2022). Clinical and blood count findings in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. *Brazilian journal of veterinary medicine*, 44: e001922
16. Berdnikovs, S. (2021). The twilight zone: plasticity and mixed ontogeny of neutrophil and eosinophil granulocyte subsets. *In Seminars in Immunopathology*, 43(3): 337–346.
17. Blanchard, C., Rothenberg, M.E. (2009). Biology of the eosinophil. *Advances in immunology*, 101: 81-121.
18. Bonilla-Aldana, D. K., Gutiérrez-Grajales, E. J., Osorio-Navia, D., Chacón-Peña, M., Trejos-Mendoza, A. E., Pérez-Vargas, S., Valencia-Mejía, L., Marín-Arboleda, L. F., Martínez-Hidalgo, J. P., Reina-Mora, M. A., González-Colonia, L. V., Cardona-Ospina, J. A., Jiménez-Posada, E. V., Diaz-Guio, D. A., Salazar, J. C., Sierra, M., Muñoz-Lara, F., Zambrano, L. I., Ramírez-Vallejo, E., Álvarez, J. C., ... Rodríguez-Morales, A. J. (2022). Haematological Alterations Associated with Selected Vector-Borne Infections and Exposure in Dogs from Pereira, Risaralda, Colombia. *Animals : an open access journal from MDPI*, 12(24): 3460.
19. Borjesson, D.L., Overmann, J.A. (2022). Stem Cell Biology. In Brooks, MB., Harr, KE., Seelig, DM., Wardrop, KJ., & Weiss, DJ. (Eds.), *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley Blackwell, 2:161–168.

20. Bourgès-Abella, N., Geffré, A., Concordet, D., Braun, J. P., & Trumel, C. (2011). Canine reference intervals for the Sysmex XT-2000iV hematology analyzer. *Veterinary clinical pathology*, *40*(3), 303–315.
21. Bouzid, M., Halai, K., Jeffreys, D., & Hunter, P. R. (2015). The prevalence of Giardia infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. *Veterinary parasitology*, *207*(3-4): 181–202.
22. Bowman, D. D., Frongillo, M. K., Johnson, R. C., Beck, K. A., Hornbuckle, W. E., & Blue, J. T. (1991). Evaluation of praziquantel for treatment of experimentally induced paragonimiasis in dogs and cats. *American journal of veterinary research*, *52*(1): 68–71.
23. Bowman, D. D., Montgomery, S. P., Zajac, A. M., Eberhard, M. L., & Kazacos, K. R. (2010). Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. *Trends in parasitology*, *26*(4), 162–167.
24. Buckley, L., & Nuttall, T. (2012). Feline eosinophilic granuloma complex(ities): some clinical clarification. *Journal of feline medicine and surgery*, *14*(7): 471–481.
25. Carr, B.D. (2010). The hematopoietic system. In Weiss, DJ, Wardrop, KJ., eds. *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley-Blackwell, 5: 27-31.
26. Carroll, S. M., & Grove, D. I. (1984). Parasitological, hematologic, and immunologic responses in acute and chronic infections of dogs with *Ancylostoma ceylanicum*: a model of human hookworm infection. *The Journal of infectious diseases*, *150*(2): 284–294.
27. Carroll, S. M., & Grove, D. I. (1986). Response of dogs to challenge with *Ancylostoma ceylanicum* during the tenure of a primary hookworm infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *80*(3): 406–411.
28. Cavalera, M. A., Iatta, R., Colella, V., Dantas-Torres, F., Corsaro, A., Brianti, E., & Otranto, D. (2018). *Troglostrongylus brevior*: a feline lungworm of paediatric concern. *Veterinary parasitology*, *253*: 8–11.
29. Cervone, M., Giannelli, A., Rosenberg, D., Perrucci, S., & Otranto, D. (2018). Filaroidosis Infection in an Immunocompetent Adult Dog from France. *Helminthologia*, *55*(1): 77–83.

30. Chapman, P. S., Boag, A. K., Guitian, J., & Boswood, A. (2004). Angiostrongylus vasorum infection in 23 dogs (1999-2002). *The Journal of small animal practice*, 45(9): 435–440.
31. Chusid M. J. (2018). Eosinophils: Friends or Foes?. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, 6(5), 1439–1444.
32. Cianferoni, A, & Spergel, J.M. (2015). Eosinophilic Esophagitis and Gastroenteritis. *Current Allergy and Asthma Reports*, 15(9): 58.
33. Clercx, C., & Peeters, D. (2007). Canine eosinophilic bronchopneumopathy. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 37(5): 917.
34. Clercx, C., Peeters, D., Snaps, F., Hansen, P., McEntee, K., Detilleux, J., Henroteaux, M., & Day, M. J. (2000). Eosinophilic bronchopneumopathy in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 14(3): 282–291.
35. Conrado, F. O., Kibler, L., Cesar, C., Piedra-Mora, C., & Taylor, T. G. (2023). Vulval apocrine adenocarcinoma with tumour-associated eosinophilia in a cat. *Journal of comparative pathology*, 205: 7–10. Advance online publication.
36. Crisi, P. E., Di Cesare, A., & Boari, A. (2018). Feline Troglostrongylosis: Current Epizootiology, Clinical Features, and Therapeutic Options. *Frontiers in veterinary science*, 5: 126.
37. Cury, M. C., Lima, W. S., Guimarães, M. P., & Carvalho, M. G. (2002). Hematological and coagulation profiles in dogs experimentally infected with Angiostrongylus vasorum (Baillet, 1866). *Veterinary parasitology*, 104(2): 139–149.
38. Decôme, M., & Blais, M. C. (2017). Prevalence and clinical features of hypoadrenocorticism in Great Pyrenees dogs in a referred population: 11 cases. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 58(10): 1093–1099.
39. Diakou, A., Morelli, S., Dimzas, D., Di Cesare, A., Capelli, G., Parrinello, C., Pollmeier, M., Schaper, R., & Traversa, D. (2019). Efficacy of a moxidectin/imidacloprid spot-on formulation (Advocate®) for the treatment of Troglostrongylus brevior in naturally infected cats in a field study in Greece. *Parasites & vectors*, 12(1): 519.
40. Dillon, A. R., Tillson, D. M., Hathcock, J., Brawner, B., Wooldridge, A., Cattley, R., Welles, B., Barney, S., Lee-Fowler, T., Botzman, L., Sermersheim, M., & Garbarino, R. (2013). Lung

histopathology, radiography, high-resolution computed tomography, and bronchio-alveolar lavage cytology are altered by *Toxocara cati* infection in cats and is independent of development of adult intestinal parasites. *Veterinary parasitology*, 193(4): 413–426.

41. Dracz, R. M., Mozzer, L. R., Fujiwara, R. T., & Lima, W.dosS. (2014). Parasitological and hematological aspects of co-infection with *Angiostrongylus vasorum* and *Ancylostoma caninum* in dogs. *Veterinary parasitology*, 200(1-2): 111–116.
42. Dubey J. P. (2018). A review of *Cystoisospora felis* and *C. rivolta*-induced coccidiosis in cats. *Veterinary parasitology*, 263: 34–48.
43. Dubey J. P. (2022). Endemic *Paragonimus kellicotti* infections in animals and humans in USA and Canada: Review and personal perspective. *Food and waterborne parasitology*, 30: e00184.
44. Dubey, J. P., & Lindsay, D. S. (2019). Coccidiosis in dogs-100 years of progress. *Veterinary parasitology*, 266: 34–55.
45. Elsheikha, H. M., Schnyder, M., Traversa, D., Di Cesare, A., Wright, I., & Lacher, D. W. (2016). Updates on feline aelurostrongylosis and research priorities for the next decade. *Parasites & vectors*, 9(1): 389.
46. Fahrion, A. S., Staebler, S., & Deplazes, P. (2008). Patent *Toxocara canis* infections in previously exposed and in helminth-free dogs after infection with low numbers of embryonated eggs. *Veterinary parasitology*, 152(1-2): 108–115.
47. Falcone, F. H., Loukas, A., Quinnell, R. J., & Pritchard, D. I. (2004). The innate allergenicity of helminth parasites. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 26(1): 61–72.
48. Ferdushy, T., & Hasan, M. T. (2010). *Angiostrongylus vasorum*: the 'French Heartworm'. *Parasitology research*, 107(4): 765–771.
49. Ferreira, R., Borges-Silva, W., de Jesus, R. F., & Gondim, L. F. P. (2019). Development of *Cystoisospora felis* in Cell Culture and in vitro Formation of Monozoic Tissue Cysts. *Frontiers in veterinary science*, 6: 361.
50. Ferriani, R., Mangiagalli, G., Meazzi, S., Pantoli, M., Barbè, F., Pastore, C., & Rossi, S. (2022). Haematological and biochemical reference intervals in healthy Ragdoll cats. *Journal of feline medicine and surgery*, 24(6): 98–108.

51. Friedrichs, K. R., Harr, K. E., Freeman, K. P., Szladovits, B., Walton, R. M., Barnhart, K. F., Blanco-Chavez, J., & American Society for Veterinary Clinical Pathology (2012). ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary clinical pathology*, 41(4): 441–453.
52. Genchi, M., Traldi, G., Genchi, C. (2010). Parte speciale endoparassiti. In *Manuale di Parassitologia Veterinaria*. Casa Editrice Ambrosiana, 2: 40-75
53. Giannelli, A., Brianti, E., Varcasia, A., Colella, V., Tamponi, C., Di Paola, G., Knaus, M., Halos, L., Beugnet, F., & Otranto, D. (2015). Efficacy of Broadline® spot-on against *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* lungworms in naturally infected cats from Italy. *Veterinary parasitology*, 209(3-4): 273–277.
54. Giannelli, A., Passantino, G., Ramos, R. A., Lo Presti, G., Lia, R. P., Brianti, E., Dantas-Torres, F., Papadopoulos, E., & Otranto, D. (2014). Pathological and histological findings associated with the feline lungworm *Troglostrongylus brevior*. *Veterinary parasitology*, 204(3-4): 416–419.
55. Goh, Y. P., Henderson, N. C., Heredia, J. E., Red Eagle, A., Odegaard, J. I., Lehwald, N., Nguyen, K. D., Sheppard, D., Mukundan, L., Locksley, R. M., & Chawla, A. (2013). Eosinophils secrete IL-4 to facilitate liver regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(24), 9914–9919.
56. Granat, F., Geffré, A., Bourgès-Abella, N., Mortier, J., Théron, M. L., Fauchon, E., Braun, J. P., & Trumel, C. (2014). Feline reference intervals for the Sysmex XT-2000iV and the ProCyte DX haematology analysers in EDTA and CTAD blood specimens. *Journal of feline medicine and surgery*, 16(6): 473–482.
57. Grandi, G., Calvi, L. E., Venco, L., Paratici, C., Genchi, C., Memmi, D., & Kramer, L. H. (2005). *Aelurostrongylus abstrusus* (cat lungworm) infection in five cats from Italy. *Veterinary parasitology*, 134(1-2): 177–182.
58. Grotheer, M., & Schulz, B. (2019). Felines Asthma und chronische Bronchitis – Übersicht zu Diagnostik und Therapie [Feline asthma and chronic bronchitis - an overview of diagnostics and therapy]. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere*, 47(3):175–187.

59. Grove, D. I., & Northern, C. (1982). Infection and immunity in dogs infected with a human strain of *Strongyloides stercoralis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76(6): 833–838.
60. Guardone, L., Schnyder, M., Macchioni, F., Deplazes, P., & Magi, M. (2013). Serological detection of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and specific antibodies in dogs from central and northern Italy. *Veterinary parasitology*, 192(1-3): 192–198.
61. Guija-de-Arespachoga, A., Kremer, L., Künzel, F., & Schwendenwein, I. (2022). Peripheral blood eosinophilia in dogs: Prevalence and associated diseases. *Veterinary medicine and science*, 8(4): 1458-1465.
62. Gurtner, A., Gonzalez-Perez, I., & Arnold, I. C. (2021). Intestinal eosinophils, homeostasis and response to bacterial intrusion. *Seminars in immunopathology*, 43(3): 295–306.
63. Gustafson B. W. (1995). Ivermectin in the treatment of *Physaloptera preputialis* in two cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 31(5): 416–418.
64. Hara, T., Miyajima, A. (1996). Function and signal transduction mediated by the interleukin 3 receptor system in hematopoiesis. *Stem Cells*, 14: 605–618
65. Harrus, S., Nyska, A., Colorni, A., & Markovics, A. (1997). Sudden death due to *Paragonimus kellicotti* infection in a dog. *Veterinary parasitology*, 71(1): 59–63.
66. Harvey, J. W. (2012a). Bone Marrow Examination. In *Veterinary Hematology, A Diagnostic Guide and Color Atlas*. Elsevier Saunders, 8: 242-251
67. Harvey, J. W. (2012b). Evaluation of Leukocytic Disorders. In *Veterinary Hematology, A Diagnostic Guide and Color Atlas*. Elsevier Saunders, 5: 122-151
68. Harvey, J. W. (2012c). Hematopoiesis. In *Veterinary Hematology, A Diagnostic Guide and Color Atlas*. Elsevier Saunders, 3: 33-43.
69. Harvey, J. W. (2012d). Hematology procedures. In *Veterinary Hematology , A Diagnostic Guide and Color Atlas*. Elsevier Saunders, 2: 17.
70. Harvey, J. W. (2012e). Tables. In *Veterinary Hematology , A Diagnostic Guide and Color Atlas*. Elsevier Saunders, Appendix: 329.

71. Hayden, D. W., & Kruiningen, H. J. (1975). Experimentally induced canine toxocariasis: laboratory examinations and pathologic changes, with emphasis on the gastrointestinal tract. *American journal of veterinary research*, 36(11): 1605–1614.
72. Hendrix, C. M., Blagburn, B. L., & Lindsay, D. S. (1987). Whipworms and intestinal threadworms. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 17(6):1355–1375.
73. Heredia, J. E., Mukundan, L., Chen, F. M., Mueller, A. A., Deo, R. C., Locksley, R. M., Rando, T. A., & Chawla, A. (2013). Type 2 innate signals stimulate fibro/adipogenic progenitors to facilitate muscle regeneration. *Cell*, 153(2): 376–388.
74. Hirano, H., Kizaki, T., Sashikata, T., & Matsumura, T. (2002). Pulmonary dirofilariasis--clinicopathological study. *The Kobe journal of medical sciences*: 48(3-4)
75. Hogan, S. P., Rosenberg, H. F., Moqbel, R., Phipps, S., Foster, P. S., Lacy, P., Kay, A. B., & Rothenberg, M. E. (2008). Eosinophils: biological properties and role in health and disease. Clinical and experimental allergy. *Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 38(5):709–750
76. Hotez, P. J., Bin, Z., Bethony, J., Jin, Q., Hawdon, J. M., Young, H. A., ... & Zook, B. C. (2002). Natural history of primary canine hookworm infections after three different oral doses of third-stage infective larvae of *Ancylostoma caninum*. *Comparative parasitology*, 69(1):72-80.
77. Houk, A. E., O'Connor, T., Pena, H. F., Gennari, S. M., Zajac, A. M., & Lindsay, D. S. (2013). Experimentally induced clinical *Cystoisospora canis* coccidiosis in dogs with prior natural patent *Cystoisospora ohioensis*-like or *C. canis* infections. *The Journal of parasitology*, 99(5): 892–895.
78. Huang, L., & Appleton, J. A. (2016). Eosinophils in Helminth Infection: Defenders and Dupes. *Trends in parasitology*, 32(10),798–807.
79. Iatta, R., Buonfrate, D., Paradies, P., Cavalera, M. A., Capogna, A., Iarussi, F., Šlapeta, J., Giorli, G., Trerotoli, P., Bisoffi, Z., & Otranto, D. (2019). Occurrence, diagnosis and follow-up of canine strongyloidosis in naturally infected shelter dogs. *Parasitology*, 146(2): 246–252.
80. Jackson, D. J., & Pavord, I. D. (2023). Living without eosinophils: evidence from mouse and man. *The European respiratory journal*, 61(1): 2201217.

81. James, F. E., & Mansfield, C. S. (2009). Clinical remission of idiopathic hypereosinophilic syndrome in a Rottweiler. *Australian veterinary journal*, *87*(8): 330–333.
82. Jenkins, D. J., & Rickard, M. D. (1984). Haematological and serological data from dogs raised worm-free and monospecifically infected with helminths. *Australian veterinary journal*, *61*(10): 309–311.
83. Jiménez, J. C., Fontaine, J., Grzych, J. M., Dei-Cas, E., & Capron, M. (2004). Systemic and mucosal responses to oral administration of excretory and secretory antigens from *Giardia intestinalis*. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, *11*(1): 152–160.
84. Johnson, L. R., Johnson, E. G., Hulsebosch, S. E., Dear, J. D., & Vernau, W. (2019). Eosinophilic bronchitis, eosinophilic granuloma, and eosinophilic bronchopneumopathy in 75 dogs (2006–2016). *Journal of veterinary internal medicine*, *33*(5): 2217–2226.
85. Kalkofen U. P. (1987). Hookworms of dogs and cats. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, *17*(6): 1341–1354.
86. Kiel, M. J., & Morrison, S. J. (2008). Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells. *In Nature Reviews Immunology*, *8*(4): 290–301.
87. Kim, H.J., Jung, Y. (2020). The Emerging Role of Eosinophils as Multifunctional Leukocytes in Health and Disease. *Immune network*, *20*(3), e24
88. Klion, A. D., & Nutman, T. B. (2004). The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *113*(1): 30–37.
89. Koch, J., & Willesen, J. L. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: an update. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, *179*(3): 348–359.
90. Kook P. H. (2021). Esophagitis in Cats and Dogs. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, *51*(1): 1–15.
91. Kottadamane, M. R., Dhaliwal, P. S., Singla, L. D., Bansal, B. K., & Uppal, S. K. (2017). Clinical and hematobiochemical response in canine monocytic ehrlichiosis seropositive dogs of Punjab. *Veterinary world*, *10*(2): 255–261.

92. Kuter, D.J., Bain, B., Mufti, G., Bagg, A., & Hasserjian, R.P. (2007). Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *British Journal of Haematology*, 351–362.
93. Lappin M. R. (2005). Enteric protozoal diseases. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, 35(1): 81.
94. Lavoué, R., Geffré, A., Braun, J. P., Peeters, D., Granat, F., Bourgès-Abella, N., & Trumel, C. (2014). Breed-specific hematologic reference intervals in healthy adult Dogues de Bordeaux. *Veterinary clinical pathology*, 43(3), 352–361.
95. Lawrence, J., Chang, Y. M., Szlodovits, B., Davison, L. J., & Garden, O. A. (2013). Breed-specific hematological phenotypes in the dog: a natural resource for the genetic dissection of hematological parameters in a mammalian species. *PloS one*, 8(11): e81288.
96. Lee, J. J., Jacobsen, E. A., McGarry, M. P., Schleimer, R. P., & Lee, N. A. (2010). Eosinophils in health and disease: The LIAR hypothesis. *In Clinical and Experimental Allergy*, 40(4), 563–575.
97. Liberato, C., Berrilli, F., Odorizi, L., Scarcella, R., Barni, M., Amoroso, C., Scarito, A., Filippo, M. M. D., Carvelli, A., Iacoponi, F., & Scaramozzino, P. (2018). Parasites in stray dogs from Italy: prevalence, risk factors and management concerns. *Acta parasitologica*, 63(1): 27–32.
98. Lilliehöök, I., & Tvedten, H. (2003). Investigation of hypereosinophilia and potential treatments. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, 33(6):1359
99. Lilliehöök, I., Gunnarsson, L., Zakrisson, G., & Tvedten, H. (2000). Diseases associated with pronounced eosinophilia: a study of 105 dogs in Sweden. *The Journal of small animal practice*, 41(6):248–253.
100. Lindsay, D. S., Dubey, J. P., & Blagburn, B. L. (1997). Biology of *Isospora* spp. from humans, nonhuman primates, and domestic animals. *Clinical microbiology reviews*, 10(1): 19–34.
101. Lloyd, S., Wijesundera, M. K., & Soulsby, E. J. (1991). Intestinal changes in puppies infected with *Toxocara canis*. *Journal of comparative pathology*, 105(1): 93–104.
102. Lorenz M. D. (1979). Atopy. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, 9(1):117–132.

103. Losco P. E. (1986). Local and peripheral eosinophilia in a dog with anaplastic mammary carcinoma. *Veterinary pathology*, 23(4): 536–538.
104. Lotfi, R., Lee, J. J., & Lotze, M. T. (2007). Eosinophilic granulocytes and damage-associated molecular pattern molecules (DAMPs): role in the inflammatory response within tumors. *Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md. : 1997)*, 30(1):16–28.
105. Loukas, A., & Prociv, P. (2001). Immune responses in hookworm infections. *Clinical microbiology reviews*, 14(4): 689-703.
106. Lukes S. (1985). Changes in the white blood picture during experimental larval ascariasis, toxocariasis and toxascariasis. *Folia parasitologica*, 32(3): 237–245.
107. Madden, V. R., & Schoeffler, G. L. (2016). Idiopathic hypereosinophilic syndrome resulting in distal aortic thromboembolism in a dog. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 26(6): 819–824.
108. Marchetti, V., Benetti, C., Citi, S., & Taccini, V. (2005). Paraneoplastic hypereosinophilia in a dog with intestinal T-cell lymphoma. *Veterinary clinical pathology*, 34(3): 259–263.
109. Masure, D., Vlaminck, J., Wang, T., Chiers, K., Van den Broeck, W., Vercruyse, J., & Geldhof, P. (2013). A role for eosinophils in the intestinal immunity against infective *Ascaris suum* larvae. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(3): e2138.
110. Mattei, F., Andreone, S., Marone, G., Gambardella, A. R., Loffredo, S., Varricchi, G., & Schiavoni, G. (2020). Eosinophils in the Tumor Microenvironment. *Advances in experimental medicine and biology*, 1273: 1–28.
111. McCourt, M.R., Rizzi T.E. (2022). Hematology of dogs. In Brooks, M.B., Harr, K.E., Seelig, D.M., Wardrop, K.J., & Weiss, D.J. (Eds.), *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley Blackwell, 108
112. McEwen, B. J. (1992). Eosinophils: A review. In *Veterinary Research Communications*, 16(1),11–44.
113. McEwen, S. A., Valli, V. E., & Hulland, T. J. (1985). Hypereosinophilic syndrome in cats: a report of three cases. *Canadian journal of comparative medicine: Revue canadienne de medecine comparee*, 49(3):248–253.

114. Mesnil, C., Raulier, S., Paulissen, G., Xiao, X., Birrell, M. A., Pirottin, D., Janss, T., Starkl, P., Ramery, E., Henket, M., Schleich, F. N., Radermecker, M., Thielemans, K., Gillet, L., Thiry, M., Belvisi, M. G., Louis, R., Desmet, C., Marichal, T., & Bureau, F. (2016). Lung-resident eosinophils represent a distinct regulatory eosinophil subset. *The Journal of clinical investigation*, *126*(9), 3279–3295
115. Miglio, A., Gavazza, A., Siepi, D., Bagaglia, F., Misia, A., & Antognoni, M. T. (2020). Hematological and Biochemical Reference Intervals for 5 Adult Hunting Dog Breeds Using a Blood Donor Database. *Animals : an open access journal from MDPI*, *10*(7):1212.
116. Miller A. D. (2020). Pathology of larvae and adults in dogs and cats. *Advances in parasitology*, *109*: 537–544.
117. Mishra, A., Hogan, S.P., Lee, J.J., Foster, P.S., & Rothenberg, M.E. (1999). Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract. *The Journal of clinical investigation*, *103*(12):1719–1727
118. Mitchell, S. M., Zajac, A. M., Charles, S., Duncan, R. B., & Lindsay, D. S. (2007). *Cystoisospora canis* Nemeséri, 1959 (syn. *Isospora canis*), infections in dogs: clinical signs, pathogenesis, and reproducible clinical disease in beagle dogs fed oocysts. *The Journal of parasitology*, *93*(2): 345–352.
119. Mitre, E., & Klion, A. D. (2021). Eosinophils and helminth infection: protective or pathogenic?. *Seminars in immunopathology*, *43*(3), 363–381.
120. Monis, P. T., & Thompson, R. C. (2003). *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction?. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, *3*(4): 233–244
121. Mora Carpio, A. L., & Meseha, M. (2023). *Strongyloides stercoralis* Infection. In StatPearls. StatPearls Publishing.
122. Moritz, A., Fickenscher, Y., Meyer, K., Failing, K., & Weiss, D. J. (2004). Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Veterinary clinical pathology*, *33*(1):32–38.

123. Morgan, E. R., Modry, D., Paredes-Esquivel, C., Foronda, P., & Traversa, D. (2021). Angiostrongylosis in Animals and Humans in Europe. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *10*(10): 1236.
124. Moskvina T. V. (2018). Current knowledge about *Aelurostrongylus abstrusus* biology and diagnostic. *Annals of parasitology*, *64*(1): 3–11.
125. Murnik, L. C., Dausgchies, A., & Delling, C. (2023). Gastrointestinal parasites in young dogs and risk factors associated with infection. *Parasitology research*, *122*(2): 585–596
126. Nielsen, L., Kjelgaard-Hansen, M., Jensen, A. L., & Kristensen, A. T. (2010). Breed-specific variation of hematologic and biochemical analytes in healthy adult Bernese Mountain dogs. *Veterinary clinical pathology*, *39*(1): 20–28.
127. Nilsson, S.K., & Simmons, P.J. (2004). Transplantable stem cells: home to specific niches. *Current Opinion in Hematology*, 102–106.
128. Nutman, T.B. (2007). Evaluation and differential diagnosis of marked, persistent eosinophilia. *Immunology and allergy clinics of North America*, *27*(3):529–549.
129. Outerbridge, C. A., & Taylor, S. M. (1998). Oslerus osleri tracheobronchitis: treatment with ivermectin in 4 dogs. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, *39*(4): 238–240.
130. Overgaauw P. A. (1997). Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. *Critical reviews in microbiology*, *23*(3): 233–251.
131. Page, W., Judd, J. A., & Bradbury, R. S. (2018). The Unique Life Cycle of *Strongyloides stercoralis* and Implications for Public Health Action. *Tropical medicine and infectious disease*, *3*(2): 53.
132. Paltrinieri, S., Ibba, F., & Rossi, G. (2014). Haematological and biochemical reference intervals of four feline breeds. *Journal of feline medicine and surgery*, *16*(2): 125–136.
133. Papini, R., Giuliani, G., Gorini, G., & Cardini, G. (2007). Survey of feline giardiasis by ELISA test in Italy. *Veterinary research communications*, *31*(3): 297–303.

134. Paradies, P., Iarussi, F., Sasanelli, M., Capogna, A., Lia, R. P., Zucca, D., Greco, B., Cantacessi, C., & Otranto, D. (2017). Occurrence of strongyloidiasis in privately owned and sheltered dogs: clinical presentation and treatment outcome. *Parasites & vectors*, *10*(1): 345.
135. Parsons J. C. (1987). Ascarid infections of cats and dogs. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, *17*(6): 1307–1339
136. Penagos-Tabares, F., Lange, M. K., Chaparro-Gutiérrez, J. J., Taubert, A., & Hermosilla, C. (2018). *Angiostrongylus vasorum* and *Aelurostrongylus abstrusus*: Neglected and underestimated parasites in South America. *Parasites & vectors*, *11*(1): 208.
137. Peterson, M. E., Greco, D. S., & Orth, D. N. (1989). Primary hypoadrenocorticism in ten cats. *Journal of veterinary internal medicine*, *3*(2): 55–58
138. Petry, G., Kruedewagen, E., Kampkoetter, A., & Krieger, K. (2011). Efficacy of emodepside/toltrazuril suspension (Procox® oral suspension for dogs) against mixed experimental *Isospora felis*/*Isospora rivolta* infection in cats. *Parasitology research*, *109* Suppl 1: S29–S36.
139. Powell, N., Walker, M. M., & Talley, N. J. (2010). Gastrointestinal eosinophils in health, disease and functional disorders. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, *7*(3):146–156.
140. Rao, S. P., Ge, X. N., & Sriramarao, P. (2017). Regulation of Eosinophil Recruitment and Activation by Galectins in Allergic Asthma. *Frontiers in medicine*, *4*: 68.
141. Ravin, K. A., & Loy, M. (2016). The Eosinophil in Infection. *Clinical reviews in allergy & immunology*, *50*(2): 214–227.
142. Riggio, F., Mannella, R., Ariti, G., & Perrucci, S. (2013). Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. *Veterinary parasitology*, *193*(1-3): 78–84.
143. Rørtveit, R., Saevik, B. K., Eggertsdóttir, A. V., Skancke, E., Lingaas, F., Thoresen, S. I., & Jansen, J. H. (2015). Age-related changes in hematologic and serum biochemical variables in dogs aged 16-60 days. *Veterinary clinical pathology*, *44*(1): 47–57.
144. Rosa, L. A., Gomes, M. A., Mundim, A. V., Mundim, M. J., Pozzer, E. L., Faria, E. S., Viana, J. C., & Cury, M. C. (2007). Infection of dogs by experimental inoculation with human isolates of

- Giardia duodenalis*: clinical and laboratory manifestations. *Veterinary parasitology*, 145(1-2): 37–44.
145. Rosenberg, H. F., & Domachowske, J. B. (2001). Eosinophils, eosinophil ribonucleases, and their role in host defense against respiratory virus pathogens. *Journal of leukocyte biology*, 70(5): 691–698.
146. Rostami, A., Riahi, S. M., Hofmann, A., Ma, G., Wang, T., Behniafar, H., Taghipour, A., Fakhri, Y., Spotin, A., Chang, B. C. H., Macpherson, C. N. L., Hotez, P. J., & Gasser, R. B. (2020). Global prevalence of *Toxocara* infection in dogs. *Advances in parasitology*, 109: 561–583.
147. Rothenberg M.E. (1998). Eosinophilia. *The New England Journal of Medicine*, 1592–1600.
148. Rothenberg, M. E., & Hogan, S. P. (2006). The eosinophil. *Annual review of immunology*, 24:147–174.
149. Sage, P.T., & Carman, C.V. (2009). Settings and mechanisms for trans-cellular diapedesis. *Frontiers in Bioscience*, 14(13): 5066–5083.
150. Sasanelli, M., Paradies, P., Otranto, D., Lia, R. P., & de Caprariis, D. (2008). Haemothorax associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog. *The Journal of small animal practice*, 49(8): 417–420.
151. Sattasathuchana, P., & Steiner, J. M. (2014). Canine eosinophilic gastrointestinal disorders. *Animal health research reviews*, 15(1), 76–86.
152. Schaefer, D.M.W, (2022). Hematology of cats. In Brooks, M.B., Harr, K.E., Seelig, D.M., Wardrop, K.J., & Weiss, D.J. (Eds.), *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley Blackwell, 109.
153. Schnieder, T., Laabs, E. M., & Welz, C. (2011). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Veterinary parasitology*, 175(3-4): 193–206.
154. Schnyder, M., Di Cesare, A., Basso, W., Guscetti, F., Riond, B., Glaus, T., Crisi, P., & Deplazes, P. (2014). Clinical, laboratory and pathological findings in cats experimentally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*. *Parasitology research*, 113(4): 1425–1433.
155. Scorza, A. V., Tyrrell, P., Wennogle, S., Chandrashekar, R., & Lappin, M. R. (2021). Experimental infection of cats with *Cystoisospora felis*. *Journal of veterinary internal medicine*, 35(1): 269–272.

156. Sellon, R. K., Rottman, J. B., Jordan, H. L., Wells, M. R., Simpson, R. M., Nelson, P., & Keene, B. W. (1992). Hypereosinophilia associated with transitional cell carcinoma in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(4): 591–593.
157. Shaw, D. H., Conboy, G. A., Hogan, P. M., & Horney, B. S. (1996). Eosinophilic bronchitis caused by *Crenosoma vulpis* infection in dogs. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 37(6): 361–363.
158. Shaw, D. H., Conboy, G. A., Hogan, P. M., & Horney, B. S. (1996). Eosinophilic bronchitis caused by *Crenosoma vulpis* infection in dogs. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 37(6): 361–363.
159. Shrestha, A., Abd-Elfattah, A., Freudenschuss, B., Hinney, B., Palmieri, N., Ruttkowski, B., & Joachim, A. (2015). *Cystoisospora suis* - A Model of Mammalian Cystoisosporosis. *Frontiers in veterinary science*, 2: 68
160. Simon, S. C. S., Utikal, J., & Umansky, V. (2019). Opposing roles of eosinophils in cancer. *Cancer immunology, immunotherapy* : CII, 68(5), 823–833.
161. Spada, E., Antognoni, M. T., Proverbio, D., Ferro, E., Mangili, V., & Miglio, A. (2015). Haematological and biochemical reference intervals in adult Maine Coon cat blood donors. *Journal of feline medicine and surgery*, 17(12): 1020–1027.
162. Spencer, A., Rushton, B., & Munro, H. (1985). *Filaroides hirthi* in a British bred beagle dog. *The Veterinary record*, 117(1): 8–10.
163. Spencer, L. A., Bonjour, K., Melo, R. C., & Weller, P. F. (2014). Eosinophil secretion of granule-derived cytokines. *Frontiers in immunology*, 5:496.
164. Stacy, N.I., Harvey, J.W. (2022). Structure of the Bone Marrow. In Brooks, MB., Harr, KE., Seelig, DM., Wardrop, KJ., & Weiss, DJ. (Eds.), *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley Blackwell, 3:178–197.
165. Sykes, J. E., Dubey, J. P., Lindsay, L. L., Prato, P., Lappin, M. R., Guo, L. T., Mizisin, A. P., & Shelton, G. D. (2011). Severe myositis associated with *Sarcocystis* spp. infection in 2 dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 25(6): 1277–1283.

166. Szwabe, K., & Blaszkowska, J. (2017). Stray dogs and cats as potential sources of soil contamination with zoonotic parasites. *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM*, 24(1): 39–43.
167. Tamponi, C., Knoll, S., Tosciri, G., Salis, F., Dessì, G., Cappai, M. G., Varcasia, A., & Scala, A. (2020). Environmental Contamination by Dog Feces in Touristic Areas of Italy: Parasitological Aspects and Zoonotic Hazards. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 103(3), 1143–1149.
168. Tamponi, C., Varcasia, A., Brianti, E., Pipia, A. P., Frau, V., Pinna Parpaglia, M. L., Sanna, G., Garippa, G., Otranto, D., & Scala, A. (2014). *New insights on metastrongyloid lungworms infecting cats of Sardinia, Italy. Veterinary parasitology*, 203(1-2): 222–226.
169. Tamponi, C., Varcasia, A., Pinna, S., Melis, E., Melosu, V., Zidda, A., Sanna, G., Pipia, A. P., Zedda, M. T., Pau, S., Brianti, E., & Scala, A. (2017). Endoparasites detected in faecal samples from dogs and cats referred for routine clinical visit in Sardinia, Italy. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 10: 13–17.
170. Tangtrongsup, S., & Scorza, V. (2010). Update on the diagnosis and management of *Giardia* spp infections in dogs and cats. *Topics in companion animal medicine*, 25(3): 155–162.
171. Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L. (2016). Parassiti del cane e del gatto. In *Parassitologia e malattie parassitarie degli animali*, trad. it. Domenico Otranto, Edra, Milano, 2016.
172. Thamsborg, S. M., Ketzis, J., Horii, Y., & Matthews, J. B. (2017). *Strongyloides* spp. infections of veterinary importance. *Parasitology*, 144(3): 274–284.
173. Thongsahuan, S., Chethanond, U., Wasiksiri, S., Saechan, V., Thongtako, W., & Musikacharoen, T. (2020). Hematological profile of blood parasitic infected dogs in Southern Thailand. *Veterinary world*, 13(11): 2388–2394.
174. Tizard, I. (2018a). Immunity to Parasites. In *Veterinary Immunology*, 10th edition. Elsevier, St. Louis, 28:316-323
175. Tizard, I. (2018b). Mast Cell and Eosinophil-Mediated Hypersensitivity. In Tizard, I.: *Veterinary Immunology*, , 10th edition. Elsevier, St. Louis, 29:324-334.

176. Torgerson, P. R., McCarthy, G., & Donnelly, W. J. (1997). *Filaroides hirthi* verminous pneumonia in a West Highland white terrier bred in Ireland. *The Journal of small animal practice*, 38(5): 217–219.
177. Traversa D. (2011). Are we paying too much attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*?. *Parasites & vectors*, 4: 32.
178. Traversa, D., Lia, R. P., Iorio, R., Boari, A., Paradies, P., Capelli, G., Avolio, S., & Otranto, D. (2008). Diagnosis and risk factors of *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida) infection in cats from Italy. *Veterinary parasitology*, 153(1-2): 182–186.
179. Traversa D. (2012). Pet roundworms and hookworms: a continuing need for global worming. *Parasites & vectors*, 5: 91.
180. Traversa, D., Di Cesare, A., Milillo, P., Iorio, R., & Otranto, D. (2009). Infection by *Eucoleus aerophilus* in dogs and cats: is another extra-intestinal parasitic nematode of pets emerging in Italy?. *Research in veterinary science*, 87(2): 270–272.
181. Trzil J. E. (2020). Feline Asthma: Diagnostic and Treatment Update. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 50(2): 375–391.
182. Ueki, S., Melo, R. C., Ghiran, I., Spencer, L. A., Dvorak, A. M., & Weller, P. F. (2013). Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans. *Blood*, 121(11): 2074–2083.
183. Ueki, S., Tokunaga, T., Fujieda, S., Honda, K., Hirokawa, M., Spencer, L.A., Weller, P.F. (2016). Eosinophil ETosis and DNA traps: a new look at eosinophilic inflammation. *Current allergy and asthma reports*, 16(8): 54.
184. Unterer, S., Deplazes, P., Arnold, P., Flückiger, M., Reusch, C. E., & Glaus, T. M. (2002). Spontaneous *Crenosoma vulpis* infection in 10 dogs: laboratory, radiographic and endoscopic findings. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 144(4): 174–179.
185. van der Merwe, L. L., Kirberger, R. M., Clift, S., Williams, M., Keller, N., & Naidoo, V. (2008). *Spirocerca lupi* infection in the dog: a review. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 176(3): 294–309.

186. Vaughan, D. F., Clay Hodgkin, E., Hosgood, G. L., & Bernstein, J. A. (2010). Clinical and histopathological features of pemphigus foliaceus with and without eosinophilic infiltrates: a retrospective evaluation of 40 dogs. *Veterinary dermatology*, 21(2): 166–174.
187. Verocai, G. G., Schock, D. M., Lejeune, M., Warren, A. L., Duignan, P. J., & Kutz, S. J. (2013). *Oslerus osleri* (metastrongyloidea; filaroididae) in gray wolves (*Canis lupus*) from Banff National Park, Alberta, Canada. *Journal of wildlife diseases*, 49(2): 422–426.
188. Vivancos, V., González-Alvarez, I., Bermejo, M., & Gonzalez-Alvarez, M. (2018). Giardiasis: Characteristics, Pathogenesis and New Insights About Treatment. *Current topics in medicinal chemistry*, 18(15): 1287–1303.
189. Walsh G. M. (2001). Eosinophil granule proteins and their role in disease. *Current opinion in hematology*, 8(1): 28–33.
190. Weiss L. (1976). The hematopoietic microenvironment of the bone marrow: an ultrastructural study of the stroma in rats. *The Anatomical Record*, 161–184.
191. Weller, P. F., Lim, K., Wan, H. C., Dvorak, A. M., Wong, D. T., Cruikshank, W. W., Kornfeld, H., & Center, D. M. (1996). Role of the eosinophil in allergic reactions. *The European respiratory journal. Supplement*, 22: 109s–115s.
192. Weller, P.F., & Spencer, L.A. (2017). Functions of tissue-resident eosinophils. *Nature reviews. Immunology*, 17(12): 746–760
193. Willesen, J. L., Jensen, A. L., Kristensen, A. T., & Koch, J. (2009). Haematological and biochemical changes in dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* before and after treatment. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 180(1): 106–111.
194. Williams, J. H., Köster, L. S., Naidoo, V., Odendaal, L., Van Veenhuysen, A., de Wit, M., & van Wilpe, E. (2008). Review of idiopathic eosinophilic meningitis in dogs and cats, with a detailed description of two recent cases in dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*, 79(4): 194–204.
195. Williams, T. J. (2004). The eosinophil enigma. *The Journal of clinical investigation*, 113(4):507–509

196. Wu, D., Molofsky, A. B., Liang, H. E., Ricardo-Gonzalez, R. R., Jouihan, H. A., Bando, J. K., Chawla, A., & Locksley, R. M. (2011). Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science (New York, N.Y.)*, 332(6026): 243–247.
197. Yang, D., Chen, Q., Su, S. B., Zhang, P., Kurosaka, K., Caspi, R. R., Michalek, S. M., Rosenberg, H. F., Zhang, N., Oppenheim, J. J., (2008). Eosinophil-derived neurotoxin acts as an alarmin to activate the TLR2-MyD88 signal pathway in dendritic cells and enhances Th2 immune responses. *Journal of Experimental Medicine*, 205(1): 79–90.
198. Ye, Y., Liang, Y., Hu, J., Huang, Z., & Zhang, Y. (2018). First isolation of *Sarcocystis caninum* sarcocysts from two domestic dogs (*Canis familiaris*) from China. *Parasitology research*, 117(11): 3613–3618.
199. Young, K.M., & Layne, M.R. (2022). Eosinophils and their disorders. In Brooks, M.B., Harr, K.E., Seelig, D.M., Wardrop, K.J., & Weiss, D.J. (Eds.), *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley Blackwell, 46: 1123-1142.
200. Zanzani, S. A., Gazzonis, A. L., Scarpa, P., Berrilli, F., & Manfredi, M. T. (2014). Intestinal parasites of owned dogs and cats from metropolitan and micropolitan areas: prevalence, zoonotic risks, and pet owner awareness in northern Italy. *BioMed research international*, 2014: 696508.

SITOGRAFIA

Modello generale di emopoiesi:

https://amsacta.unibo.it/id/eprint/3437/31/30fisiopatologia_del_sistema_eritrocitario_II_ed_ebo_ok.pdf

Uovo di *Toxocara cati*

<https://wcv.m.usask.ca/learnaboutparasites/parasites/toxocara-cati.php>

