



PROGETTO PASPAR_GOAT

Parassiti e gestione sostenibile degli allevamenti caprini.
Attività di informazione e dimostrazione per le aziende
lombarde pascolive

RISULTATI DEL PROGETTO



Regione
Lombardia



Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Iniziativa realizzata nell'ambito del progetto PASPAR_GOAT, cofinanziato dall'operazione 1.2.01
“Progetti dimostrativi e azioni di informazione” del Programma di Sviluppo Rurale 2014 – 2020
della Regione Lombardia.

Responsabile del progetto è l'Università degli Studi di Milano - DIVAS



Il progetto

Il progetto PasPar_Goat si rivolge agli allevatori di capre da latte che fanno pascolo sul territorio lombardo. Si prefigge di fornire un contributo concreto alla sostenibilità dell'allevamento caprino attraverso una serie di azioni informative e dimostrative finalizzate al miglioramento della gestione sanitaria e della redditività.

Aree di interesse del progetto

- ✓ Il pascolo è un fattore di benessere per gli animali e le essenze vegetali presenti sulle aree pascolive forniscono ai formaggi caratteristiche organolettiche particolari.
- ✓ Tuttavia, come dimostrato da diversi studi, il pascolo è fonte anche di rischi sanitari, legati sia all'uso del pascolo da parte di animali allevati sia alla condivisione dello stesso con animali selvatici.



PASPAR_GOAT si prefigge di delineare le condizioni relative allo stato gestionale e sanitario degli allevamenti caprini che fanno pascolo valutandone il management aziendale e lo stato sanitario attraverso l'impiego di indicatori (di breeding, di riproduzione, sanitari, di biosicurezza) e di uno screening sanitario.

Focus del progetto sono principalmente le infezioni da nematodi gastrointestinali e da *Toxoplasma gondii*. Tali problematiche, infatti, più di altre minano le performance produttive e riproduttive dell'azienda e richiedono conoscenza dei fattori gestionali per poterle controllare efficacemente.

PASPAR_GOAT ha l'obiettivo fondamentale di fornire indicazioni gestionali e sanitarie funzionali alla sostenibilità e competitività delle aziende che allevano capre.



I RISULTATI

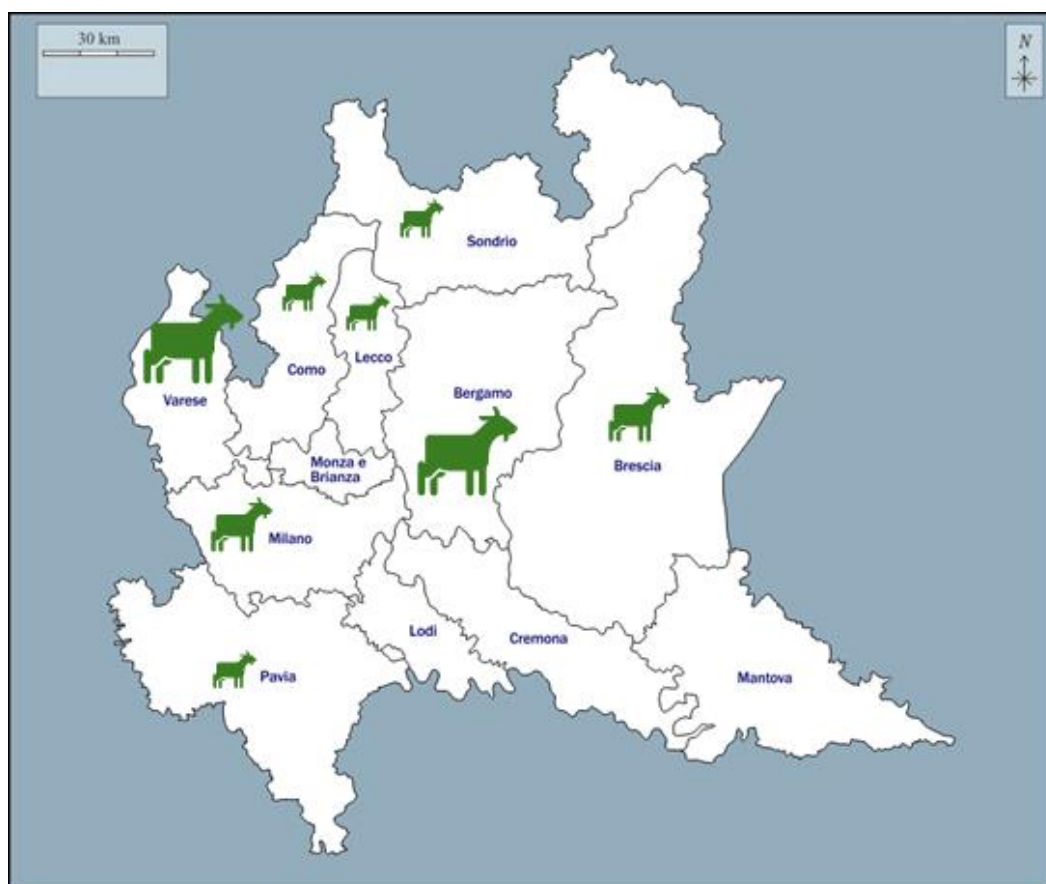
CAMPIONAMENTO

Sono state coinvolte nel progetto PasPar_Goat 26 aziende caprine.

Per le analisi parassitologiche, da ciascuna azienda sono stati raccolti 15 campioni di feci per un totale di 389 campioni. La raccolta dei 15 campioni è stata distribuita in relazione al ciclo dell'allevamento e temporale (cinque nei mesi primaverili, cinque nei mesi estivi e cinque in quelli autunnali). I cinque campioni erano rappresentativi dell'anzianità degli animali e della loro produzione, ognuno era rappresentativo dell'ordine di parto delle capre. Nello specifico i cinque campioni rappresentavano le capre di 1°, 2°, 3°, 4°, 5° parto o più parti. In realtà, ogni campione era un pool costituito dalle feci di cinque soggetti per ciascun ordine di parto.

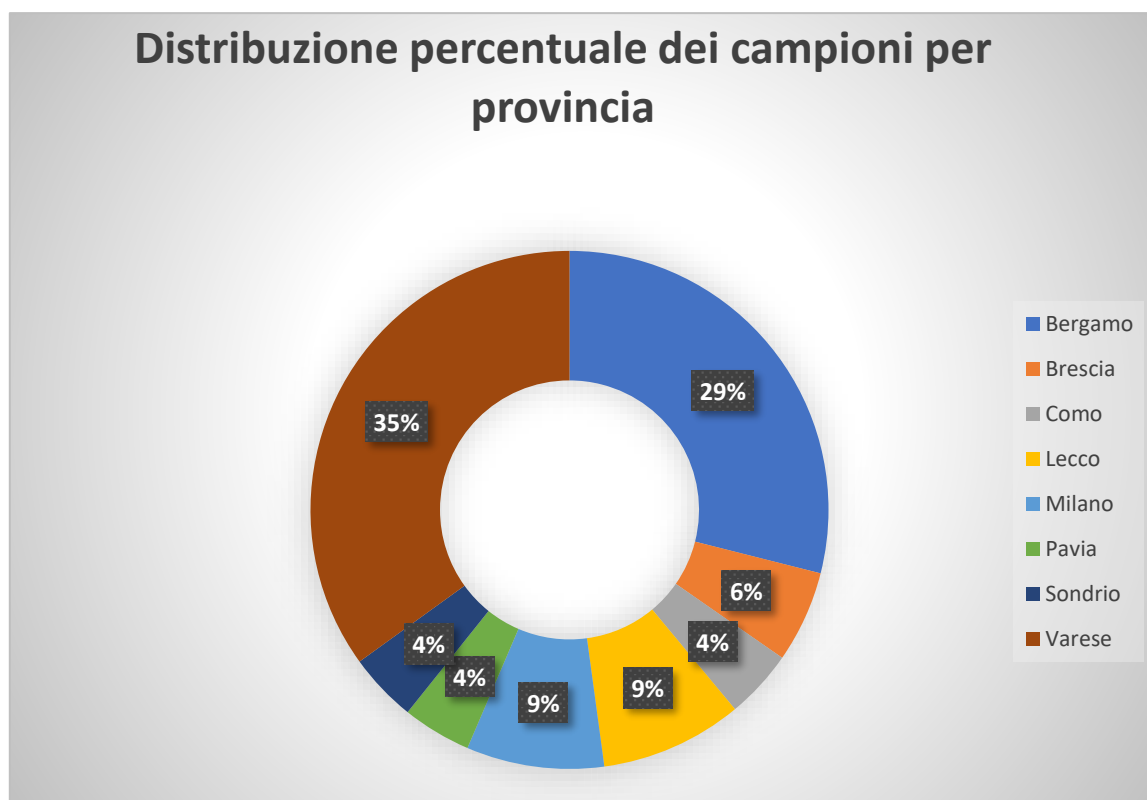
Sono stati inoltre raccolti tre campioni di latte per azienda per le analisi relative a *Toxoplasma* e paratubercolosi.

Le aziende campionate sono distribuite tra otto province lombarde e allevano differenti razze caprine; la maggior parte delle aziende allevano capre di razza Camosciata.

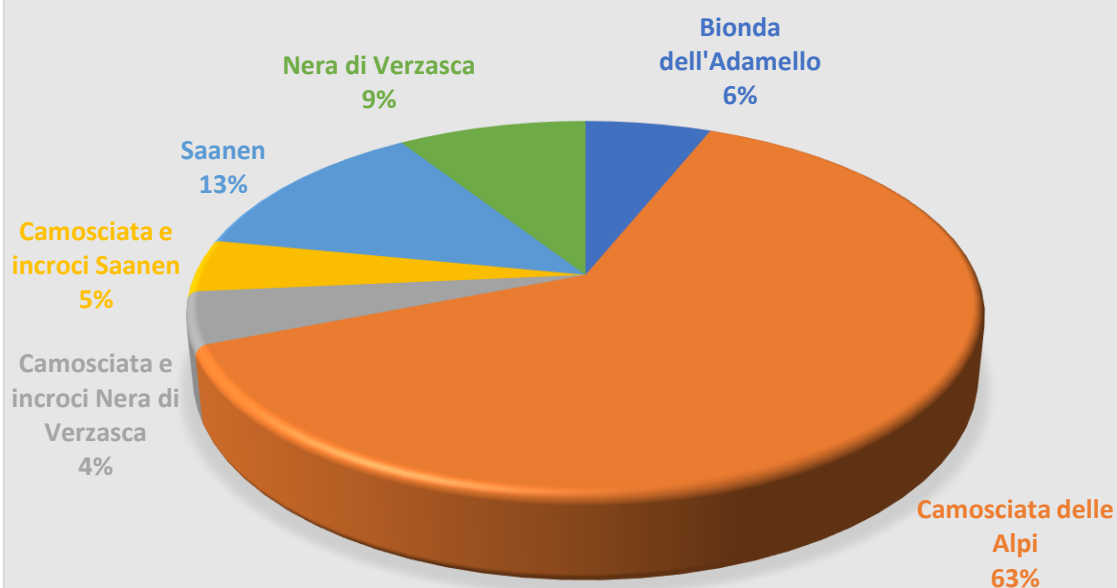


VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI PARASSITARIE.

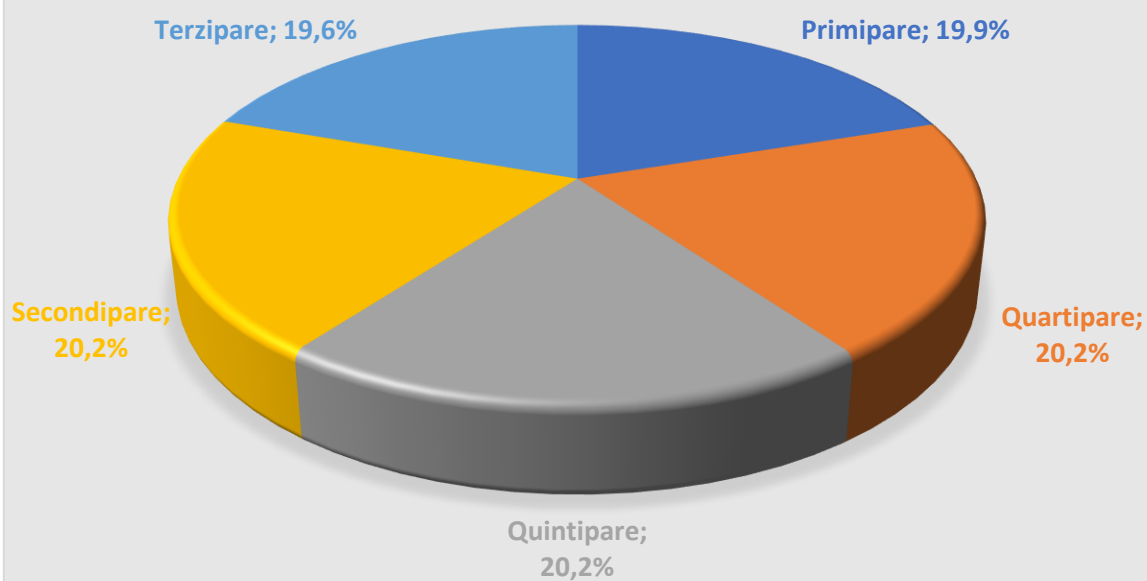
ANALISI PARASSITOLOGICHE SUI CAMPIONI FECALI- RISULTATI



Distribuzione percentuale dei campioni per razza



Distribuzione percentuale dei campioni in base all'ordine di parto



RISULTATI

I campioni fecali (pool) sono stati sottoposti a esame parassitologico quantitativo mediante metodica FLOTAC per la diagnosi di infezioni parassitarie sostenute da nematodi gastrointestinali e broncopolmonari, trematodi epatici, cestodi e protozoi intestinali.

La maggior parte dei pool analizzati (91,7%) sono risultati positivi per uova di Strongylida, il gruppo di parassiti che costituisce il focus del progetto.

Taxa parassitari	Pool positivi	%
Nematodi gastrointestinali		
Strongylida	290	91,7
<i>Marshallagia</i> sp.	9	2,7
<i>Strongyloides</i> sp.	39	12,3
<i>Nematodirus</i> sp.	2	0,6
<i>Skrjabinema</i> sp.	87	27,5
Trematodi epatici		
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	5	1,6
Nematodi broncopolmonari larve (L1)	54	17,1
Cestodi intestinali		
<i>Moniezia benedeni</i>	95	30,1
Protozoi intestinali		
<i>Eimeria</i> spp.	329	95,7

RISULTATI

Gli Strongylida, oltre a essere i più diffusi, risultano il taxon parassitario con la carica media più elevata rispetto agli altri e anche il valore massimo.

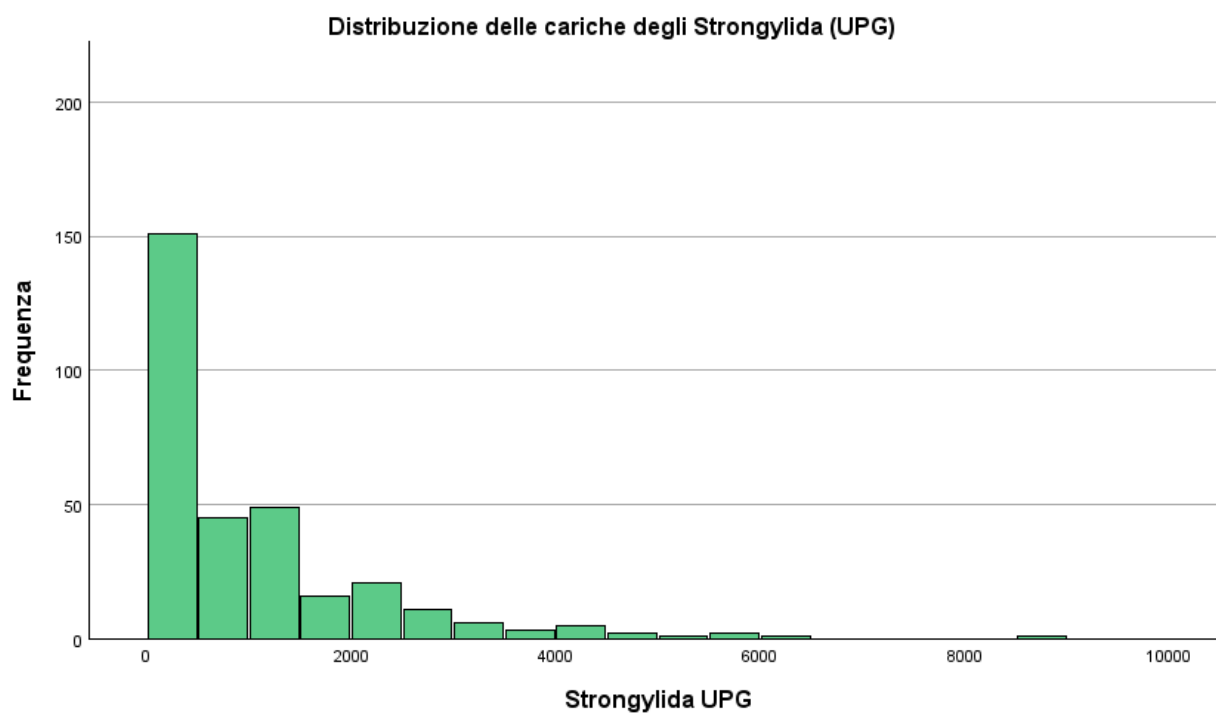
Cariche parassitarie complessive				
Taxa parassitari	Media	Deviazione std.	Min	Max
Strongylida (upg)	1007,77	1249,148	0	8744
<i>Strongyloides</i> sp. (upg)	2,41	21,810	0	376
<i>Marshallagia</i> sp. (upg)	0,41	2,979	0	34
<i>Nematodirus</i> spp. (upg)	0,05	0,636	0	8
<i>Dicrocoelium dendriticum</i> (upg)	0,05	0,501	0	8
Nematodi broncopolmonari larve (L1) (lpg)	2,16	7,771	0	80

Upg= uova per g di feci

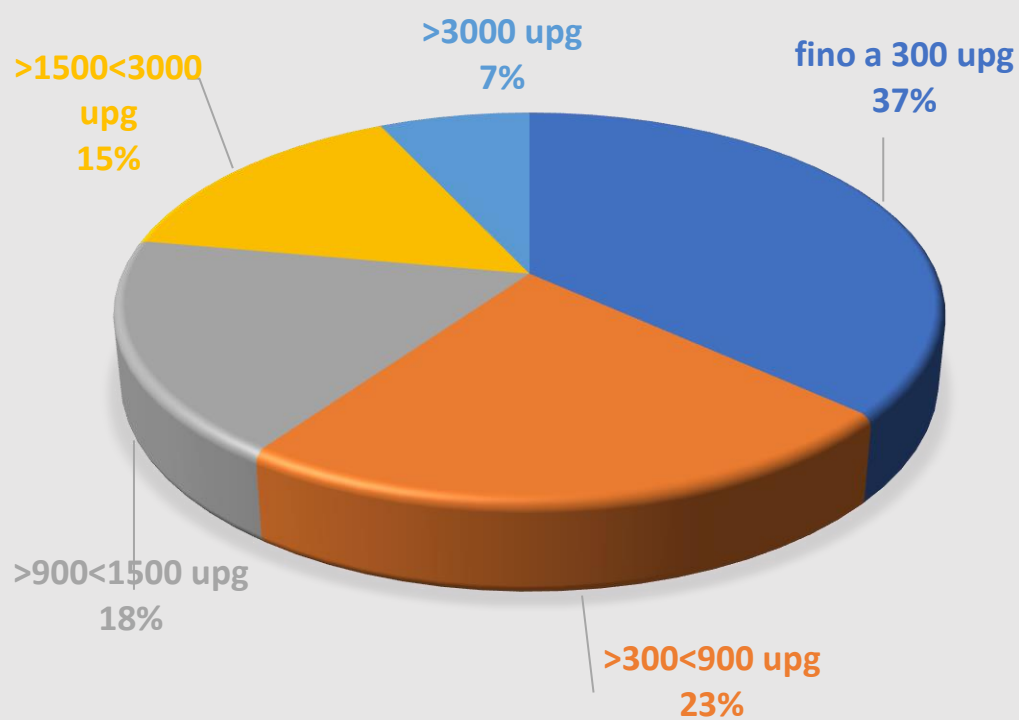
Lpg= larve per g di feci

RISULTATI

La distribuzione delle cariche degli Strongylida appare sovradispersa, tuttavia solo il 37% delle cariche è inferiore a 300 upg, valore che non viene ancora associato a un danno zootecnico.

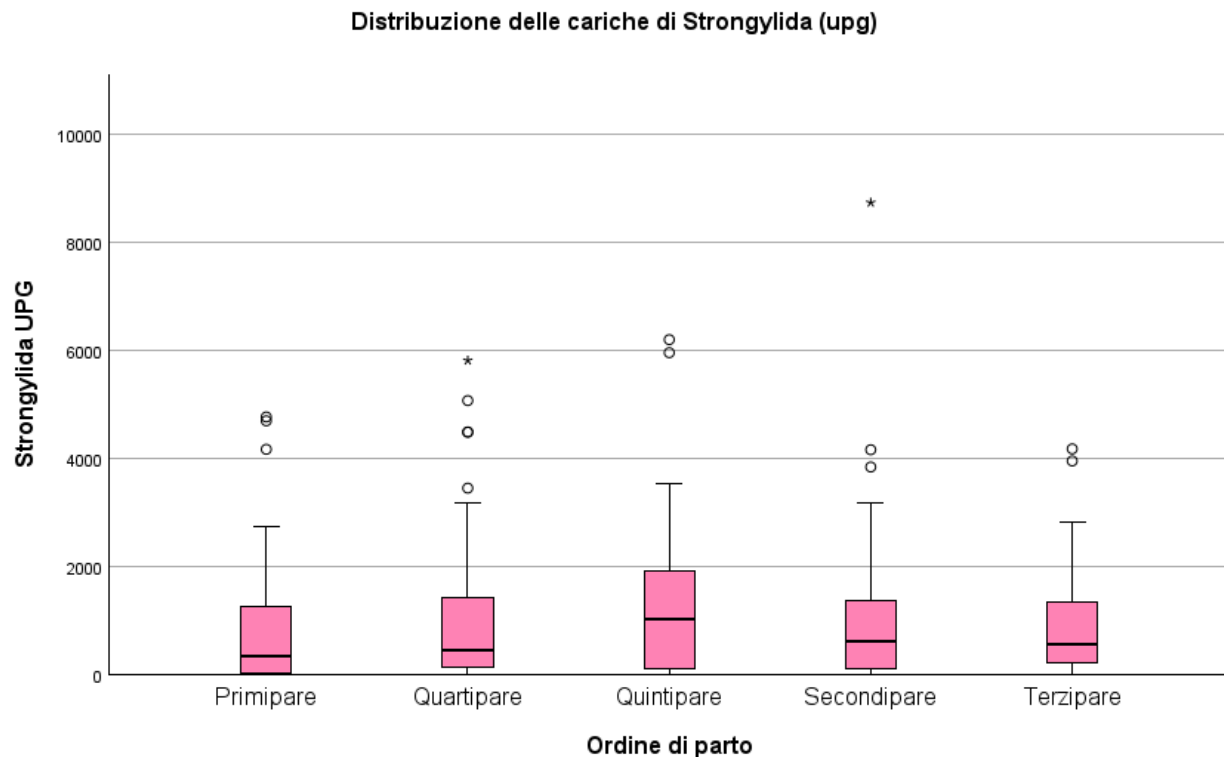


DISTRIBUZIONE DELLE CARICHE DI STRONGYLIDA



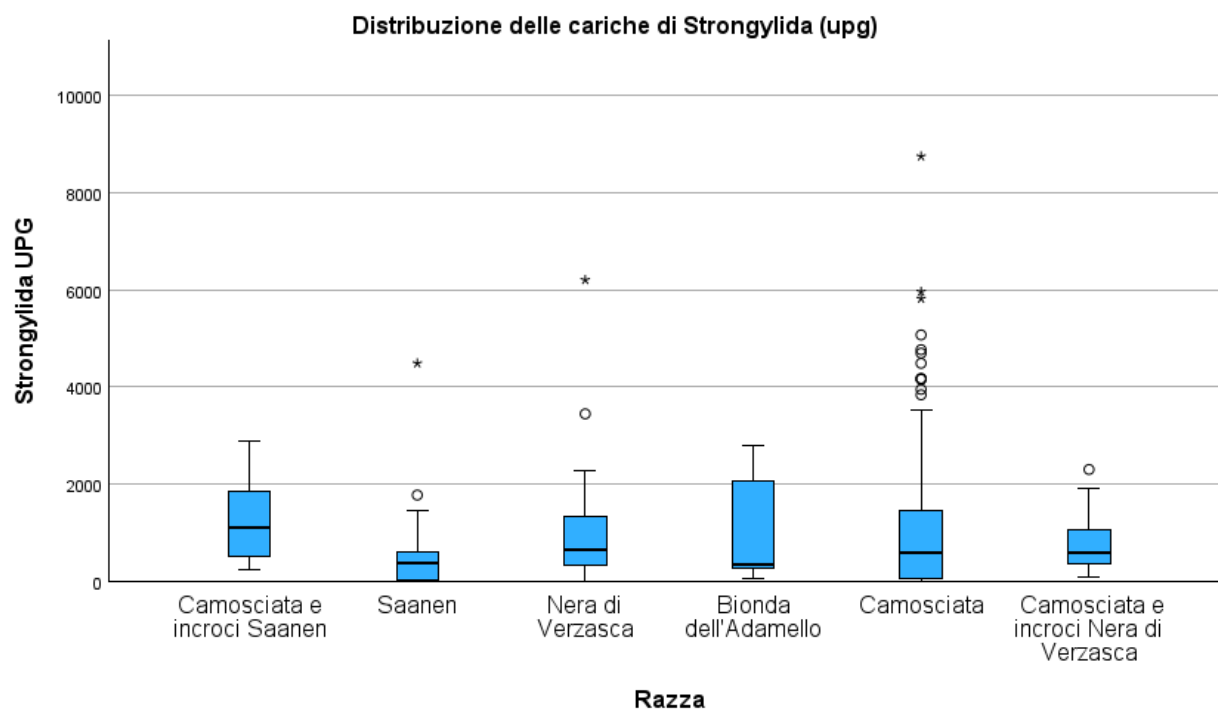
RISULTATI

La distribuzione delle cariche di Strongylida non risulta differente tra le capre considerando l'ordine di parto; tuttavia, dai confronti pairwise risulta una differenza solo tra le cariche delle primipare e delle quintipare (Test di Kruskal Wallis, p value = 0,007).



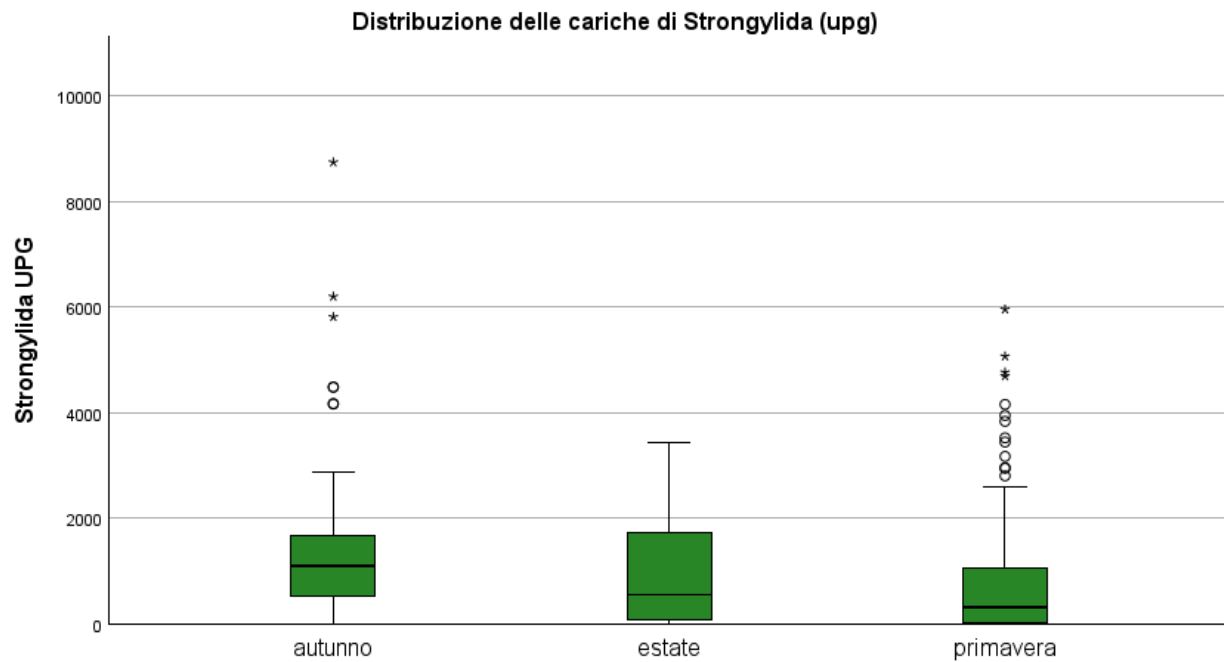
RISULTATI

La distribuzione delle cariche di Strongylida risulta differente tra le capre considerando la razza; tuttavia, dai confronti pairwise risulta una differenza solo tra le cariche delle primipare e delle quintipare (Test di Kruskal Wallis, p value = 0,027).



RISULTATI

La distribuzione delle cariche di Strongylida non risulta differente tra le capre considerando il periodo di campionamento (Test di Kruskal Wallis, p value < 0,001) e in particolare dai confronti pairwise risulta una differenza tra le cariche autunnali rispetto a quelle estive e primaverili.



CARATTERIZZAZIONE DELLA POPOLAZIONE DI NEMATODI GASTROINTESTINALI ATTRAVERSO L'ANALISI MORFOLOGICA E MOLECOLARE DELLE LARVE DI TERZO STADIO

Al fine di determinare più approfonditamente le specie di Strongylida circolanti negli allevamenti caprini lombardi e individuare la specie più patogena, quale *Haemonchus contortus*, i campioni fecali raccolti sono stati sottoposti anche a coltura al fine di ottenere le larve di terzo stadio (L3) che sono state identificate sulla base dell'analisi morfometrica e molecolare.

Per ciascuna azienda 10 larve (in tre aziende sono state analizzate 20 larve in quanto erano presenti due diverse razze caprine) raccolte dopo coltura mediante il metodo di Baermann, sono state sottoposte a studio morfometrico ottenendo dati riguardanti la lunghezza totale, la lunghezza della coda e la morfologia della estremità cefalica.

Una ulteriore aliquota di larve, dopo identificazione morfologica, è stata sottoposta a "*ex-sheathing*", ovvero alla rimozione della guaina protettiva che le riveste al fine di facilitare la successiva estrazione di DNA. Il DNA è stato purificato e quantificato ed è stata svolta una *Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) multiplex*, al fine di stabilire la frequenza sia degli alleli *wild type* che di quelli associati alla resistenza ai benzimidazolici per il codone 200 del gene β -tubulina (SNP F200Y).



L'analisi morfologica ha evidenziato che gli Strongylida che infettano le capre in Lombardia rientrano in otto taxa parassitari e *Haemonchus contortus* è quello più diffuso.

Taxon	%
<i>Haemonchus contortus</i>	32,25
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	17,09
<i>Trichostrongylus</i> spp.	19,67
<i>Cooperia</i> sp.	4,19
<i>Chabertia ovina</i>	1,61
<i>Oesophagostomum</i> spp.	25,16

La distribuzione qualitativa degli Strongylida appare differente se si considera la zona di provenienza delle aziende campionate. Allo scopo le aziende sono state riunite in tre gruppi: area 1 (aziende di Varese, Milano e Pavia), area 2 (aziende di Lecco, Como e Sondrio), area 3 (aziende di Bergamo e Brescia).

Taxon	Area 1	Area 2	Area 3
<i>Haemonchus contortus</i>	25%	31,7%	40%
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	20%	18,9%	10%
<i>Trichostrongylus</i> spp.	31,7%	12,2%	28,6%
<i>Cooperia</i> sp.	3,3%	6,1%	0%
<i>Chabertia ovina</i>	1,7%	1,7%	1,4%
<i>Oesophagostomum</i> spp.	18,3%	29,4%	20%

RISULTATI

Lo studio morfologico delle L3 ha evidenziato che alcune caratteristiche morfometriche si sovrappongono a quelle già descritte in letteratura, che, però, si riferiscono a quelle di larve estratte da feci ovine. Alcuni taxa si discostano dalle misurazioni precedentemente riportate, quindi è stato preparato un rapporto dettagliato delle caratteristiche morfometriche delle L3 dei caprini al fine di fornire uno strumento che possa implementare la diagnosi delle infezioni da Strongylida nella capra:

GENERE/SPECIE	DIMENSIONI CORPO (µm)	Sheated tail length (STE) (µm)	TIPOLOGIA CODA	FORMA TESTA	TIPOLOGIA CELLULE INTESTINALI
<i>Haemonchus contortus</i>	534,9 – 804,5 710 ^a 657 – 733 ^b 650 – 751 ^c	58 – 90,7 65 – 82 ^a 40 – 80 ^b 65 – 78 ^c	Media	Bullet shape head	16 cellule triangolari ^a
<i>Oesophagostomum</i> spp.	755,9 – 1022,5 850 ^a 796 – 940 ^b 771 – 923 ^c	110 – 219,2 122 – 207 ^a 130 – 170 ^b 125 – 160 ^c	Lunga	Rotonda o squadrata	18 – 22 cellule triangolari ^a
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	730,3 – 958,7 830 ^a 819 – 907 ^b 797 – 910 ^c	28,6 – 55,0 30 – 44 ^a 32 – 46 ^b 30 – 60 ^c	Corta	Squadrata con inflessione alla base dell'estremità craniale	16 cellule triangolari ^a
<i>Trichostrongylus</i> spp.	517,4 – 769,9 710 ^a 693 – 714 ^b 622 – 796 ^c	12,9 – 47,6 18 – 31 ^a 25 – 29 ^b 21 – 40 ^c	Corta	Rotonda	16 cellule triangolari ^a
<i>Cooperia</i> spp.	623,8 – 927,3 865 ^a 752 – 862 ^b 711 – 924 ^c	37,9 – 80,8 39 – 82 ^a 74 ^b 35 – 82 ^c	Media	Rotonda o squadrata con corpi rifrangenti	16 cellule triangolari ^a
<i>Chabertia ovina</i>	723,0 – 832,6 750 ^a 747 – 800 ^b 710 – 789 ^c	105,8 – 137,3 101 – 150 ^a 105 – 120 ^b 110 – 150 ^c	Lunga	Rotonda o squadrata	28 – 32 cellule rettangolari ^a

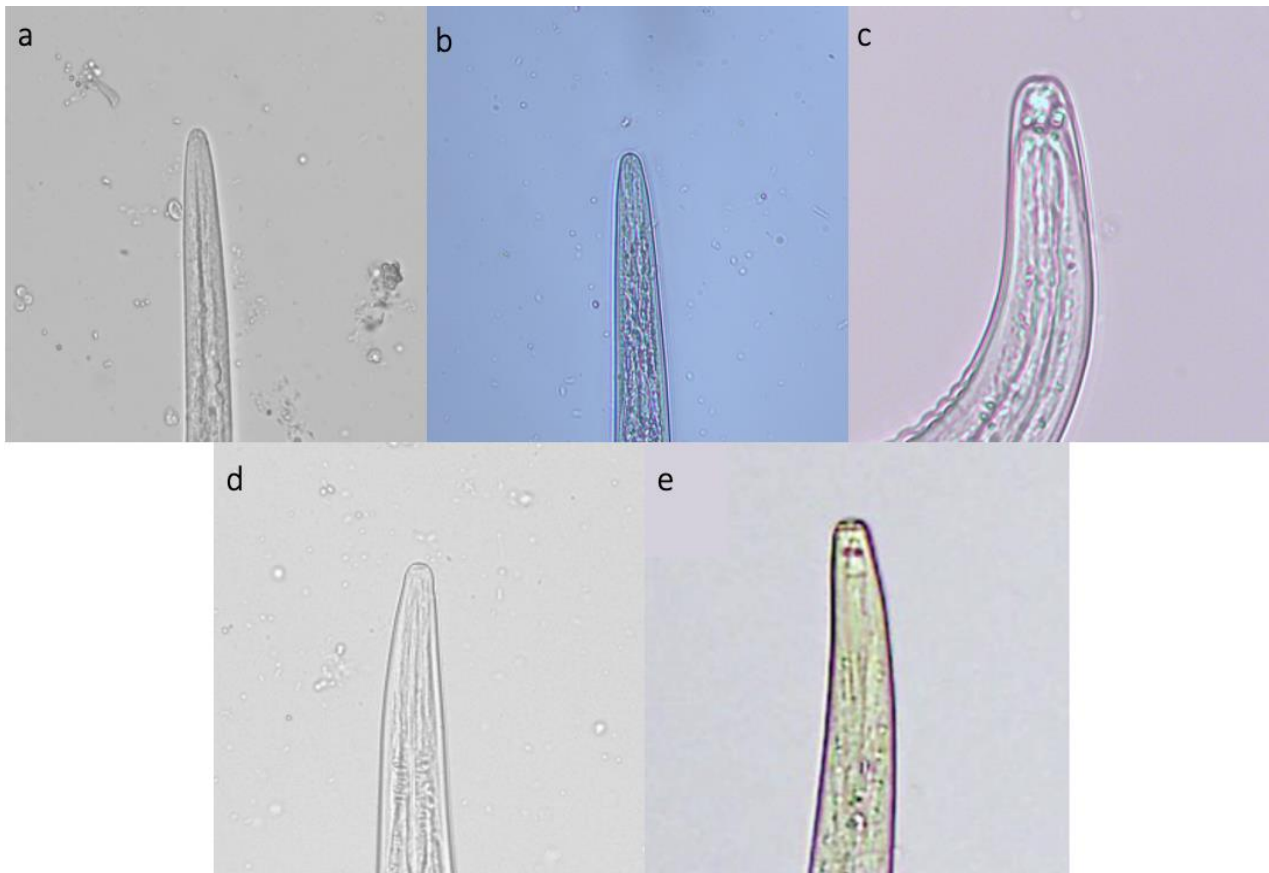
I valori senza apice sono quelli ottenuti nel corso della nostra indagine.

^a van Wyk JA, Mayhew W. *Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide*. Onderstepoort J Vet Res. (2013).

^b *Manuel de laboratoire: initiation a l'extraction et a la diagnos de larves infestantes de strongles a partir d'echantillons d'herbes*. I.N.R.A., Station de Pathologie Aviaire et de Parasitologie, laboratoire d'ecologie parasitaire C.R. de Tours-Nouzilly, Monnaie (2012).

^c Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. *Veterinary clinical parasitology*. 8th ed. New York: Wiley (2012).

Tipologie di estremità cefalica degli stadi larvali a) forma arrotondata (*Trichostrongylus* spp.); b) bullet shape head (*Haemonchus contortus*); c) forma quadrata (*Oesophagostomum* spp.); d) Inflessione tipica di *Teladorsagia*; e) Corpi riflettenti tipici di *Cooperia*.



RISULTATI

Le analisi molecolari delle larve sono state finalizzate alla verifica di fenomeni di antielmintico-resistenza presenti negli allevamenti campionati. Si è scelto di focalizzare le analisi sulle larve di *Haemonchus contortus* che, tra gli Strongylida, risulta una delle specie più suscettibili ad antielmintico-resistenza.

La RT-PCR ha rilevato la presenza della mutazione all'allele 200 in tutti gli allevamenti sottoposti allo *screening*, con un valore medio di frequenza pari al 17%. Questa metodica ha quindi fornito una indicazione della frequenza degli alleli di resistenza di *Haemonchus* ai benzimidazolici, ma non consente di determinare con precisione il numero di individui omozigoti ed eterozigoti presenti nella popolazione di parassiti

Negli *strain* suscettibili ai benzimidazolici, sono riportati *range* di frequenza di alleli resistenti compresi tra 24% e 32%, mentre questo valore aumenta considerevolmente negli *strain* resistenti, che possono presentare valori tra 71% e 86%.

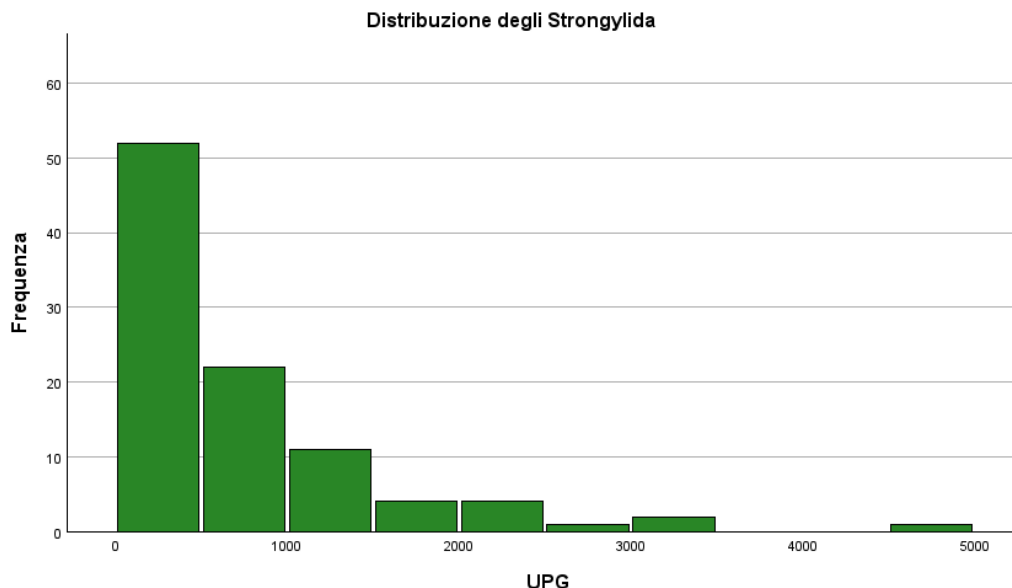
Campione	Freq (%) R (SNP F200Y)	Campione	Freq (%) R (SNP F200Y)
001	12	017	18
002	15	018	7
003	10	019	9
004	12	020	1
005	15	021	11
006	14	022	6
007	14	023	15
008	19	024	15
009	20	025	30
010	30	026	35
011	18	027	36
012	22	028	22
013	13	029	22
014	20	030	22
015	4	031	21
016	21		

DISTRIBUZIONE DELLA POPOLAZIONE DI NEMATODI GASTROINTESTINALI STRONGYLIDA IN GREGGI COSTITUITI DA RAZZE COSMOPOLITE ED AUTOCTONE

Il progetto PASPAR_GOAT aveva come ulteriore obiettivo quello di valutare se la razza fosse una variabile in grado di esercitare un'influenza sulle cariche di Strongylida. Per raggiungere tale obiettivo, una azienda caprina costituita da circa un centinaio di capi di razza Saanen e Nera di Verzasca è stata inclusa nel campionamento. In questo caso sono stati effettuati prelievi multipli di feci individuali che sono state analizzate sempre mediante esame copromicroscopico quantitativo con metodica FLOTAC.

Le due razze nel gregge in cui è stato svolto lo studio erano mantenute nelle stesse condizioni, tuttavia, il BCS medio per le Saanen era di 2,51 e quello delle Nera di Verzasca di 2,74.

La distribuzione delle cariche nel gregge ha presentato una ampia variabilità essendo i valori compresi tra 0 e 4920. I soggetti negativi erano capre primipare.

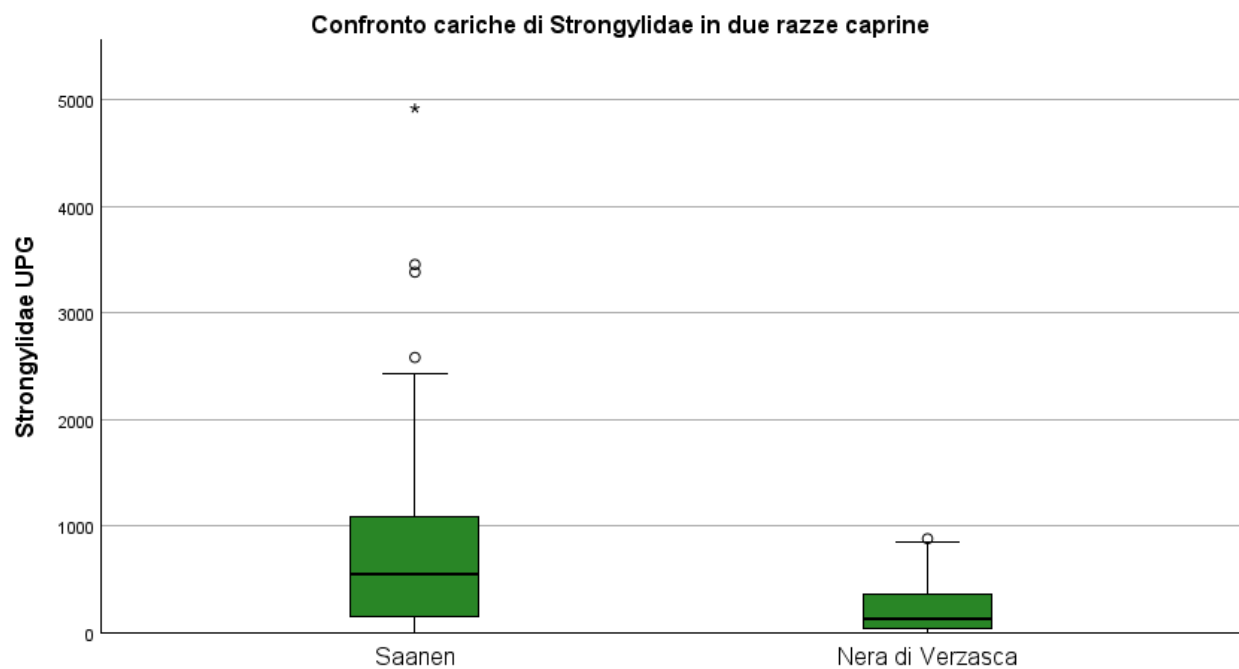


Andamento delle cariche di Strongylida nel gregge con due razze

	Strongylida UPG				
	Numero capi	Media	D. S.	Minimo	Massimo
Totale capre	97	709,71	880,008	0	4920
Saanen	84	880	929	0	4920
Nera di Verzasca	17	254	297	0	884

La distribuzione delle cariche di Strongylida risulta differente tra le capre in relazione alla razza (Test di Kruskal Wallis, p value = 0,016) e la Nera di Verzasca presenta cariche significativamente inferiori rispetto a quelle della razza cosmopolita.

La differenza riscontrata nelle due razze è di rilevante valore in quanto deriva da osservazioni condotte su animali posti alle stesse condizioni di allevamento.



Valutazione dello stato sanitario complessivo

Sono state condotte analisi su campioni di latte di massa per la ricerca di anticorpi nei confronti di *Toxoplasma gondii* e *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) mediante metodica ELISA. Il primo è un protozoo che nei piccoli ruminanti è tra le principali cause di problemi riproduttivi, in quanto può causare riassorbimento fetale, aborto o problemi di salute alla nascita.

Il MAP è invece responsabile della paratubercolosi (o malattia di Johne) che provoca enterite cronica nei ruminanti. I sintomi clinici tipici di questa patologia sono grave dimagrimento e diarrea acquosa profusa e si manifestano solitamente dopo i tre anni di età, anche se l'infezione avviene entro il primo anno di vita. Viene spesso sottovalutata perché il numero di casi clinici in un allevamento infetto è solitamente limitato rispetto al numero degli animali asintomatici.

Sono stati analizzati complessivamente 40 campioni di latte di massa e 25 sono risultati positivi per *Toxoplasma gondii*, mentre solo otto per MAP. Nel caso di più campioni di latte per lo stesso allevamento, il gregge è stato considerato positivo quando anche uno solo dei campioni di latte è risultato positivo.

Allo scopo di effettuare una valutazione complessiva delle condizioni sanitarie del gregge e di stilare un punteggio complessivo per ciascuna azienda, categorizzando il loro stato sanitario, sono stati confrontati i risultati di tre indicatori: la carica di Strongylida, la positività a *Toxoplasma gondii* e la positività MAP. Per poter calcolare il punteggio complessivo, è stato attribuito un punteggio specifico alla carica di Strongylida (0 = cariche <100, 1 = cariche >100<500, 2 = cariche >500<1000, 3 = cariche >1000<1500, 4 = cariche >1500).

Un solo allevamento ha riportato un punteggio elevato (5), essendo positivo sia a infezioni da Strongylida che ai due patogeni.

Valutazione dello stato sanitario complessivo delle aziende mediante assegnazione di un punteggio

Codice azienda	Strongylida		<i>Toxoplasma gondii</i>	MAP	Punteggio complessivo
	UPG medio	Punteggio carica			
1	3398	4	nd	nd	nd
2	1767	4	1	0	5
3	1161	3	nd	nd	nd
4	4	0	1	0	1
5	663	2	0	1	3
6	83	0	0	0	0
7	836	2	nd	nd	nd
8	1487	3	1	1	5
9	296	1	1	0	2
10	957	2	0	1	3
11	425	1	nd	nd	nd
12	50	0	1	0	1
13	1469	3	0	0	3
14	0	0	1	1	2
15	1078	3	1	0	4
16	775	2	1	0	3
17	1282	3	1	0	4
18	2162	4	0	1	5
19	1133	3	1	0	4
20	1002	2	0	0	2
21	586	2	0	1	3
22	1119	3	1	0	4
23	932	2	0	0	2

- Gli endoparassiti e in particolare le infezioni da nematodi gastrointestinali nella capra da latte costituiscono una problematica sanitaria che interessa quasi la totalità degli allevamenti osservati.
- La gestione attuale appare non ottimale e l'elevata presenza di infezioni sostenute da *Haemonchus contortus* enfatizza la necessità di un miglioramento ricercando l'integrazione di diversi approcci come l'allevamento misto di razze cosmopolite e di razze autoctone.
- Non trascurabile è anche la circolazione di *Toxoplasma gondii* e MAP, che suggerisce la necessità di rafforzare le misure di biosicurezza generali che potrebbero avere un impatto sullo stato sanitario complessivo dell'allevamento.





I risultati qui esposti sono stati raggiunti principalmente grazie alla disponibilità delle aziende e anche alla preziosa collaborazione di numerosi tecnici: Dott. Giorgio Zanatta, Dott. Mario Villa, Dott. Simone Fasana, Dott. Giovanni Bailo, Dott Stefano Giovenzana.



A cura di:

Maria Teresa Manfredi

mariateresa.manfredi@unimi.it

<https://paspar-goat.unimi.it/>

Dipartimento di Medicina Veterinaria Scienze Animali,
DIVAS

Università degli Studi di Milano

Laboratorio di Ricerca di Malattie Parassitarie degli
Animali e Zoonosi, (ParVetLab)