

DESCRIZIONE MORFOLOGICA DI THELAZIA CALLIPAEDA, CAUSA DI INFESTAZIONE OCULARE DEI CANI IN BASILICATA

DOMENICO OTRANTO - RICCARDO LIA - NICOLA LEONE - DONATO DE CAPRARIIS

Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali - Facoltà di Medicina Veterinaria di Bari

MICHELE GARAGUSO

Libero Professionista, Pietrapertosa (PZ)

SALVATORE GIANNETTO

Sezione di Parassitologia e Malattie Parassitarie - Facoltà di Medicina Veterinaria di Messina

Riassunto

Thelazia callipaeda (Spirurida, Thelaziidae) è un nematode molto comune in Cina e in altri Paesi dell'Est asiatico, nei quali è responsabile di infezioni oculari in alcuni carnivori e nell'uomo. Negli ultimi quindici anni *T. callipaeda* è stata segnalata nel Nord e nel Sud dell'Italia nel cane, nel gatto e nella volpe. La limitata conoscenza delle caratteristiche morfologiche del parassita è soprattutto legata al fatto che le fonti descrittive sono principalmente in lingua cinese o russa.

Nel presente lavoro vengono descritte le caratteristiche morfologiche più importanti del nematode sulla base di osservazioni effettuate mediante microscopia ottica e elettronica a scansione su 83 nematodi prelevati dagli occhi di cani con infezione naturale, provenienti dalla Basilicata. Vengono discussi gli elementi morfologici differenziali tra *T. callipaeda* e *Thelazia californiensis* ed alcune caratteristiche biologiche dei parassiti.

Summary

Thelazia callipaeda (Spirurida, Thelaziidae) is very common in China and in the Far East where it causes eyeworm infection in carnivores and humans. In the past fifteen years it was reported in dog, cats and foxes from northern and southern Italy. Its morphology is poorly known due to the fact that the majority of the descriptive papers are in Chinese or in Russian language.

Eighty-three nematodes collected from the eyes of naturally infested dogs from Basilicata region, Italy, have been examined by light and scanning electron microscopy and their most important features have been described. The morphological characters for differentiation of *T. callipaeda* from *Thelazia californiensis* and some of their biological features are discussed.

INTRODUZIONE

Fra le numerose specie di *Thelazia* responsabili di infezioni oculari negli animali, *Thelazia callipaeda* (Railliet and Henry 1910) e *Thelazia californiensis* (Price 1930) infestano il cane, il gatto, la volpe, il coniglio e, nei paesi dell'Est asiatico, l'uomo.^{1,2}

I nematodi adulti vivono negli annessi oculari degli animali (al di sotto delle palpebre e della nittitante, nelle

ghiandole e nei dotti lacrimali) causando epifora, congiuntivite, scolo oculare, chemosi e, nei casi più gravi, ulcere corneali.

Le femmine producono nell'occhio dell'animale un gran numero di larve di primo stadio (L1) che vengono rilasciate nelle secrezioni lacrimali dell'ospite per poi essere ingerite da ditteri lambitori che di esse si alimentano.

Gli ospiti intermedi di *T. callipaeda* sono ancora poco noti sebbene sia ipotizzato il coinvolgimento di *Musca domestica* (famiglia Muscidae) e, sperimentalmente, di *Amiota variegata* (famiglia Drosophilidae). All'interno del vettore le larve L1 vanno incontro ad ulteriori fasi di sviluppo e mutano in larve di terzo stadio (L3), infettanti, che abban-

¹ "Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 21/4/2003 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 23/6/2003".

donano l'insetto quando esso si alimenta sulle secrezioni oculari dell'animale.^{3,4}

A differenza di *T. californiensis* che è confinata principalmente nelle regioni occidentali degli USA, *T. callipaeda* è stata segnalata nell'uomo e nel cane nei paesi della federazione Russa e in alcuni paesi dell'Est Asiatico come l'Indonesia, la Thailandia, la Cina, la Corea, la Birmania, l'India e il Giappone.^{5,6,7,8,9,10}

In Europa *T. callipaeda* è stata segnalata solo in Italia, nel cane e nel gatto rispettivamente in Piemonte e in Lombardia, e, successivamente, nel cane in Basilicata.^{11,12,13} In quest'ultima regione la prevalenza di cani infetti è risultata particolarmente elevata (187 positivi su 457 esaminati, 40,9%).¹⁴

Le conoscenze circa la morfologia, il ciclo biologico e l'epidemiologia di *T. callipaeda*, sono alquanto frammentarie soprattutto a causa del fatto che gran parte delle pubblicazioni sono in lingua cinese o russa.^{3,15}

Fatta eccezione per la descrizione morfologica generale di Soulsby (1982) e di Skrjabin *et al.* (1967), alcuni dati morfologici sono stati riportati da Bhaibulaya *et al.* (1970), Hong *et al.* (1988) e da Rossi e Bertaglia (1989).^{5,6,7,8,11} Riguardo il ciclo biologico, non è stato ancora chiarito se *T. callipaeda* sia specie vivipara o ovovivipara.^{8,16,17}

Scopo del presente lavoro è quello di fornire un contributo alla descrizione di *T. callipaeda* attraverso l'osservazione al microscopio ottico ed elettronico a scansione e di analizzare alcuni aspetti legati al ciclo biologico del parassita.

MATERIALI E METODI

Nel periodo compreso tra Maggio e Novembre 2002 sono stati prelevati 203 nematodi (130 femmine e 73 maschi) dagli occhi di 42 cani naturalmente infestati che vivono nelle zone limitrofe a Pietrapertosa, comune situato in una zona montuosa della Basilicata a circa 1200 metri di altitudine.

I nematodi sono stati conservati in soluzione fisiologica (0,9% NaCl), trasportati in laboratorio e chiarificati in una soluzione di Amman e Blue di Metilene (1:50), prima dell'osservazione al microscopio ottico; alcuni esemplari sono stati trattati con glutaraldeide per la microscopia elettronica a scansione (SEM), mentre altri sono stati conservati in etanolo per indagini di caratterizzazione biomolecolare.

Tredici maschi e 60 femmine sono stati osservati al microscopio ottico. Per lo studio al SEM (Cambridge Stereoscan 240) 4 maschi e 6 femmine sono stati fissati in glutaraldeide, disidratati e rivestiti con uno strato di 20 nanometri di palladio aurico.

L'identificazione è stata effettuata sulla base delle chiavi morfologiche fornite da Skrjabin *et al.* (1967) e Bhaibulaya *et al.* (1970).^{6,7}

RISULTATI

La carica parassitaria in ciascun occhio è risultata di 4.8 ± 8.5 con un range compreso tra 1 e 53 nematodi (Fig. 1).

Tutti gli esemplari sono stati identificati come *T. callipaeda* sulla base della posizione della vulva, localizzata an-

teriormente alla giunzione esofago-intestinale nelle femmine (Fig. 2), e per la presenza di 5 paia di papille post-cloacali in posizione ventrale nei maschi (Fig. 3).^{6,7}

La cuticola, con striature trasversali, è apparsa più corrugata anteriormente piuttosto che verso l'estremità caudale e il numero di striature cuticolari (calcolate su 10

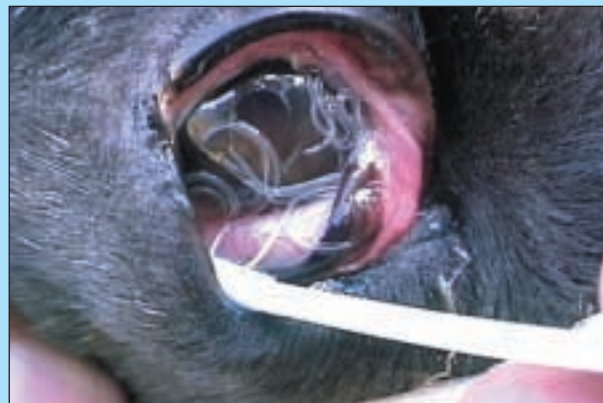


FIGURA 1 - Cane con grave infestazione da *Thelazia callipaeda*.

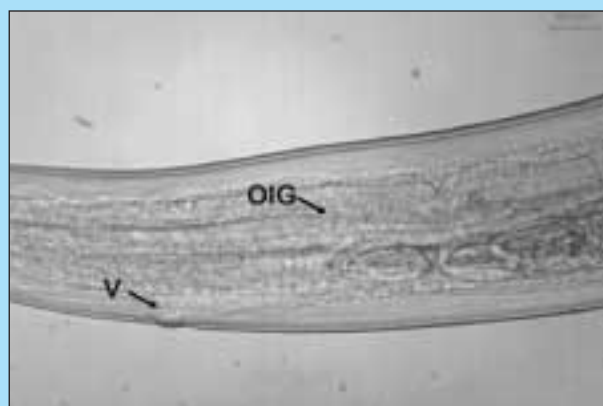


FIGURA 2 - Immagine al microscopio ottico di una femmina di *Thelazia callipaeda* chiarificata in soluzione di Amman. Vulva (V), giunzione esofago-intestinale (OIG) (x100).



FIGURA 3 - Immagine al microscopio elettronico a scansione della porzione caudale di un maschio di *Thelazia callipaeda*. Papilla pre-cloacale (PrCP), papille post-cloacali (PoCP) - anteriore (a), mediana (m) e posteriore (p) -, spiculo (S).

esemplari di nematode) è risultato di circa $280.2 \pm 12.9/\text{mm}$ nella porzione cefalica (dall'estremità buccale alla giunzione esofago-intestinale), di $207 \pm 4.8/\text{mm}$ nella porzione media (dalla giunzione esofago-intestinale all'ano) e di $236 \pm 11.7/\text{mm}$ nella porzione caudale (dall'ano all'estremità terminale).



FIGURA 4 - Immagine al microscopio ottico della estremità anteriore di una femmina di *Thelazia callipaeda*. Capsula buccale (BC) (x400).



FIGURA 5 - Immagine al microscopio elettronico a scansione di *Thelazia callipaeda*. Regione anteriore di una femmina: papilla cefalica ventro-mediana (CSP), capsula buccale (BC), vulva (V).

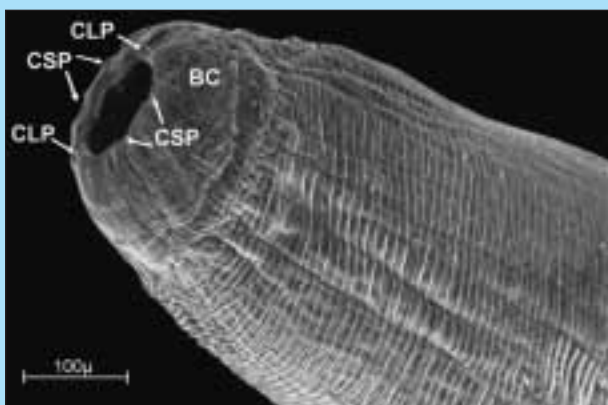


FIGURA 6 - Immagine al microscopio elettronico a scansione di *Thelazia callipaeda*. Porzione terminale anteriore di una femmina: papille cefaliche ventro-mediali (CSP), papille cefaliche laterali (CLP), capsula buccale (BC).

I parassiti erano caratterizzati dalla presenza di una capsula buccale (Fig. 4) la cui apertura mostrava un profilo esagonale (Figg. 5 e 6) con 6 papille cefaliche, 2 delle quali poste lateralmente e 4 in posizione submediana (Fig. 6).

I maschi misuravano 7.7-12.8 mm in lunghezza e 338-428 μm in larghezza nella porzione media. Gli esofagi avevano una lunghezza media di 650 μm e i testicoli sono stati evidenziati nella porzione media della coda. Il polo caudale risultava curvato ventralmente, senza ali caudali. Sulla superficie ventrale del polo caudale erano poste 15 paia di papille, 10 delle quali in posizione pre-cloacale e 5 a livello post-cloacale. Le prime 3 delle 5 paia di papille post-cloacali erano situate posteriormente alla cloaca, in prossimità dell'apertura anale, 1 paio in posizione mediana e l'ultimo paio in posizione postero-terminale (Fig. 3). I 2 spiculi (Fig. 7) erano caratterizzati dal profilo netto dell'estremità anteriore dello spiculo maggiore (Fig. 8) e dalla tipica forma a semiluna di quello minore (Fig. 9).

Le femmine misuravano 12-18.5 mm in lunghezza e 370-510 μm in spessore. Gli esofagi avevano una lunghezza media di 770 μm . L'apertura vaginale era posta a circa 62.0-162.2 μm (media $108.7 \pm 19.6/\mu\text{m}$), anteriormente alla giunzione esofago-intestinale (Fig. 2). Numerose L1 circolari, lunghe 382-400 μm ($386.7 \pm 4.0/\mu\text{m}$ in media), era-

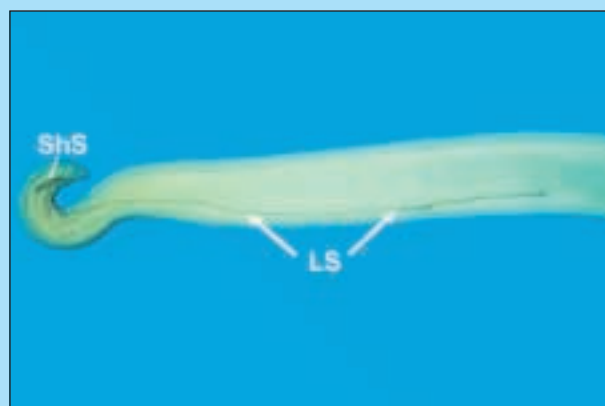


FIGURA 7 - Immagine al microscopio ottico di *Thelazia callipaeda*. Porzione terminale di un maschio. Spiculo maggiore (LS) e spiculo minore (ShS) (x40).

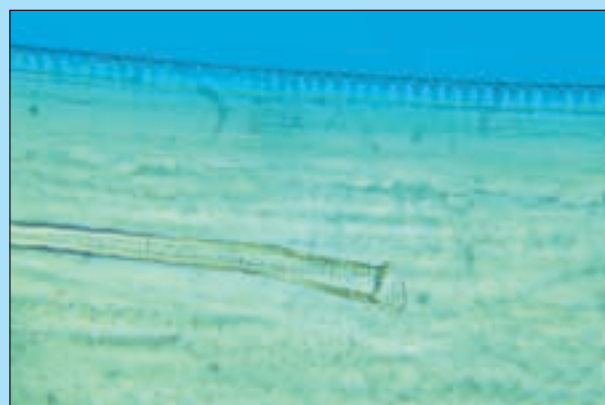


FIGURA 8 - Immagine al microscopio ottico di *Thelazia callipaeda*. Porzione caudale di un maschio. Dettaglio dell'estremità prossimale dello spiculo maggiore (x400).

no disposte in fila nella porzione distale dell'utero (Fig. 10). Le L1 presentavano una membrana (uova embrionate) meglio distinguibile all'esterno del nematode dopo il sezionamento dell'utero distale (Fig. 11). Nella metà posteriore del soma, i tubuli uterini apparivano ripieni di uova immature o di cellule germinali (dimensioni: 32.8-56.5 µm; media 41.3 ± 1.4/µm in lunghezza; 23.7-33.4 µm, me-

dia 29.9 ± 0.6 µm, in larghezza) (Fig. 12). La vulva, provvista di un corto labbro vulvare, era disposta nella regione anteriore del corpo (Fig. 13) mentre l'orifizio anale era situato a 70-102 µm dall'estremità caudale. Sulla punta della coda erano presenti due papille caudali (Fig. 14).

Le misurazioni effettuate al microscopio ottico sui 73 esemplari sono riportate nella Tabella 1.

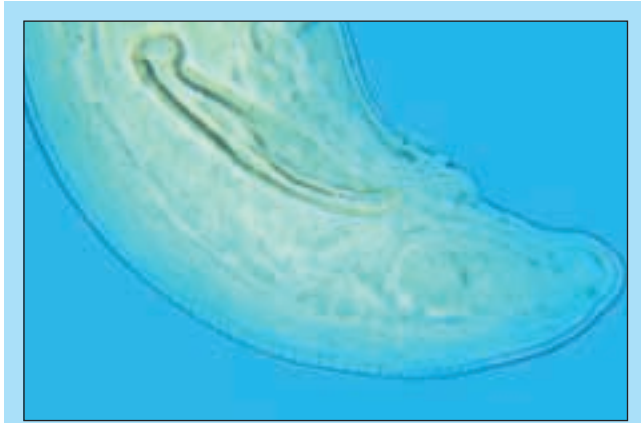


FIGURA 9 - Immagine al microscopio ottico di *Thelazia callipaeda*. Porzione caudale di un maschio. Dettaglio dello spiccolo minore (x400).

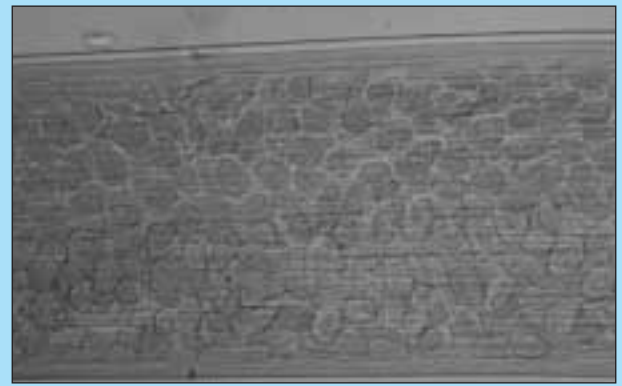


FIGURA 12 - Immagine al microscopio ottico di *Thelazia callipaeda*. Uova immature o cellule germinali all'interno dei tubuli nella parte prossimale dell'utero (x100).

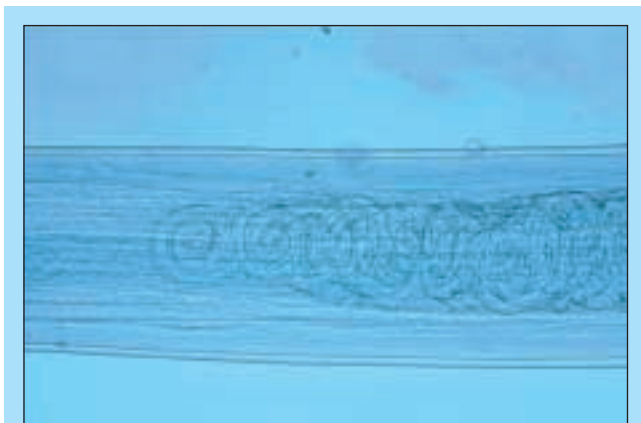


FIGURA 10 - Immagine al microscopio ottico di *Thelazia callipaeda*. Larve di I stadio mature nella parte distale dell'utero (x200).

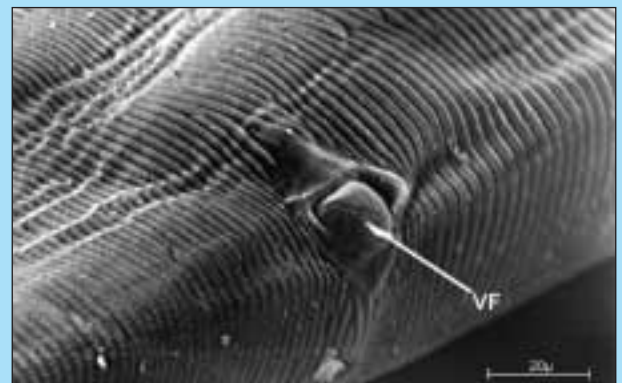


FIGURA 13 - Immagine al microscopio elettronico a scansione di *Thelazia callipaeda*. Porzione anteriore di una femmina. Forte ingrandimento della vulva con labbra vulvari corte (VF).



FIGURA 11 - Immagine al microscopio ottico di *Thelazia callipaeda*. Larve di I stadio mature all'esterno del nematode avvolte dalla membrana embrionale (SM) nella porzione distale dell'utero (x200).



FIGURA 14 - Immagine al microscopio elettronico a scansione di *Thelazia callipaeda*. Veduta ventrale della coda di una femmina: ano (A), papille caudali (CP).

Tabella 1
Morfobiometria di 73 campioni (60 femmine e 13 maschi) di *Thelazia callipaeda* da cani naturalmente infestati (misure espresse in μm)

	Femmine		Maschi	
	Media	Range	Media	Range
Corpo: lunghezza totale	15800	12000-18500	10120	7700-12800
Corpo: larghezza (max)	423	370-510	384	338-428
Capsula buccale: larghezza	27	22-32	24	18-32
Capsula buccale: profondità	27	20-28	22	20-26
Lunghezza esofago	770	620-854	650	480-750
Distanza anello nervoso- estremità anteriore	350	330-438	320	240-380
Distanza vulva- estremità anteriore	640	520-700	–	–
Distanza cloaca- estremità posteriore	97	70-102	84	72-87
Coda				
Lunghezza spiculo minore	–	–	160	142-170
Larghezza spiculo minore	–	–	20	14-30
Lunghezza spiculo maggiore	–	–	1890	1700-2210
Larghezza estremità anteriore spiculo maggiore	–	–	19	14-22
Larghezza media spiculo maggiore	–	–	21	17-24
Larghezza estremità posteriore spiculo maggiore	–	–	7	5-8
Papille				
Papille pre-cloacali (paia)	–	–		10
Papille post-cloacali (paia)	–	–		5

CONCLUSIONI

Il genere *Thelazia* Bosc 1819 (Spirurida, Thelaziidae) comprende un gruppo di spiruridi cosmopoliti che parassitano gli occhi ed i tessuti annessi di mammiferi ed uccelli.

In accordo con la descrizione morfologica di Yamaguti (1961), le specie appartenenti al genere *Thelazia* sono caratterizzate da:

- Maschi: coda smussa, ricurva senza ali caudali, papille pre- e post-anali e spiculi dissimili tra loro (lungo e corto).
- Femmine: coda smussa e arrotondata, provvista di un paio di papille laterali nei pressi dell'estremità, e vulva situata nella regione esofagea. Tutte le specie sono considerate vivipare.¹⁶

Questo lavoro colma alcune lacune esistenti nella descrizione morfometrica di *T. callipaeda* fornendo le caratteristiche morfologiche principali per l'identificazione di questa specie.

Le descrizioni di *T. callipaeda* e di *T. californiensis* disponibili in letteratura non consentono una loro chiara differenziazione in quanto basate sul numero di papille post-cloacali nei maschi e sulla posizione della giunzione esofago-intestinale e della vulva nelle femmine. La descrizione morfologica da noi effettuata ha rilevato 5 paia di papille post-cloacali (3 ventrali, 1 subventrale ed 1 laterale assimilabile ad un fasmide). Tali aspetti, talvolta non evidenziabili a causa della contrazione dei nematodi dopo la morte, permettono di differenziare i maschi di *T. callipaeda* da quelli di *T. californiensis*, provvisti di sole 3 paia di papille post-cloacali.^{2,18}

Nella femmina, la posizione della vulva in relazione alla

giunzione esofago-intestinale è risultata di 62.0-162.2 μm (media $108.7 \pm 19.6/\mu\text{m}$), non dissimile dalla distanza, pari a 150 μm , riportata da Hong *et al.* (1988); questo elemento rappresenta l'unico aspetto differenziale tra le femmine di *T. callipaeda* e *T. californiensis* in quanto in quest'ultima specie la vulva è situata posteriormente alla giunzione esofago-intestinale.²

Le striature trasversali presenti sulla cuticola potrebbero essere responsabili dell'abbondante scolo oculare osservato nei cani infestati, soprattutto in considerazione della presenza simultanea di numerosi esemplari. L'osservazione di una membrana intorno alle L1 mature potrebbe suggerire la natura ovovivipara del parassita come riportato da Nagada (1964) e Hong *et al.* (1988) ed in contrasto con Yamaguti (1961) il quale ha definito il parassita come viviparo.^{8,16,17}

Sono in corso studi di caratterizzazione biomolecolare di *T. callipaeda* (Otranto e Traversa, 2004) a conferma della sua identificazione morfologica non solo per la differenziazione tassonomica rispetto a *T. californiensis*, ma anche per chiarire alcuni aspetti epidemiologici relativi all'identificazione del vettore/i e per risalire all'origine di questa infestazione in Europa; tali studi sono resi possibili da un progetto di ricerca (2002-2005) finanziato dai Ministeri degli Esteri delle Repubbliche Italiana e Cinese, rappresentati, rispettivamente, dalle Università degli Studi di Bari e di Lanzhou.

Parole chiave

Thelazia callipaeda, cane, uomo, parassiti oculari.

Key words

Thelazia callipaeda, dog, human, eyeworm.

Bibliografia

1. Railliet A e Henry A: Nouvelles Observations sur les Thélazies, Nématodes Parasites de l'Oeil. CR Soc Biol 68:783-785, 1910.
2. Price EW: A New Nematode Parasitic in the Eyes of Dogs in the United States. J Parasitol 17:112-113, 1930.
3. Kozlov DP: The Life Cycle of Nematode, *Thelazia callipaeda* Parasitic in the Eye of the Man and Carnivores. Doklady Akademii Nauk SSSR 142:732-733, 1962.
4. Shi YE, Han JJ, Yang WY, Wei DX: *Thelazia callipaeda* (Nematoda: Spirurida): Transmission by Flies from Dogs to Children in Hubei, China. Trans R Soc of Trop Med and Hyg 82:627, 1988.
5. Soulsby E.J.L.: Helminths, Artropods and Protozoa of Domesticated Animals. Oxford, Bailliere Tindall, 1982.
6. Skrjabin KI, Sobolev AA, Ivanhkin VM: Essential of Nematodology, Vol XVI: Spirurata of Animals and Man and the Diseases Caused by Them. Part 4 Thelazioidea. Moskow, Izdatel'sto Akademii Nauk SSSR Ed.: 26-36, 1967.
7. Bhaibulaya M, Prasertsilpa S, Vajrasthira S: *Thelazia callipaeda* Railliet and Henry, 1910, in Man and Dog in Thailand. American J Trop Med Hyg 19:476-479, 1970.
8. Hong ST, Lee SH, Kim SI: A Human Cases of *Thelazia callipaeda* Infection With References to Its Internal Structures. Korean J Parasitol 2:137-139, 1988.
9. Kosin E, Kosman ML, Depary AA: First Case of Human Thelaziasis in Indonesia. Southeast Asian J Trop Med Public Health 20:233-236, 1989.
10. Hong ST, Park YK, Lee SK, Yoo JH, Kim A, Chung YH, Hong SJ: Two Human Cases of *Thelazia callipaeda* Infection in Korea. Korea J Parasitol 2:139-144, 1995.
11. Rossi L e Bertaglia P: Presence of *Thelazia callipaeda* Railliet & Henry, 1910, in Piedmont, Italy. Parassitologia 31:167-172, 1989.
12. Di Sacco B, Ciocca A, Sirtori G: *Thelazia callipaeda* (Railliet and Henry, 1910) nel Sacco Congiuntivale di un Gatto di Milano. Veterinaria 4:81-84, 1995.
13. Lia R, Garaguso M, Otranto D, Puccini V: First Report of *Thelazia callipaeda* in Southern Italy- Basilicata Region. Proceedings of the Eighth Conference of the European Federation of Parasitologists, Poznan (Poland). Acta Parasitologica 45:178, 2000.
14. Otranto D, Lia R, Ferroglio E, Rossi L: The Epidemiology of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in Dogs, Cats and Foxes in Italy: a "Coincidence" or a Parasitic Disease Spreading Through the Old Continent?. Vet Parasitol, 116(4):315-325, 2003.
15. Wang Z e Yang Z: Studies on the Development of *Thelazia callipaeda* Larvae in the Intermediate Host *Amiota variegata* in China. Chinese J Zool 5:4-7, 1993.
16. Yamaguti S: Systema Helminthum, Vol III: The Nematodes of Vertebrates part I. New York, Interscience Publisher, Inc, 1961.
17. Nagada Y: A Study on the Oriental Eyeworm *Thelazia callipaeda*. Jpn J Parasitol 7:600, 1964.
18. Price EW: A Note on the Occurrences of Eye Worms in Dogs in the United States. North Am Vet 41:49-58, 1931.
19. Otranto D, Traversa D: Molecular characterization of the first Internal Transcribed Spacer (ITS1) of ribosomal DNA (rDNA) of the most common species of eyeworms (Thelazioidea: Thelazia). J Parasitol 2004, in corso di stampa.

LIBRETTI DI VACCINAZIONE DEL CANE E DEL GATTO



500 COPIE = Euro 87,80

Richiedere a:



Via Cagnola 35 - 20081 Abbiategrasso
Tel. 02/9462323 - 02/94965467 - Fax 02/94969304
Email: fulvio@presspoint2000.it

Cari Colleghi,

i libretti di **vaccinazione del cane e del gatto**, realizzati dalla SCIVAC, secondo le indicazioni della FSA e della FECAVA, sono nuovamente disponibili. Nella loro versione originale, senza inserzioni pubblicitarie, i libretti possono essere richiesti alla tipografia **Press Point**, al puro costo di stampa e con contributo di spese di spedizione.

Non sono invece più disponibili le copie sponsorizzate che, in collaborazione con alcune aziende farmaceutiche e mangimistiche, la SCIVAC distribuiva gratuitamente negli anni scorsi.