

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
“FEDERICO II”



**DIPARTIMENTO DI MEDICINA VETERINARIA
E PRODUZIONE ANIMALE**

DOTTORATO DI RICERCA (XXV CICLO)

IN

**“BIOLOGIA, PATOLOGIA ED IGIENE AMBIENTALE IN
MEDICINA VETERINARIA”**

**Gli animali coinvolti negli interventi assistiti:
veicolo di malattia o salute?**

Coordinatore del dottorato

Prof. G.Cringoli

Tutor del dottorato

Prof.ssa Lucia Francesca Menna

Tesi di dottorato di:

Dott.ssa Marzia Fontanella

Triennio di dottorato 2010-2013

A Mario, Mattia e Marco

Indice	Pagine
Introduzione	6
Capitolo 1	7
1.1 La Sanità Pubblica	7
1.1.1 The Manahattan Principles	11
1.2 Il medico veterinario garante della salute animale, umana e della salute	16
1.3 La zoo antropologia	20
Capitolo 2	23
2.1 La relazione uomo animale	23
2.2 L'impiego degli animali a fini terapeutici	25
2.3 La Pet Therapy	28
2.4 Riferimenti legislativi	35
2.4.1 Professioni coinvolte	36
Capitolo 3	40
3.1 Le zoonosi	40
3.2 <i>Campylobacter</i>	42
3.2.1 Eziologia	42
3.2.2 Principali Specie del Genere <i>Campylobacter</i>	43
3.2.3 Epidemiologia	45
3.2.4 Patogenesi e sintomatologia nell'uomo	47
3.3 <i>Escherichia coli</i>	50
3.3.1 Eziologia	50

3.3.2 Epidemiologia	53
3.3.3 Patogenesi e sintomatologia nell'uomo	56
3.4 Salmonella	58
3.4.1 Eziologia	58
3.4.2 Epidemiologia	60
3.4.3 Patogenesi e sintomatologia nell'uomo	62
Capitolo 4	64
Parte Sperimentale	64
Scopo della ricerca	64
4.1 Materiali e metodi	65
4.1.1 Interventi Assistiti con il cane presso l'RSA Colonia Geremicca	65
4.1.2 Le Terapie Assistite con il cane presso la Fondazione Istituto Antoniano	67
4.1.3 Interventi Educativi con l'ausilio degli equidi presso alcune scuole medie statali	69
4.1.4 Interventi Assistiti con l'ausilio dei volatili da cortile presso l'Ospedale Psichiatrico Giudiziario (OPG) Filippo Saporito	70
4.2 Tecniche di isolamento batterico e identificazione	72
4.2.1 <i>Escherichia coli</i> produttori di shigatossine	72
4.2.1.1 Sierotipizzazione	74
4.2.2 <i>Salmonella spp.</i>	75
4.2.3 <i>Campylobacter termo tolleranti</i>	77
4.2.3.1 PCR Multiplex	79

4.3 Cani	80
4.3.1 Campionamento	80
4.3.2 Risultati e discussione	81
4.4 Equidi	84
4.4.1 Campionamento	84
4.4.2 Risultati e discussioni	84
4.5 Volatili da cortile	87
4.5.1 Campionamento	87
4.5.2 Risultati e discussioni	88
Conclusioni	90
Bibliografia	91
Sitografia	102
Ringraziamenti	103

Introduzione

La Pet Therapy in Italia è stata riconosciuta come cura ufficiale dal Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 28 febbraio 2003, che ha sancito per la prima volta nella storia del nostro Paese il ruolo che un animale può avere nella vita affettiva di una persona, nonché la valenza terapeutica degli animali da compagnia.

Negli ultimi anni si sta assistendo a un fiorire di iniziative che impiegano diverse specie animali a fini terapeutici. Tali attività, che hanno spesso un carattere spontaneo, sono estremamente eterogenee e necessitano di validi strumenti metodologici che le accompagnino, infatti, non esistono dei protocolli sanitari individuali a cui sottoporre cani, equidi e volatili coinvolti, al fine di salvaguardare la salute pubblica.

Nell'ambito delle attività di ricerca, del triennio di dottorato, sono state svolte quattro importanti iniziative di Pet Therapy presso: la Residenza Sanitaria per Anziani (RSA) Colonia Geremicca; alcune Scuole Medie Statali; la Fondazione Istituto Antoniano; l'Ospedale Psichiatrico Giudiziario di Aversa.

Cani, equidi e volatili, coinvolti negli Interventi Assistiti, sono stati regolarmente sottoposti a controlli sanitari di routine ma essendo gli animali un possibile veicolo di alcune zoonosi si è pensato che fosse opportuno sottoporli anche ad uno screening per la ricerca di *Salmonella* spp., *Campylobacter* termotolleranti ed *Escherichia coli* enteropatogeni.

Capitolo 1

1.1 La sanità pubblica

“One World : One Health” è il motto di un movimento che a partire da alcuni centri statunitensi si sta diffondendo all’interno delle principali agenzie globali legate al tema della salute ed è stato definito dall’American Veterinary Medical Association (AVMA) come "il frutto della collaborazione di più discipline – e di un lavoro a livello locale, nazionale e globale - per raggiungere una salute ottimale per le persone, gli animali e l'ambiente" (The American Veterinary Medical Association. One Health: A New Professional Imperative. Luglio 2008).

Il medico veterinario, in quanto tutore del rapporto uomo-animale, è visto come il principale garante della salute e del benessere globale. La relazione tra uomo, animali e ambiente evolve verso una nuova consapevolezza secondo cui la salute di ogni gruppo è strettamente connesso. Da un lato la domanda di proteine animali aumenterà del 50% entro il 2020, dall’altro la popolazione animale è sotto pressione ed è forte il rischio di una perdita di biodiversità. Le sfide associate a queste dinamiche sono profonde; i cambiamenti radicali necessitano di mutare gli approcci tradizionali, come già riportato dal report di KPMG del 1999 “The current and future Market for Veterinarians and Veterinary Medicine in the United States”.

Se One Health può essere considerato uno slogan recente, il concetto risale certamente a tempi molto più antichi. Il riconoscimento che i fattori ambientali possano avere un impatto sulla salute umana era presente già nel pensiero del medico greco Ippocrate (c. 460 aC – c. 370 aC) nel suo testo "Delle arie, acque e luoghi". Ippocrate esprimeva il concetto che la salute collettiva dipendesse da un ambiente pulito. L’idea che la salute umana fosse strettamente in relazione con quella degli animali attraversa costantemente la storia della medicina, dagli

studi dell'epidemiologo Giovanni Maria Lancisi (1654-1720) fino ai francesi Louis-René Villermé (1782-1863) e Alexandre Parent-Duchatelet (1790-1835), che hanno sviluppato il campo specialistico dell'Igiene Pubblica.

Alla fine del XIX secolo, il medico e patologo tedesco Rudolf Virchow (1821-1902) sviluppò il concetto di "zoonosi". A seguire le indicazioni di Virchow fu il medico canadese Sir William Osler (1849-1919) che si recò in Germania per lavorare con il patologo tedesco ed espose le sue teorie presso la McGill University Medical School e il College di Medicina Veterinaria di Montreal. Osler era un patologo clinico e internista presso l'Ospedale Generale di Montreal, ma era anche attivo nella promozione della salute veterinaria (contribuì a indagare su un focolaio di peste suina vicino a Quebec City nel 1878). Fu dunque nella sua stessa attività che mise in relazione l'attività di medico umano e di veterinario. A completare questo breve excursus storico si ricorda che Calvin W. Schwabe (1927-2006), un epidemiologo veterinario e parassitologo conìò e promosse lo slogan One medicine per sottolineare l'unione di intenti tra medicina umana e veterinaria (Kahn, Kaplan, Steele, 2007).

Nel 2004, la Wildlife Conservation Society (WCS) ha riunito un gruppo di esperti di tematiche della salute della Rockefeller University di New York e sotto il motto "One World - One Health" ha spinto perché si promuovesse il riconoscimento dell'impatto dell'ambiente, della salute e della fauna selvatica sulla salute umana.

Per venire ad anni recentissimi, in considerazione della minaccia globale che l'influenza aviaria (H5N1 HPAI) e altre malattie zoonotiche emergenti hanno posto, il Fondo per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO), l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), l'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE) hanno sviluppato un accordo tripartito al fine di elaborare un quadro strategico per collaborare più strettamente e per affrontare il tema

animale – uomo -ecosistema.

L'approccio sostenuto parte, non solo dal rischio di contagio ma dalla constatazione che gli animali soffrono di molte delle stesse malattie croniche degli essere umani, come le malattie cardiache, il cancro, il diabete, l'asma, l'artrite. Talvolta una certa malattia viene isolata e riconosciuta negli animali prima che venga riconosciuta nell'uomo.

La Medicina comparativa è lo studio dei processi di malattia tra le specie e si basa sullo studio delle malattie naturali degli animali che affliggono anche gli esseri umani. Il sistema muscolo-scheletrico, ad esempio, è particolarmente adatto per studi comparativi visto che malattie acute e croniche di ossa e articolazioni hanno le stesse controparti nell'uomo e negli animali. Le informazioni ottenute da una specie potrebbero essere direttamente dirottate su altre specie, in modo da avanzare la diagnosi e il trattamento dei disturbi muscolo-scheletrici. Già dagli anni '30 in effetti, la ricerca comparativa ortopedica ha nei fatti incorporato il concetto di “un'unica salute” per tutte le specie. Otto Stader, un veterinario per piccoli animali, utilizzò un approccio comparativo alla medicina e sviluppò la prima forma di fissazione esterna scheletrica, la stecca Stader, per stabilizzare le fratture nei cani. Durante la seconda guerra mondiale, i chirurghi della Marina avrebbero migliorato il trattamento delle fratture nei marinai proprio incorporando l'approccio di Stader. Nel corso degli anni '40 e '50, Jacques Jenny, un veterinario, effettuò una delle prime procedure di fissazione interna con chiodo centro midollare negli animali e sviluppò in modo significativo le strategie avanzate di riparazione della frattura nei cavalli e gli esseri umani. Nel 1966, Sten-Erik Olsson e John L. Marshall laureati entrambi sia in medicina che in veterinaria, fondarono il primo laboratorio ortopedico dedicato alla ricerca comparativa presso l'Hospital for Special Surgery di New York. Al giorno d'oggi i laboratori di medicina comparativa ortopedica si trovano in tutto il mondo; essi utilizzano un approccio di ricerca

comparativa nel tentativo di migliorare le capacità di diagnosi, implementare le strategie preventive e terapeutiche e far progredire la comprensione dei meccanismi di malattia. I progressi nella fissazione della frattura, sostituzione totale dell'articolazione, e la riparazione della cartilagine sono alcuni esempi di come la conoscenza fluisce in entrambe le direzioni, a beneficio della salute sia umana che animale.

I cambiamenti nell'uso del suolo, la creazione e il funzionamento delle unità di produzione alimentare di grandi dimensioni terrestri e marine, il crescente inquinamento chimico e microbico delle fonti di terra e di acqua hanno creato nuove minacce per la salute degli animali e gli esseri umani. Inoltre l'urbanizzazione, la globalizzazione, il cambiamento climatico, l'intensificazione dell'allevamento gli stessi rischi indotti dai possibili usi terroristici di agenti virali ed epidemiologici, hanno portato la necessità di una forza lavoro più diversificata nella salute pubblica.

I medici si rivolgono agli scienziati di salute ambientale e ad altri professionisti per collaborare al fine di identificare la fonte dei focolai di malattia, per prevenire le malattie croniche causate da esposizione a sostanze chimiche ma anche semplicemente per collaborare nel creare ambienti di vita più sani. Allo stesso modo i veterinari si rivolgono agli scienziati della salute ambientale per prevenire e controllare i focolai e le emergenze di salute pubblica. One health diviene così il motto perfetto per riunire operatori sanitari umani, veterinari e altri professionisti della sanità pubblica sotto l'ombrello della salute ambientale. Rafforzando le indagini epidemiologiche e di laboratorio che valutano il ruolo delle influenze ambientali, questa partnership può contribuire a sviluppare e applicare interventi sanitari comuni, sostenibili ed efficaci. Sintomo ben importante di questa nuova consapevolezza è dato da movimenti che stanno avvenendo in entrambe le discipline. Nel 2007 si è tenuto un incontro tra il Dr. Roger Mahr, il presidente della American Veterinary Medical

Association (AVMA), e il dottor Ronald Davis, il Presidente della American Medical Association, per discutere la possibilità di riunire insieme le comunità mediche veterinarie ed umane. Il dottor Davis ha suggerito che il modo migliore per l'AMA di essere coinvolti in tale sforzo sarebbe quello di approvare in maniera formale la risoluzione One Health. Nel giugno 2007, l'AMA ha adottato all'unanimità la risoluzione. L' AVMA ha istituito una One Health Initiative Task Force e ha approvato una risoluzione analoga a quella dell'AMA nel luglio 2008. One Health Task Force si è poi strutturata in una One Health Commission diretta dal dottor Roger Mahr. Le organizzazioni che promuovono il movimento sono l'American Medical Association, American Veterinary Medical Association, l'American Society of Tropical medicine and Hygiene, il Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti (USDA) e la US National Environmental Health Association (NEHA).

One Health è promossa da scienziati in molti paesi e sostenuta da organizzazioni di primo piano tra cui l'Organizzazione Mondiale della Sanità. Anche l'Unione europea ha riconosciuto l'importanza di One Health. Nel frattempo si sono svolti i primi grandi eventi internazionali di diffusione (il 1st International One Health Congress si è riunito il 14-16 febbraio 2011 a Melbourne, in Australia; la 1st One Health Conference in Africa si è tenuta il 14-15 Luglio 2011 a Johannesburg, in Sud Africa) e la Banca Mondiale sta effettuando degli studi per valutare l'efficacia del rapporto costi/benefici sulla salute globale in un approccio One Health.

1.1.1 The Manhattan Principles

Il biochimico britannico James Lovelock, nel 1979, scrisse un noto articolo "GAIA. A new look at Life on Earth", cercando di formulare un approccio olistico allo studio della natura. L'ipotesi si fondava sul fatto che la terra funziona nel suo complesso come un

“superorganismo”: non solo il clima e gli eventi geologici hanno influenzato gli organismi viventi, ma anche questi ultimi influenzarono i primi, in una sorta di processo co-evolutivo. L'ipotesi ha fatto e fa molto discutere ancora oggi ma propone una base di partenza interessante, anche a non volerne accettare tutti gli esiti.

Nel già citato incontro del settembre 2004 organizzato dalla Wildlife Conservation Society e ospitato dalla Rockefeller University al riguardo delle prospettive legate al movimento "One World, One Health", ci si soffermò sulla trasmissione, attuale e potenziale, di malattie tra gli umani, gli animali domestici e le popolazioni della fauna selvatica. I componenti del panel di esperti indicarono le priorità per un approccio interdisciplinare e internazionale nella lotta contro le minacce per la salute della vita sulla Terra.

Il risultato prodotto dai relatori elenca dodici raccomandazioni per stabilire un approccio olistico alla prevenzione dell'epidemia/epizoozia e per il mantenimento dell'integrità degli ecosistemi a beneficio degli esseri umani, dei loro animali domestici, e della biodiversità.

Di seguito sono riportati integralmente i Manhattan Principles on “One World, One Health” per meglio comprenderne le implicazioni:

I recenti focolai di West Nile Virus, febbre emorragica Ebola, SARS, vaiolo delle scimmie, la malattia della mucca pazza e l'influenza aviaria ci ricordano che la salute umana e animale sono intimamente connessi. Una comprensione più ampia della salute e della malattia richiede un'unità di approccio realizzabile solo attraverso una convergenza di metodi della medicina umana, veterinaria e della tutela della fauna selvatica.

Fenomeni come l'estinzione di numerose specie, il degrado degli habitat, l'inquinamento, l'azione invasiva di specie aliene e il cambiamento climatico globale stanno fundamentalmente alterando la vita sul nostro pianeta, dal deserto terrestre passando per le

profondità dell'oceano fino alle città più densamente popolate. La crescita dei paesi emergenti e il resurgendo delle malattie infettive minaccia non solo gli esseri umani (e le loro scorte di cibo ed economie), ma anche la fauna e la flora che compongono la biodiversità, fondamento dell'infrastruttura vivente del nostro mondo. La serietà e l'efficacia della gestione ambientale del genere umano e la nostra salute futura non sono mai stati più chiaramente collegati. Per vincere le battaglie della malattia del XXI secolo, garantendo nel contempo l'integrità biologica della Terra per le generazioni future è necessario un approccio interdisciplinare e intersettoriale per la prevenzione delle malattie, la sorveglianza, il monitoraggio, il controllo e la mitigazione e per la conservazione dell'ambiente in senso più ampio.

Esortiamo i leader del mondo, la società civile, la comunità sanitaria globale e le istituzioni della scienza a:

1. Riconoscere il legame essenziale tra uomo, animale domestico e la salute della fauna selvatica ed anche che le malattie rappresentano una minaccia per le persone, le loro scorte di cibo e le loro economie. Infine è importante riconoscere che la biodiversità è fondamentale per mantenere gli ambienti sani e il corretto funzionamento degli ecosistemi di cui tutti abbiamo bisogno.

2. Riconoscere che le decisioni in materia di uso del suolo e dell'acqua hanno implicazioni reali per la salute. Le alterazioni della resilienza degli ecosistemi, i mutamenti nei modelli di insorgenza e di diffusione delle malattie si manifestano quando non riusciamo a riconoscere questa relazione.

3. Includere la "wildlife health science" come una componente essenziale nella prevenzione, la sorveglianza, il monitoraggio, il controllo e la mitigazione delle malattie globali.

4. *Riconoscere che i programmi per la salute umana possono notevolmente contribuire agli sforzi per la conservazione della natura.*
5. *Elaborare adattativi, olistici e lungimiranti approcci per la prevenzione, la sorveglianza, il monitoraggio, il controllo e la mitigazione delle malattie emergenti come delle malattie resurgenti che comprendono le complesse interconnessioni tra le specie prese in considerazione.*
6. *Cercare opportunità per integrare pienamente le prospettive di conservazione della biodiversità e le esigenze umane (comprese quelle relative alla salute degli animali domestici) durante lo sviluppo di soluzioni per eventuali minacce d'infezione.*
7. *Ridurre la domanda e meglio regolamentare la fauna selvatica internazionale dal vivo e il commercio di carne selvatica, non solo per proteggere le popolazioni della fauna selvatica, ma per ridurre i rischi di trasmissioni di malattia tra diverse specie, e lo sviluppo di nuove interazioni ospite-patogeno. I costi di questo commercio mondiale in termini di impatto sulla salute pubblica, l'agricoltura e la conservazione sono enormi, e la comunità internazionale deve affrontare questo commercio, come la vera minaccia per la sicurezza globale socio-economico.*
8. *Restringere l'eventualità dell'abbattimento di massa della fauna selvatica solo alle situazioni dove c'è un consenso scientifico multidisciplinare e internazionale sul fatto che la popolazione selvatica in questione ponga un urgente e grave minaccia per la salute umana, per la sicurezza alimentare, per la salute della fauna selvatica stessa.*
9. *Aumentare gli investimenti in infrastruttura per la salute umana e animale a livello globale commisurata alla gravità delle minacce di malattie emergenti e del resurgimento per persone, animali domestici e fauna selvatica. Potenziare la capacità globale di sorveglianza della*

salute umana e degli animali per una chiara, tempestiva condivisione delle informazioni (che prenda in considerazione le barriere linguistiche) non può che contribuire a migliorare il coordinamento delle risposte tra le agenzie governative e non governative, le istituzioni di salute pubblica e degli animali, i produttori di vaccini e di risorse farmaceutiche e altre parti interessate.

10. Allacciare rapporti di collaborazione tra i governi, le persone locali e i settori privati e pubblici (per esempio del settore no-profit), per affrontare le sfide della salute globale e della conservazione della biodiversità.

11. Fornire adeguate risorse e supporto per le reti di sorveglianza della “global wildlife health” in modo da scambiare informazioni con la sanità pubblica, le comunità agricole e la polizia sanitaria, come parte di un sistema di allarme rapido contro le minacce delle malattie.

12. Investire in educazione e sensibilizzazione della popolazione mondiale per influenzare il processo politico in modo da aumentare la consapevolezza delle relazioni tra la salute e l'integrità dell'ecosistema per riuscire a migliorare le prospettive di un pianeta “più sano.”

1.3 Il medico veterinario per la salvaguardia della salute, dell'ambiente, dell'economia e della coesistenza degli animali. Il Medico Veterinario svolge la propria attività professionale al servizio della collettività e a tutela della salute degli animali in relazione alla salute dell'uomo.

1.2 Il medico veterinario garante della salute animale, umana e dell'ecosistema

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, per salute umana s'intende "uno stato di completo benessere fisico, mentale, sociale e non solo assenza di malattia", la salute è inoltre un "fondamentale diritto dell'individuo e interesse della collettività" tutelato dall' Art. 32 della Costituzione della Repubblica Italiana. Sempre l'OMS definisce le competenze della Sanità Pubblica Veterinaria come "parte delle attività di Sanità Pubblica che hanno come scopo l'applicazione delle capacità, conoscenze e risorse professionali veterinarie ai fini della protezione e del miglioramento della salute umana" (Organizzazione Mondiale della Sanità, Ginevra, 1974).

Una più recente definizione afferma che la Sanità Pubblica Veterinaria è "la somma dei contributi al benessere fisico, mentale e sociale delle persone attraverso la conoscenza e l'applicazione della scienza veterinaria" (Gruppo di lavoro Organizzazione Mondiale della Sanità, Future trends in veterinary public health, 1999).

In Italia, a differenza della maggioranza delle altre nazioni, i Servizi Veterinari Pubblici fanno capo all'Amministrazione Sanitaria. Il Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria, della sicurezza alimentare e degli organi collegiali per la tutela della salute rientra quindi sotto la guida del Ministero della Salute e provvede, ai fini della tutela della salute umana e animale, alle attività di coordinamento e di vigilanza in tema di:

- Sanità Pubblica Veterinaria, Nutrizione e Sicurezza Alimentare;
- Benessere degli animali;
- Ricerca e Sperimentazione nel settore alimentare e veterinario;
- coordinamento e finanziamento degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali e vigilanza sugli stessi;

- valutazione del rischio in materia di sicurezza alimentare;
- funzionamento del Consiglio Superiore di Sanità;
- integratori alimentari;
- farmaci veterinari e fitofarmaci;
- alimentazione animale.

Nei Paesi Anglosassoni, la Sanità Pubblica Veterinaria dipende dall'Amministrazione dell'Agricoltura per cui prevale nelle sue competenze la redditività delle produzioni. In USA e in Spagna invece, dipende sia dall'Amministrazione dell'Agricoltura che dall'Amministrazione Sanitaria. Vi è cioè una distinzione tra salute degli animale in senso stretto che compete al Ministero dell'Agricoltura e Sanità Pubblica Veterinaria (zoonosi, igiene degli alimenti, igiene urbana) che compete invece al Ministero della Sanità.

Facendo un elenco più nello specifico delle attività di pertinenza della Sanità Pubblica Veterinaria esse possono essere divise in sei ambiti, di seguito riportati:

1. **PRODUZIONI ANIMALI:** zoonosi; malattie con risvolti nella produzione, legate anche a questioni di rilievo economico e occupazionale.
2. **SICUREZZA ALIMENTARE** tramite controlli lungo tutta la filiera (“dal campo alla tavola”): zoonosi alimentari; ispezione delle carni; controllo lavorazione, stoccaggio e distribuzione; residui e contaminanti ambientali; controllo dell' import/export.
3. **AMBIENTE:** zoonosi di origine ambientale; zoonosi degli animali selvatici; vettori; raccolta ed eliminazione di carcasse, carni, rifiuti animali; inquinamento ambientale; controllo popolazioni animali in ambiente urbano e silvestre.

4. RICERCA BIOMEDICA: diagnostica e prodotti biologici; indagini ecologiche ed epidemiologiche; fisiologia della riproduzione; animali da laboratorio.
5. EMERGENZE: focolai di malattie esotiche; disastri naturali e non.
6. ASPETTI SOCIALI: Pet Therapy, ottimizzazione rapporto uomo/animale da compagnia.

In sintesi, la finalità principale della Sanità Pubblica Veterinaria è prima di tutto la prevenzione; le sue attività hanno lo scopo, come abbiamo visto, di controllare gli aspetti negativi derivanti dal rapporto uomo-animale ma soprattutto di salvaguardarne e promuoverne gli aspetti positivi.

Il Medico Veterinario (sia pubblico che libero professionista) deve dunque avere una visione d'insieme degli aspetti positivi e negativi del rapporto uomo/animale, al fine di ottenere una coesistenza uomo/animale/ambiente reciprocamente favorevole.

Oltrepassando l'ambito della funzione pubblica del Medico Veterinario si osservi come l'attenzione verso l'interazione uomo-animale costituisca un fattore importante per il libero professionista. Uno studio del College of Veterinary Medicine della Washington State University, si è rivolto a determinare la percezione del legame uomo-animale (HAB) tra i veterinari liberi professionisti e valutare come questi stessi veterinari incorporano l' HAB nelle loro pratiche (Zinsstag, Schelling, Wyss et al. 2005). La maggior parte degli intervistati erano concordi che avrebbero avuto più successo ponendo la loro attenzione anche alla relazione uomo animale e lavorando per facilitarla. Inoltre affermavano che quest'attenzione alla relazione uomo/animale avrebbe potuto facilitare anche le loro pratiche dato che il legame tra un cliente e il suo "pet" malato influenza molto il modo di esercitare la professione. Tuttavia è pur interessante notare che il 50% degli intervistati non aveva predisposto nessun tipo di azione

all'interno del suo studio al riguardo della valorizzazione dell'HAB. C'è quindi una dicotomia tra quanto viene considerata importante la HAB nella pratica veterinaria e il grado d'impegno messo dai veterinari nel facilitarla in materia di comunicazione, formazione e risorse per il cliente. Si noti dunque quanto sia fondamentale anche nella libera professione valutare non solo l'evoluzione delle malattie animali ma anche l'evoluzione del rapporto uomo/animale nella società con cui ci s'interfaccia.

La risposta a tali richieste esige competenze nel campo della Zooantropologia, una scienza recente che studia la relazione uomo-animale. Il fulcro di tale disciplina, nel suo tentativo di accreditarsi come paradigma scientifico condiviso, è dato da una nuova definizione della relazione tra soggetti attraverso l'approfondimento dell'intero campo dei rapporti uomo/animale.

1.3 La zooantropologia

Lo studio del rapporto tra uomo ed animale non rappresenta un aspetto nuovo nella letteratura scientifica ma è altresì facilmente riscontrabile che questo studio è sempre partito da posizioni palesemente antropocentriche; analizzando dunque non la relazione tra due specie, ma il modo in cui un soggetto (l'uomo) mutava il suo relazionarsi ad un oggetto (l'animale). Allo stesso modo non è del tutto nuova l'idea che gli animali da compagnia possano avere degli effetti sul benessere degli esseri umani. Una prima, parziale, novità è nell'integrazione delle due prospettive.

La zooantropologia nasce dalla risposta affermativa alla domanda se vi sia un valore aggiunto nel rapporto tra le diverse specie. Le classiche categorie per leggere le relazioni strette tra specie sono, il commensalismo, il parassitismo e il mutualismo. Pur non volendo considerare i fenomeni più eclatanti di rapporti simbiotici, l'osservazione della natura mostra come specie confinanti costituiscano spesso un' «estensione sensoriale» per altre specie. Animali con udito poco sviluppato, in alcuni ambienti, possono affidarsi all'osservazione del comportamento di altri animali con maggiore udito come spie per leggere i pericoli. Vi è dunque una tendenza a prendere in prestito gli elementi percettivi di altri animali come estensione della propria capacità di leggere il mondo.

Su questa riflessione si innesta la domanda sul tipo di referenza che instaurano uomini ed animali. Tale domanda costringe a mettere in campo strumenti di pertinenza dell'archeologia e della storia, per approfondire la lunga storia della domesticazione. L'animale è passato dunque “da operatore totemico a lubrificante sociale”, come è stato definito il pet nella società occidentale (Tonutti 1999). Se infatti agli albori del rapporto tra uomo e animale vi era anche una tendenza ad attribuire all'animale caratteristiche ed abilità sovranaturali di diverso genere, il passo successivo (il cui paradigma è ancora funzionante) ha

optato per una dimensione utilitarista e funzionalista del rapporto con l'animale, per arrivare alla dimensione prettamente sociale in cui si trova ora il pet.

La zooantropologia, intende mettere in luce la convivenza quotidiana millenaria dell'uomo con gli altri animali, dell'utilizzo e della fruttuosità di questa relazione. Ciò avveniva non solo negli aspetti più immediati legati agli allevamenti quanto pure all'osservazione degli animali come "spie" sensoriali, come modelli da cui rubare idee per il moto meccanico, etc. La referenza si esplica infatti anche nel modo in cui le specie animali si rapportano con l'ambiente esterno mostrando un range di possibili risposte ed adattamenti che hanno sempre offerto all'uomo un significativo apporto epistemologico, che rischia di cadere in disuso.

E' dunque divenuto centrale nel rapporto con l'animale uno scambio relazionale, fondato sull'affettività. Sorge dunque con più forza la necessità di migliorare la comprensione e l'interazione con l'alterità animale (Marchesini, 2001).

Non a caso viene riportato nuovamente come, secondo il nuovo codice deontologico, i settori in cui si trova ad operare un medico veterinario comprendano anche:

- la conservazione e la salvaguardia del patrimonio faunistico ispirata ai principi di tutela delle biodiversità, dell'ambiente e della coesistenza compatibile con l'uomo;
- le attività legate alla vita degli animali familiari, da competizione sportiva ed esotici;
- la promozione del rispetto degli animali e del loro benessere in quanto esseri senzienti;
- la promozione di campagne di prevenzione igienico-sanitaria ed educazione per un corretto rapporto uomo-animale.

(Il Codice Deontologico del Medico Veterinario entrato in vigore il 20 giugno 2011)

Dal contatto con l' animale scaturisce un rapporto sereno, spontaneo, sincero, corrisposto e tanto appagante da diventare un aiuto al benessere psichico e fisico, specialmente in quelle situazioni in cui i contatti interpersonali sono alquanto limitati.

Così gli animali transitano attraverso una oggettivazione differenziata da elementi di supporto alla sopravvivenza a vere essenze farmacologiche indicate nella terapia del corpo e dell'anima.

Capitolo 2

2.1 La relazione uomo-animale

La relazione uomo-animale può essere considerata un binomio ancestrale, la cui origine si perde nella notte dei tempi, lo testimoniano il gran numero di animali citati nei racconti della mitologia e i numerosi dipinti di domesticazione degli animali, di bisonti saltellanti e cavalli in galoppo scoperti nelle caverne degli uomini primitivi.

Nell' Egitto dei Faraoni il cane era sacro al dio Anubis, protettore della medicina. Ancora, divinità dei popoli Sumeri, Caldei e Greci erano affiancate, nella cura di malattie, dai propri animali da compagnia.

Nel 4500 a.C. Omero raccontava che, al suo ritorno ad Itaca, Ulisse non era stato riconosciuto né dalla moglie Penelope, né dal figlio Telemaco; solo il suo cane Argo aveva agitato la coda in segno di riconoscimento, prima di morire all'età di 20 anni.

La stessa mitologia greca narra che Asclépio, dio greco della medicina esercitava il proprio potere attraverso gli animali a lui sacri: cani e serpenti.

Presso il popolo persiano erano diffuse delle credenze circa i poteri, per così dire "sovrannaturali" dei cani.

La visione del soggetto animale è stata però esposta a varie metamorfosi nel passare dei millenni: dalla fase mistico-religiosa presso i popoli mesopotamico ed egizio ad un rapporto quasi paritario nella società odierna, passando attraverso una fase prettamente economico-utilitaristica.

Infatti, i rapporti ed i legami che l' uomo stabilisce con gli animali non sono un epifenomeno, ma un costitutivo del nostro essere.

Recentemente, nel rapporto dell'uomo con gli animali, si ravvisa un cambiamento importante, l'animale non è più estraneo all'uomo o

vicino a lui solo per fini utilitaristici, ma è un soggetto che partecipa con un ruolo non secondario alla vita di tutti i giorni e con il quale intratteniamo un rapporto “umano” basato sulla psiche (Claudio Tugnoli, *Zooantropologia. Storia, etica e pedagogia dell’interazione uomo animale*. Franco Angeli 2003, Milano).

2.2 L'impiego degli animali a fini terapeutici

L'intuizione che gli animali da compagnia potevano costituire un valido supporto terapeutico risale a tempi molto lontani. Già 2400 anni or sono, Ippocrate valutava gli effetti benefici che si traevano da una lunga cavalcata e la consigliava agli amici per combattere insonnia e ritemprare il fisico e lo spirito in situazioni che oggi definiremmo di "stress".

Tuttavia il primo studio realmente accertato circa l' impiego scientifico degli animali a scopo terapeutico a lungo termine risale al 1792, quando in Inghilterra, presso il York Retreat Hospital, lo psicologo infantile William Tuke, insieme ad alcuni suoi collaboratori, cominciò a curare i propri pazienti (malati mentali e lunatici) con dei metodi "umani" e non più barbari. La premessa da cui partivano questi studi preliminari era che le persone mentalmente malate e disturbate potevano ritornare in possesso delle loro ordinarie facoltà se venivano stimolate e incoraggiate verso attività alternative che permettessero di recuperare quell'autocontrollo che era stato perso, attraverso le tecniche di giardinaggio e di cura degli animali, fonte di stabilità e di equilibrio (Poli M., 1981, Psicologia animale e etologia, Il Mulino, Bologna).

Nel 1867 a Bielefeld, in Germania, venne fondato il Bethel Hospital: anche qui alcuni animali vennero utilizzati come parte integrante nel trattamento di recupero degli epilettici. Originariamente ideato per ospitare solo degenti sofferenti di epilessia, Bethel divenne poi un grande centro di accoglienza per persone disabili o con vari problemi, e gli oltre 5 mila pazienti (secondo una prima stima del 1977) venivano curati anche con l' ausilio degli animali.

Il primo impiego degli animali a scopo terapeutico negli ospedali è stato realizzato nel 1919 negli Stati Uniti, quando al St. Elisabeth's Hospital a Washington, vennero introdotti dei cani per curare i pazienti

che, a seguito del primo conflitto mondiale, avevano riportato gravi forme di depressione e schizofrenia.

Un secondo caso di applicazione della Terapia Assistita con l'ausilio di animali negli ospedali degli Usa fu realizzato nel 1942 dalla Croce Rossa presso l' Army Air Corps Convalescent Hospital, a Pawling, New York. Questo ospedale ospitò tutti quei soldati, per lo più aviatori, che avevano preso parte alla II Guerra Mondiale; anche qui, come nel caso del primo conflitto, i pazienti avevano riportato gravi lesioni a livello fisico ma anche turbe emotive e stati di shock.

Nel 1966 la terapia si estese anche alla Norvegia, dove i coniugi Stordahl fondarono un centro di recupero per non vedenti. Grazie al contributo di fisioterapisti e di volontari, il centro, tuttora attivo, ospitò cani e cavalli come componente fondamentale del programma terapeutico.

Ma se oggi la medicina e la scienza in generale hanno deciso di approfondire il tema della relazione uomo-animale da compagnia, il merito è in larga parte da attribuire ai pionieri di questa tecnica innovativa e complessa: il neuropsichiatra infantile Boris Levinson e i coniugi Corson.

Il concetto di "Pet Therapy" sembra sia stato enunciato per la prima volta proprio da Levinson, che già nel 1953 tentava di aiutare un bambino autistico, prigioniero dell'isolamento della sua malattia. In quell'occasione il bambino venne in contatto con il cane, presente per caso durante la terapia; appena scorse il cane, corse verso di lui e cominciò a giocare. Nelle sedute successive gradualmente Levinson si inserì nel gioco, e alla fine, riuscì a stabilire un buon rapporto con il suo piccolo paziente. Dopo questo episodio il neuropsichiatra impiegò, con altri pazienti, in maniera più sistematica animali da compagnia, come cani o gatti, secondo il tipo di paziente e sviluppò la teoria della "pet oriented child psychoterapy", basata sul gioco come mezzo di

comunicazione privilegiato tra animale e bambino (Levinson B., The dog as co-therapist. Ment Hyg.1962 Jan;46:59-65).

Le esperienze di Levinson furono riprese più tardi da due psichiatri americani, Samuel ed Elisabeth Corson, che studiarono l'interazione tra un gruppo di giovani pazienti affetti da turbe psichiche ed alcuni cani che vivevano presso l'ospedale di degenza dove essi operavano; quanto avveniva tra paziente, animale e terapeuta veniva video ripreso. Le registrazioni consentirono di analizzare sistematicamente gli incontri, evidenziando un miglioramento dei rapporti interpersonali tra pazienti e personale e tra gli stessi degenti. La conclusione che i due studiosi trassero da questa esperienza pratica fu che i cani rappresentavano uno strumento terapeutico aggiuntivo, in grado di facilitare la socializzazione.

2.3 La Pet Therapy

Il termine “Pet Therapy“ è un neologismo d’origine anglosassone traducibile in italiano con la definizione “uso terapeutico degli animali da compagnia“. In senso lato si intende un’alleanza terapeutica, una terapia di supporto che sfrutta i benefici psicologici derivanti dalla vicinanza, dal contatto tattile e visivo tra uomo e animale.

Il termine “Pet Therapy” è però un termine generico che indica sia le attività (AAA), sia le terapie (TAA) svolte con l’ausilio degli animali, ma è preferibile una maggior differenziazione (www.ministerodellasalute.it).

Si utilizza l’espressione “Attività Assistita dall’Animale” (AAA) per indicare gli interventi che hanno l’obiettivo di migliorare la qualità della vita delle persone a cui è rivolto. Gli interventi di AAA dovrebbero essere erogati da professionisti opportunamente formati, con animali che rispondono a determinati requisiti.

Nel caso delle AAA, gli obiettivi, anche se non terapeutici andrebbero comunque stabiliti, ma non c’è l’obbligo da parte degli operatori di raccogliere dati e informazioni nel corso delle visite, che, al contrario, vengono gestite con spontaneità e per una periodo di tempo non prestabilito.

La “Terapia Assistita dall’Animale” (TAA), invece, è un intervento che ha obiettivi specifici predefiniti, in cui un animale, che risponde a determinati requisiti, è parte integrante del trattamento. La TAA è diretta da un professionista, con esperienza specifica nel campo, nell’ambito dell’esercizio della propria professione.

Quindi, quando si parla di terapia è chiaro che si punta a ridurre gli effetti negativi che la malattia ha sulla salute del paziente. Rispetto alle Attività, che si prefiggono “semplicemente” di migliorare la qualità della vita delle persone, le Terapie con l’ausilio dell’animale, vanno ad

agire, integrando le altre terapie, su una malattia ben definita e seguono, pertanto, un preciso protocollo terapeutico.

La validità del ruolo dell'animale, sia nelle TAA, sia nelle AAA, consiste nelle sue funzioni di mediatore emozionale e di facilitatore delle relazioni sociali (Delta Society Handbook for Animal Assisted Activities and Animal Assisted Therapy Renton, WA, 1992).

Il rapporto con l'animale quindi, favorisce una comunicazione frutto di uno scambio di emozioni tra specie diverse, stimola il riconoscimento e l'accettazione della diversità. Questo atteggiamento rivolto agli animali può essere di stimolo all'umanizzazione complessiva della medicina che promuove lo spostamento dell'attenzione dalla malattia al malato e dal malato alla persona, intesa nella sua interezza psico-fisica, al fine di favorire lo studio e l'impiego di terapie complementari che intendono fornire risposte più integrate ai bisogni del malato e che, soprattutto, considerano la malattia non come un fatto isolato, ma come risultato di un complesso di eventi che riguardano biografia, ambiente sociale e situazione storica dell'individuo (Giaccon M., Pet Therapy, Edizioni Mediterranee, 1992, Roma).

Questa scienza nasce dall'indissolubile atavico rapporto con il mondo animale, rivisitato e rivissuto in chiave moderna. I nostri antichi progenitori avevano più contatti con il mondo animale che con i propri conspecifici. L'uomo contemporaneo è parte integrante di un meccanismo produttivo spesso assai esasperato, al di fuori del quale è sempre più solo ed isolato. La progressiva urbanizzazione e la scomparsa dell'antica e solidale civiltà contadina, l'ha relegato a vivere in ambienti metropolitani caotici e stressanti. E' in aumento il numero dei single, delle famiglie senza figli, o con figlio unico. Cresce in modo esponenziale l'esercito di animali cosiddetti "da compagnia" che condividono la nostra esistenza, nelle odierne abitazioni. Quella del pet, letteralmente "animale d'affezione prediletto" non è dunque una scoperta ma, attraverso la vicinanza dell'animale da compagnia, l'uomo

rinnova nel suo nuovo contesto di vita, un antico legame desiderato essenzialmente a livello inconscio. Il termine “Pet” ha un significato ambivalente, poiché può tradursi in: “animale d’affezione prediletto”, ma anche in: “accarezzare – coccolare”. La Pet Therapy fa leva su questa intramontabile esigenza dell’uomo e sul suo ruolo regolatore, distensivo e rassicurante a livello di psiche, in termini di soddisfacimento di un bisogno naturale. Il rapporto uomo-animale offre il vantaggio di essere privo di confronto, non competitivo, non verbale e quindi totalmente esente da messaggi contraddittori, quindi rilassante e distensivo, mentre qualsiasi relazione tra umani – per quanto familiare ed amichevole – impone sempre un doversi rapportare e confrontare con il conspecifico ed in tal senso, è sempre generatrice, seppur in minima parte, di stress e tensione. La comunicazione con l’animale, preferibilmente con il proprio, che avviene nelle forme più svariate, non potendo ovviamente far ricorso al linguaggio, garantisce un effetto calmante con conseguente diminuzione della pressione del sangue. Tale dialogo non conosce, infatti, rigide regole sociali e, soprattutto sentimenti competitivi distruttori. Inoltre, la soddisfazione del bisogno di affetto e di relazione "interpersonale" crea le condizioni di un buon equilibrio psico-fisico, specialmente nei bambini, negli anziani, nei malati. La Pet Therapy è una cooterapia dolce, priva di effetti collaterali, se applicata in maniera corretta e da personale specializzato. Il principio del metodo verte sulla capacità dell’animale di evocare emozioni forti nell’essere umano. Si viene a stabilire – in altri termini – un solidale legame empatico tra uomo ed animale, capace di comunicazione affettiva, in base ad un processo di identificazione che lega il paziente umano al pet. L’animale co-terapeuta agisce come soggetto attivo e tra lui e la persona trattata avviene uno scambio reciproco fatto di emozioni e di stimoli che provocano cambiamenti ed effetti positivi in entrambi.

Persone con problemi, con gli animali trovano un canale preferenziale, una sorta di accesso più facile per entrare in contatto

riuscendo a volte a sbloccare condizioni patologiche cronicizzate negli anni.

L'animale costituisce uno stimolo nuovo alla curiosità rendendo possibile il contatto e una comunicazione non convenzionale. Il prendersi cura dell'animale, favorisce il senso di responsabilità, quanto mai auspicabili nel caso di bambini e di adulti che hanno perso la fiducia in se stessi, garantendo un'immagine valida e positiva della propria persona e del proprio valore individuale. Infatti, dare da mangiare all'animale rappresenta il primo passo per stabilire un rapporto di fiducia poiché grazie al cibo si creano tutta una serie di informazioni ed emozioni che legano vicendevolmente uomini ed animali.

L'idea di utilizzare gli animali per migliorare la convalescenza dei malati o la realtà quotidiana di persone disabili è nata osservando gli effetti che derivavano dall'interazione tra persone malate e la presenza di un animale. Ad esempio per un anziano che deve riabilitare un arto sarà più piacevole e motivante muovere la mano dolente per lanciare una pallina, spazzolare o portare a spasso un cane, piuttosto che sottoporsi ad una classica seduta di fisioterapia; anche la degenza di un bambino in un reparto d'ospedale sarà meno pesante e più accettabile quando, come premio per un prelievo o un tampone, ci sarà ad aspettarlo un simpatico “amico a quattro zampe” con cui poter giocare e trascorrere momenti spensierati. In molti casi la vicinanza di un animale, per risolvere problemi relazionali, ha dimostrato di avere un effetto “aggiuntivo” a quello di molti farmaci o altre terapie convenzionali. E' stato dimostrato che accarezzare un animale, aumenta la coscienza della propria corporalità, essenziale nello sviluppo della personalità, ed interviene anche nella riduzione della pressione arteriosa e nella regolazione della frequenza cardiaca pertanto ipertesi e cardiopatici possono trarre vantaggio dalla vicinanza di un animale.

La Pet Therapy viene utilizzata anche come gioco, per la socializzazione, per favorire la comunicazione e per lo sviluppo e/o potenziamento della responsabilità e dell'autostima. È stato infatti rilevato da studi condotti già negli scorsi decenni e oggi comprovati da sempre più numerose esperienze, che il contatto con un animale, oltre a garantire la sostituzione di affetti mancanti o carenti, è particolarmente adatto a favorire i contatti inter-personali offrendo spunti di conversazione, di ilarità e di gioco.

In generale, la Pet Therapy sfrutta il rapporto speciale che certe persone instaurano con gli animali domestici per favorire il processo terapeutico, sia esso psicologico, fisico, sociale o una combinazione di questi.

Che si tratti di un coniglio, di un cane, di un gatto o di altro animale, scelto dallo zoterapeuta responsabile dell'intervento di Pet Therapy, la sua presenza solitamente risveglia l'interesse di chi ne viene a contatto, catalizza la sua attenzione, grazie all'instaurarsi di relazioni affettive e canali di comunicazione privilegiati con il paziente, stimola energie positive distogliendolo o rendendogli più accettabile il disagio di cui è portatore.

Vista la vastità di relazioni che si possono attivare tra uomo ed animale, anche gli ambiti applicativi dei vari progetti di Pet Therapy spaziano notevolmente sia per tipologia di paziente sia per finalità operative. Si suole però suddividere le diverse attività in tre aree specifiche che cercano di raggruppare le attività attuabili in funzione degli obiettivi auspicabili ed attuabili.

L'area Didattica agisce nell'ambito delle valenze educativo-pedagogiche derivanti dalla referenze animale. Il suo obiettivo primario è educare, attraverso attività didattiche, strutturate con progetti definiti e organizzati sulla base degli obiettivi da raggiungere. Queste attività vanno anche sotto il nome di Educazione Assistita con Animali (EAA).

Trova fertile applicazione in asili, scuole elementari, medie e superiori, istituti pedagogici, comunità alloggio e/o strutture particolari.

L'area Assistenziale riveste un ruolo importante nell'ambito zooantropologico e necessita di avere delineati obiettivi e finalità specifiche, emerse in fase consulenziale tra il Team Prescrittivo e/o il Responsabile del Progetto e il Referente di Struttura. Le attività svolte in quest'ambito vengono anche chiamate Attività Assistite con Animali (AAA) e sono rappresentate fundamentalmente da azioni intraprese di carattere ludico-ricreativo. La finalità è quella di migliorare la qualità della vita del fruitore. In queste applicazioni non necessariamente il rapporto utente-animale è di uno a uno, può variare in base a specifiche esigenze, a determinate scelte e/o procedure messe in atto.

Queste possono essere organizzate in modo tale che in una prima fase non sia presente fisicamente l'animale ma vi si faccia solo esplicito riferimento.

Possono anche essere il primo step per intraprendere poi attività più mirate e specifiche riconducibili ad un successivo progetto di assistenza terapeutica previo incontro del Team Multidisciplinare.

L'area Terapeutica comprende attività molto delicate e particolari, le quali richiedono, secondo il nostro modello, un setting strutturato in cui sono presenti il veterinario zoo terapeuta con il suo cane, che attraverso incontri preliminari con i medici dell'equipe, sa quali obiettivi perseguire con il singolo paziente o con il gruppo con cui lavora.

La buona riuscita di un progetto dipende da alcuni fattori determinanti, che possono essere così riassunti:

- l'uso di protocolli applicativi;
- l'impiego di figure professionali adeguate e motivate;
- l'impiego di pets adeguatamente preparati, controllati e tutelati;

- la disponibilità dell'utenza ad interagire con gli animali.

Le strutture comunitarie, siano esse diurne o residenziali, sono ambiti nei quali le AAA e le TAA trovano notevoli possibilità di applicazione sia con animali visitatori che con animali residenti.

Gli incontri e l'interazione con gli animali, se attuati con metodo, non comportano né rischi sanitari, come dimostreremo, né comportamentali per l'utente.

2.4 Riferimenti Legislativi

L'utilizzo di animali da compagnia ai fini di Pet Therapy è stato riconosciuto come cura ufficiale dal Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 28 febbraio 2003. Tale Decreto ha sancito per la prima volta nella storia del nostro Paese il ruolo che un animale può avere nella vita affettiva di una persona, nonché la valenza terapeutica degli animali da compagnia (www.salute.gov.it).

Tuttavia, in Italia non esiste al momento una legislazione specifica in materia, quindi la definizione di validi strumenti metodologici e di linee guida che regolino tali pratiche è un'esigenza sentita da tutte le categorie professionali che operano in questo campo, al fine di salvaguardare tanto la salute umana che il benessere degli animali impiegati nelle terapie (Terapie e attività assistite con gli animali: analisi della situazione italiana e proposta di linee guida. Francesca Cirulli e Enrico Alleva Rapporti ISTISAN 2007).

Il Documento del Comitato Nazionale per la Bioetica (CNB) del 2005, tratta due altri aspetti vicini e in buona parte correlati: il caso degli animali da assistenza e il caso dell'introduzione di un animale al seguito del proprietario in una struttura residenziale o di ricovero.

La stesura del documento ha considerato le implicazioni di carattere morale date dalla relazione tra un essere umano debole bisognoso di assistenza e l'animale, anch'esso degno di considerazione morale e di tutela del benessere.

La cosiddetta "Questione animale", cioè la preoccupazione morale di tutelare gli animali, è passata dall'essere un fenomeno elitario all'essere, ormai, una diffusa esigenza socio-culturale dei nostri giorni.

2.4.1 Professioni coinvolte

Certamente per applicare un protocollo terapeutico, è indispensabile un gruppo di lavoro, che deve vedere intersecarsi le competenze di più figure professionali, in modo che ciascuno possa dare l'apporto dovuto alla buona riuscita della terapia.

Così i professionisti, dalla formazione diversificata e con finalità operative apparentemente divergenti (medici, medici veterinari, e psicologi) lavoreranno insieme, creando delle sinergie d'intervento, per raggiungere gli obiettivi preposti.

Che si parli di Attività Assistita (AAA) o di Terapie Assistite con l'ausilio di Animali (TAA), la prima figura professionale coinvolta è quella del medico e/o psicologo poiché i fruitori della Pet Therapy sono esseri umani, ma ovviamente essi devono avvalersi della consulenza e della cooperazione di altre figure professionali.

Altrettanto imprescindibile è la figura del medico veterinario zoterapeuta che ha il compito di occuparsi della salute degli animali e della prevenzione delle malattie trasmissibili all'uomo e di condurre le Attività inserendosi in un modello culturale multidisciplinare e policentrico, deputato allo studio di questo rapporto uomo ed animale, atavico ed imprescindibile.

Risulta inoltre utile la presenza di un veterinario comportamentalista in grado di valutare l'animale e delegare, nel caso dei cani, all'educatore cinofilo la preparazione dell'animale per i compiti che dovrà affrontare nel corso delle sedute terapeutiche.

Nel momento in cui il confine tra umanità ed animalità diventa sempre meno definito e l'animale d'affezione, nell'accezione più comune del termine, diviene "familiare", anche il medico degli animali viene

chiamato ad estendere le proprie conoscenze sulle dinamiche affettivo-emozionali che entrano in gioco all'interno della coppia uomo-animale.

Ecco allora che egli diventa il referente educativo e il traduttore d'elezione del linguaggio animale, in grado di interpretare i diversi comportamenti e di decodificarli.

Inserire un animale in un contesto di disagio non significa di per sé attuare una terapia, ma alla base della progettazione di un intervento terapeutico devono sussistere una giustificazione logica, uno scopo preciso, una chiara metodologia, nonché ovviamente la selezione di animali adatti.

Il primo passo per ottenere i benefici attesi da un intervento di Pet Therapy è il giusto abbinamento animale-paziente; questa è una questione di non trascurabile interesse dove la figura del medico veterinario assume a ruolo di protagonista, in virtù della propria competenza nel conoscere le qualità etologiche e le attitudini del pet co-terapeuta. Poiché la personalità del paziente può essere influenzata dal temperamento dell'animale, è necessario che ci sia un'intesa tra i due. Nella selezione dell'animale più adatto bisogna prendere in considerazione diversi fattori, primo fra tutti il tipo di paziente cui esso è destinato, con particolare riferimento innanzitutto all'età e allo stato mentale dell'individuo, nonché alle sue capacità fisiche.

Gli animali maggiormente impiegati sono i cani, per i quali è necessario adottare un sistema di selezione che riesca ad individuare le diverse caratteristiche di ciascuna razza e del singolo soggetto, in considerazione della possibilità di ottenere la massima interazione con l'animale più vicino emozionalmente.

Pertanto vengono richiesti cani molto equilibrati, calmi, socievoli con gli esseri umani e con gli altri animali, preventivamente sottoposti a corsi di educazione cosiddetta "gentile", al fine di renderli facilmente gestibili ed adattabili a gran parte delle situazioni terapeutiche che

affronteranno nella loro veste di co-terapeuti e, al tempo stesso, inibire eventuali comportamenti causa di fastidio o addirittura pericolo per il paziente.

Il veterinario, inoltre, dovrà ulteriormente valutare le caratteristiche dell'ambiente di lavoro, così da scegliere se usufruire di animali da visita, accompagnati periodicamente presso la struttura in cui si opera, oppure di animali residenti, nel qual caso il pet dovrà essere scelto anche in base agli spazi disponibili per il ricovero, in relazione alle caratteristiche fisico biologiche dello stesso, quali la taglia e il peso, l'adattabilità all'ambiente chiuso e la necessità di moto (Di Pietro S., Gruppillo A.M., Pugliese A., Pet Therapy: ruolo del medico veterinario. Atti 1°Convegno Nazionale Pet Therapy: Nuovi Orizzonti Riabilitativi. Giardini Naxos, pp.161-165, 2000).

L'approccio tra animale e paziente deve essere monitorato attentamente dal veterinario zooterapeuta, in modo da valutare ed eventualmente migliorare l'interazione tra i due soggetti, da un lato riconoscendo e modificando situazioni che possono aumentare il rischio di reazioni aggressive, dall'altro cogliendo reazioni inadeguate del pet, quali atteggiamenti di aggressività o di paura.

Il ruolo del medico veterinario deve essere, inoltre, quello di assicurare, nel corso del trattamento, il benessere dell'animale, sia esso fisico che psicologico. Le reazioni dell'animale devono essere costantemente osservate, al fine di individuare eventuali alterazioni comportamentali, potenzialmente pericolose per il paziente e sintomatiche di un disagio organico per l'animale.

Prerequisito indispensabile per iniziare un'attività ed ancor più una terapia con l'ausilio di un animale è il controllo sanitario del pet: il medico veterinario, in accordo con la sua prioritaria veste di sanitario sarà il "garante" della salute animale e terrà presente che solitamente nella terapia riabilitativa ci si trova a dover interagire con soggetti spesso fortemente debilitati e, quindi, altamente sensibili alle patologie

infettive e parassitarie oltre che con quelle categorie, indicate dall'OMS più a rischio come bambini ed anziani.

Capitolo 3

3.1 Le zoonosi

Vengono definite zoonosi tutte quelle malattie che possono trasmettersi dagli animali all'uomo e viceversa. Nel 1959 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha adottato, per le zoonosi, la seguente definizione: "malattie e infezioni naturalmente trasmesse tra animali vertebrati e l'uomo".

Esse comprendono un gruppo eterogeneo d'infezioni, che possono essere di natura batterica, virale, parassitaria e da agenti non convenzionali (prioni).

Le zoonosi conosciute sono molto numerose (oltre 200 secondo OMS) e il loro studio costituisce uno dei settori di maggior interesse della medicina umana e veterinaria. Nel settembre 2004 è nato, infatti, Medvet-net un progetto, finanziato dall'Unione Europea, articolato in 15 istituti di Sanità Pubblica e veterinaria con il compito di prevenire e controllare le zoonosi, effettuare ricerche epidemiologiche e studi microbiologici e garantire una corretta gestione del rischio attraverso una stretta collaborazione tra medici e veterinari.

Le zoonosi stanno acquistando nel mondo moderno un'importanza sempre crescente, anche a causa dell'intensificarsi degli scambi commerciali di animali e prodotti d'origine animale tra i vari paesi, e la prevista possibilità di trapiantare organi animali nell'uomo (xenotrapianti) fa temere che agenti infettivi tuttora ignoti (virus, prioni, ecc.) possano passare dall'animale donatore (come il suino) al ricevente umano. Inoltre il pericolo della loro diffusione è ulteriormente aggravato dall'aumento degli animali, domestici e selvatici, che sempre più numerosi vivono in ambiente urbano e domestico.

L'interesse per questo tipo di malattie ha portato ad un ampliamento delle conoscenze ed ha spinto ad approfondire anche alcuni aspetti socio-economici.

In quest'ottica, recentemente il Professore Mantovani ha definito le zoonosi come un "danno alla salute e/o qualità della vita umana causato da relazione con (altri) animali vertebrati, o invertebrati commestibili o tossici". Accettata questa definizione, in aggiunta alle classiche malattie trasmissibili, sono considerate zoonosi anche: le malattie allergiche da contatto con animali o da ingestione di alimenti di origine animale; le malattie da sostanze chimiche (es. antibiotici) presenti negli alimenti d'origine animale; le malattie derivanti da morsi di serpente o da punture di artropodi.

Non sono invece zoonosi le malattie come la malaria, della quale non si ammala la zanzara anofele, ma soltanto l'organismo umano. Le zoonosi possono diffondersi da un animale all'altro e dagli animali all'uomo, mentre di solito non si trasmettono da un uomo all'altro e pertanto l'uomo si ammala soltanto tramite gli animali. Gli animali possono trasmettere la malattia direttamente all'uomo (ad es. nel caso della Rabbia, della Tubercolosi, della Brucellosi ecc.) oppure indirettamente, vale a dire che non è necessario stare in contatto con l'animale per ammalarsi, ma è sufficiente venire a contatto con oggetti o ingerire cibi che, a loro volta, sono stati contaminati dagli animali infetti tramite le loro feci ed urine (ad es. Leptosirosi, Criptosporidiosi ecc) o tramite l'ingestione di cisti parassitarie (Echinococcosi, Trichinosi).

Nel novembre del 2003 il Parlamento Europeo ha emanato una direttiva (99/2003 CE) recepita in Italia con il Decreto Legislativo 4 aprile 2006, n. 191 del 25 Maggio 2006 che ha come obiettivo un'adeguata sorveglianza delle zoonosi, degli agenti zoonotici e della resistenza agli antimicrobici ad essi correlata ed un'adeguata indagine epidemiologica dei focolai di tossinfezione alimentare, per consentire di raccogliere le

informazioni necessarie ad una valutazione delle relative tendenze e fonti.

In base al Decreto n. 191 le zoonosi ed gli agenti zoonotici da sottoporre a sorveglianza sono:

- Brucellosi e relativi agenti zoonotici;
- **Campilobatteriosi e relativi agenti zoonotici;**
- Echinococcosi e relativi agenti zoonotici;
- Listeriosi e relativi agenti zoonotici;
- **Salmonellosi e relativi agenti zoonotici;**
- Trichinellosi e relativi agenti zoonotici;
- Tubercolosi causata da *Mycobacterium bovis*;
- **Escherichia coli che produce verocitotossine.**

Ad oggi, le zoonosi, che l'OMS indica come le più frequenti, sono la Campilobatteriosi e la Salmonellosi, ma per entrambe, cani, equidi e volatili non sono riconosciuti come serbatoi principali pertanto la loro ricerca non avviene in maniera sistematica. L'aumento di infezioni sostenute proprio da *Campylobacter*, *Salmonella* ed *Escherichia coli* ci ha spinto a controllare tutti quegli animali che partecipano a programmi assistiti e che quindi vengono a stretto contatto con categorie definite a rischio, come bambini, anziani e immunodepressi.

3.2 *Campylobacter* termotolleranti

3.2.1 Eziologia

I membri della famiglia delle *Campylobacteriaceae* sono commensali o parassiti dell'uomo, degli animali domestici e selvatici. I *Campylobacter* possono presentare morfologia spirale, ad "ala di gabbiano" o ad "S" italica con un diametro di 0,2-0,8 µm e una lunghezza di 0,5-5 µm; Gram negativi e non sporigeni. Sono mobili per la presenza di un flagello ad una delle due estremità. Crescono quasi esclusivamente in ambiente microaerofilo e richiedono una concentrazione atmosferica d'ossigeno variabile dal 3 al 15%, e di anidride carbonica dal 3 al 5%. L'optimum di crescita è di 30-37°C. La tipica caratteristica biochimica è la riduzione del fumarato a succinato e per la maggior parte delle specie, la riduzione dei nitrati e la presenza di attività ossidasica. Alcune specie risultano patogene per l'uomo e per gli animali. Sono stati isolati negli organi riproduttivi, tratto intestinale e cavità orale di uomini e animali.

3.2.2 Principali Specie del Genere *Campylobacter*

C.fetus: esistono due sottospecie, *C.fetus* subsp. *fetus* e *C. fetus* subsp. *veneralis*, entrambi considerati patogeni primari. *C.fetus* subsp. *fetus* causa aborto negli ovini e aborti sporadici nei bovini, così come infezioni sporadiche nell'uomo. *C.fetus* subsp. *veneralis* causa aborti e infertilità nei bovini.

C.jejuni e *C.coli*: sono i più importanti *Campylobacter* enteropatogeni per l'uomo. Di *C.jejuni* sono riconosciute due sottospecie: *C. jejuni* subsp. *jejuni* e *C. jejuni* subsp. *doylei*. La distinzione tra *C. jejuni*

subsp. *jejuni* e *C.coli* resta ancora un importante problema tassonomico. Il test più comune per differenziare le due specie è il test dell'idrolisi dell'ippurato, nel quale *C.coli* risulta negativo .

C.lari: differisce da *C.jejuni* e *C.coli* per la sua resistenza all'acido nalidixico. E' stato isolato da contenuto intestinale di gabbiani e altri animali, pesci di fiume, e occasionalmente da feci umane. La sua patogenicità non è ancora nota.

C.upsaliensis* e *C. helveticus: sono entrambi catalasi negativi. *C.upsaliensis* è stato isolato da campioni ematici e feci di uomo, cane e gatto, *C.helveticus* non è stato isolato da feci umane.

C.hyointestinalis: inizialmente isolato da suini ed in seguito anche da altre fonti quali intestino di criceto, stomaco di suino, bovino e cervo, infine feci di uomo.

3.2.3 Epidemiologia

Nei paesi dove esiste una sorveglianza per le infezioni da *Campylobacter* risulta evidente come il numero di isolamenti di questo microrganismo superi anche di molto, in alcune circostanze, quello degli isolamenti da *Salmonella*. In Francia la prevalenza di infezione da *Campylobacter* risulta uguale a quella da *Salmonella* mentre in Olanda la prevalenza risulta più elevata di quella delle salmonellosi. In Danimarca le *campylobacteriosi* sono notevolmente aumentate negli ultimi 10 anni ed in Svezia la loro prevalenza rimane elevata malgrado l'attuazione di efficaci programmi di sorveglianza sul serbatoio animale. Si può dire che in generale nei Paesi del Nord Europa, ma anche nelle regioni del Nord Italia, la prevalenza delle infezioni da *Campylobacter* supera quella di *Salmonella*, mentre viceversa accade per i paesi del Sud. Se ciò rifletta o meno il diverso standard igienico sanitario o le differenze climatiche non è del tutto chiaro. Considerando comunque che nei sistemi di sorveglianza di laboratorio l'incidenza delle infezioni in generale e di quelle da *Campylobacter* in particolare è senza dubbio sottostimata, risulta ovvio che queste ultime rappresentino un serio problema in termini di Sanità Pubblica in quasi tutti i paesi (Altekruse et al., 1999; Tauxe, 1992). La maggior parte dei casi di infezione da *Campylobacter* sembra avvenire in modo sporadico. Episodi epidemici vengono infatti raramente identificati (CDC, 1998; Evans et al., 1998; Furtado et al., 1998). La malattia sembra colpire prevalentemente l'età infantile e i giovani adulti. Negli Stati Uniti il tasso di isolamento di *Campylobacter* più elevato si registra tra i bambini. In tutti i paesi dove è attiva una sorveglianza di laboratorio si osserva una stagionalità dell'infezione da *Campylobacter* con un marcato picco nella tarda primavera e un picco secondario in autunno; ciò contrasta con l'andamento delle salmonellosi che mostrano generalmente un picco di 6-8 settimane più tardi. Il controllo delle enteriti da *Campylobacter spp.* dipende in larga parte dalla

comprensione dei meccanismi fisiopatologici della malattia, dalla epidemiologia ed alla individuazione dei reservoir. In base alle conoscenze attuali, alcuni animali da allevamento, selvatici e domestici, costituiscono le principali fonti di contagio. In uno studio effettuato in Italia nel 2007 in un allevamento di fagiani, ubicato in provincia di Napoli, su 120 tamponi cloacali esaminati sono stati isolati 104 *Campylobacter* termotolleranti (Dipineto et al., 2007). Di questi 84/104 erano *C. coli*, mentre 20/104 erano costituiti da *C. coli* e *C. jejuni*. *C. jejuni* veniva isolato esclusivamente in corso di infezioni miste assieme al *C. coli* che risultava, quindi, presente in tutti i 104 campioni positivi. Per quanto riguarda l'età è stata riscontrata esclusivamente in esemplari adulti.

La conoscenza delle modalità di trasmissione di *Campylobacter* all'uomo rimane ancora incompleta. Alcune fonti alimentari sono rappresentate da carni poco cotte, il pollame, il latte, i molluschi consumati crudi. Ulteriori fattori di rischio sono rappresentati dal contatto giornaliero con cani, gatti e soprattutto cuccioli affetti da diarrea (Kapperud et al., 1993 ; Jacobs –Reitsma ,1997).

3.2.4 Patogenesi e sintomatologia nell'uomo

L'infezione da *Campylobacter* porta ad un'alterata capacità assorbente dell'intestino, causata da un danno alla funzione delle cellule epiteliali, successiva all'invasione cellulare, alla produzione di tossine, o alla comparsa di una risposta di tipo infiammatorio. I fattori di virulenza che entrano in gioco durante l'infezione sono molteplici: molecole di adesione e di invasione, proteine della membrana esterna, proteine da stress, flagelli e motilità. Le prime fasi della colonizzazione intestinale sono rappresentate dall'adesione alla mucosa, a livello delle cripte ripiene di muco presenti nella parete ciecale. La successiva penetrazione sembra essere facilitata dalla mobilità del batterio, il cui moto a vite facilita la penetrazione dello strato di muco che ricopre l'epitelio intestinale e la conseguente colonizzazione cellulare. Ulteriori elementi che entrano in gioco a livello della barriera protettiva sembrano essere fattori chemiotattici ed una varietà di adesine. La penetrazione di *Campylobacter* causa un riarrangiamento delle componenti citoscheletriche della cellula ospite che, dopo essere stata infettata, rilascia citochine infiammatorie, compresa l'interleuchina 8, che promuovono il reclutamento dei linfociti e delle cellule fagocitiche nel sito d'infezione. L'induzione dell'apoptosi, da parte di *C. jejuni*, nelle cellule ospiti promuove la sopravvivenza e la trasmissione del patogeno. La presenza di sangue nel campione fecale nei casi di gastroenterite da *Campylobacter* è il risultato di questo meccanismo patogenetico a carattere invasivo e infiammatorio (Caprioli A. et al., 1996). L'enterite da *Campylobacter* si manifesta con diarrea acuta, simile all'infezione indotta da altri agenti patogeni quali *Salmonella* e *Shigella*. Clinicamente appare indistinguibile da queste infezioni anche se la presenza di prodromi febbrili senza diarrea, intensi dolori addominali e prostrazione dovrebbero favorire la diagnosi di enterite da *Campylobacter*. La diagnosi definitiva può essere fatta con l'isolamento diretto di *Campylobacter* dalle feci. Non ci sono

sostanziali differenze tra l'infezione causata da *C.jejuni* e *C.coli*. L'esordio è improvviso, con crampi addominali rapidamente seguiti da diarrea; circa il 30% dei pazienti presenta una fase prodromica simil-influenzale con cefalea, mialgia e febbre, la quale può essere sufficientemente elevata da causare convulsioni nei bambini (Jones et al., 1981) o delirio negli adulti. Inoltre, nel 22 % dei pazienti sono stati registrati brividi. L'esordio con diarrea denuncia la natura intestinale dell'infezione. Si presenta comunemente profusa, acquosa e con residui biliari. Dopo i primi giorni di diarrea, appare nel 15 % dei pazienti, sangue vivo nelle feci, indicando una progressione dell'infezione colon e retto. La nausea è un sintomo frequente ma solo il 15 % dei pazienti presenta vomito. Un aspetto particolare è il dolore addominale che può essere continuo e intenso mimando un episodio di appendicite acuta. Dopo un periodo variabile, circa 3-4 giorni dalla malattia, la diarrea comincia ad attenuarsi e le condizioni del paziente tendono al miglioramento, anche se i dolori addominali persistono per alcuni giorni (Blaser et al., 1979; Pitkannen et al., 1983). I pazienti continuano ad eliminare con le feci i *Campylobacter* per alcune settimane dopo la guarigione clinica. Particolari aspetti dell'infezione sono :

Appendicite: Il dolore addominale nell'enterite da *Campylobacter* può essere intenso e continuo. In molti pazienti l'appendice non è interessata e il dolore sembra essere causato dall'ileite terminale e dall'adenite mesenterica. In ogni modo, può verificarsi una forma di appendicite propriamente detta dove il batterio può essere isolato direttamente dall'appendice infiammata.

Colite: Biopsie rettali eseguite su pazienti affetti da *Campylobacteriosi* hanno evidenziato lesioni ascrivibili a colite proctite (Blaser et al., 1980). In molti pazienti la colite è la lesione dominante e in questi casi risulta difficoltoso distinguerla da un IBD (inflammatory bowel disease –malattia infiammatoria intestinale). A differenza delle IBD, le lesioni sono focali ed è presente solo una piccola disorganizzazione delle

cripte o della mucosa, inoltre vi è una scarsa deplezione delle cellule mucipare (Mc Kendrick et al., 1982 ; Mee et al., 1985).

Intussuscezione falsa: Talvolta nei bambini affetti da enterite da *C.jejuni/coli* è possibile l'emissione di sangue con le feci senza diarrea; ciò può portare a diagnosi errata di intussuscezione con conseguente laparotomia. E' questa un'altra evenienza in cui la diagnosi di laboratorio rapida può risultare essenziale.

Emorragia intestinale: E' un evenienza rara che può portare erroneamente a diagnosi di malattia infiammatoria cronica dell'intestino.

Megacolon tossico: Il megacolon tossico è stato riportato, come complicazione, in alcuni pazienti affetti da enterite da *Campylobacter* (Gould, 1985).

3.3 *Escherichia coli*

3.3.1 Eziologia

Escherichia coli è un batterio ubiquitario Gram negativo, di forma allungata e diritta, anaerobio facoltativo, asporigeno, generalmente mobile, appartenente alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*. E' un importante componente della microflora commensale del tratto intestinale dell'uomo e degli animali, ma alcuni ceppi possiedono caratteristiche di virulenza, quali la produzione di tossine e l'espressione di fattori di adesione e invasione della mucosa intestinale, che li rendono capaci di provocare infezioni intestinali sia nell'uomo che negli animali. Lo sviluppo di tali caratteristiche è generalmente legato all'acquisizione di plasmidi di virulenza e a particolari segmenti di DNA cromosomico, detti "isole di patogenicità", che hanno consentito l'evoluzione dei ceppi patogeni rispetto ai comuni ceppi commensali. *E. coli* può essere classificato su base sierologica utilizzando antigeni, le differenze di struttura antigenica del liposaccaride (LPS) somatico (antigene O), degli antigeni flagellari (H) e quelli capsulari (K). Fino ad ora è nota l'esistenza di 170 antigeni O, 56 antigeni H e 80 antigeni K (Ruffo). È stata inoltre individuata l'esistenza di numerosi antigeni fimbriali o adesine indicati con la lettera F, numerati progressivamente, che conferiscono ai ceppi che ne sono provvisti la capacità di aderire e colonizzare la mucosa intestinale. I ceppi di *E.coli* responsabili di tossinfezioni sono classificati in vari gruppi in base alle caratteristiche di virulenza, al meccanismo patogenetico, alla sindrome clinica determinata e anche al sierogruppo O a cui appartengono. Gli stipiti di *E.coli* enteropatogeni sono :

ETEC (Enterotoxic *E. coli*): i ceppi enterotossigeni sono provvisti di fimbrie attraverso le quali aderiscono alle cellule dell'epitelio intestinale, opponendosi così alla rimozione determinata dalla peristalsi

e sono in grado di sintetizzare enterotossine termolabili (LT), sensibili al pH acido e/o termostabili (ST), resistenti al pH acido. Questi ceppi sono i maggiori responsabili di diverse enteropatie nei vitelli, agnelli e suinetti nel periodo neonatale (diarrea colibacillare neonatale) e post-svezzamento, nonché di diarree infantili (nei paesi in via di sviluppo) e di una sindrome nota come "diarrea del viaggiatore" nell'uomo (Navarro Garcia F. et al 2001).

EAEC (Enteroaggregative *E. coli*): attualmente sono compresi nel gruppo degli *E. coli* enteroaderenti i ceppi che non producono enterotossine (LT e/o ST) e che aderiscono alle cellule intestinali determinando quadri di adesione aggregativa (AA) "agregative adherence". Tali ceppi sono associati a forme di diarrea infantile persistente in paesi come Brasile, Cile, Messico, India (Navarro Garcia F. et al. 1997).

EIEC (Enteroinvasive *E. coli*): i ceppi enteroinvasivi sono in grado di aderire, invadere e distruggere gli enterociti causando la perdita di parti di mucosa intestinale. Vari fattori di patogenicità quali la capsula, le adesine e l' α - emolisina sono fondamentali per la loro sopravvivenza. Essi sono responsabili di infezioni setticemiche, di tossiemie, nonché di enterocolite emorragica.

EPEC (Enteropathogenic *E. coli*): i ceppi enteropatogeni sono associati a numerose epidemie di diarrea infantile e neonatale nei paesi in via di sviluppo, meno nei paesi industrializzati, inoltre sono causa di forme di diarrea cronica nei vitelli, suinetti, conigli e cuccioli di cane (Wada Y. et al., 1996). Una volta venivano classificati sulla base dei sierotipi O e H, mentre oggi sono definiti in base alla presenza istopatologica delle caratteristiche lesioni di "attaching-and-effacing" (A/E) cioè attacco e distruzione.

EHEC (Enterohemorrhagic *E. coli*): i ceppi enteroemorragici, chiamati anche VTEC (Verocytotoxin *E. coli*), costituiscono una particolare classe

di *E. coli* il cui rappresentante più importante è l'*E. coli* O 157:H7 capaci di sintetizzare potenti tossine dette Verocitossine (VT1 e VT2) in quanto furono scoperte grazie alla loro attività citotossica sui monostrati cellulari di cellule VERO (*African green monkey kidney*) o Shiga toxins (Stx1 e Stx2) per le affinità chimiche e biologiche con la tossina elaborata da *Shigella dysenteriae* di tipo 1 (Buchanan and Doyle, 1997). Le VT sono responsabili di gravi patologie sia nell'uomo (colite emorragica e sindrome uremica-emolitica) che negli animali (malattia degli edemi e dell'angiopatia cerebrospinale del suino determinate dalle varianti della VT2).

3.3.2 Epidemiologia

In Italia nel periodo tra il 1998 e il 2004 sono stati notificati complessivamente 344 casi di infezione da VTEC nella popolazione umana (Enternet-italia). La distribuzione dei casi di infezione da VTEC per mese evidenzia una marcata stagionalità. La maggior parte dei casi (67%), infatti si presenta durante la stagione calda tra giugno e settembre con un picco nel mese di agosto (Enternet-italia). Nel nostro paese il primo caso di *E. Coli* O157 è stato descritto nel 1988, quando è stato stabilito un sistema di sorveglianza nazionale della sindrome emolitico uremica (SEU) in età pediatrica, la manifestazione clinica più caratteristica e grave dell'infezione da VTEC (Caprioli et al 1997). Fino al 31 maggio 1997 sono stati notificati 196 casi , per un incidenza media di 0.2 casi per 100.000 residenti nella fascia d'età 0-15 anni. Questa incidenza è relativamente bassa, risultando 4-5 volte inferiore a quella riportata in Gran Bretagna, Germania e altri paesi d'Europa centrale (Caprioli A. et al 1994). Le infezioni da VTEC non sembrano ancora rappresentare una causa frequente di gastroenterite in Italia. In due studi condotti esaminando stipiti di *E. coli* con capacità di produrre VT, isolati da bambini con diarrea, sono stati identificati ceppi VTEC rispettivamente nello 0% e 0,8% dei pazienti esaminati. Recentemente, in collaborazione con l'Associazione Microbiologi Clinici Italiani, è stata condotta un'indagine mediante questionario per verificare il livello di attenzione dei laboratori di microbiologia clinica verso le infezioni da VTEC O157. I risultati hanno indicato che solo un terzo circa dei laboratori include l'isolamento di *E. coli* O157 nei propri protocolli.

L'infezione da *E. coli* O157 è una zoonosi, le indagini effettuate nell'ambito di episodi epidemici confermano come reservoir principale dell'*E. coli* il bovino, cui seguono ovini, caprini ed erbivori selvatici. La presenza di VTEC nei bovini, che rappresentano il principale serbatoio naturale di questa infezione, è stata confermata da studi condotti dall'ISS in collaborazione con gli Istituti Zooprofilattici

Sperimentali della Lombardia –Emilia (Caprioli, A., et al. 1993) e delle Venezie (Conedera, G., et al., 1997), che hanno mostrato la presenza di VTEC, incluso *E.coli* O157, nelle feci di vitelloni. Il batterio si localizza nel tratto digerente, nella parte distale e a livello ruminale, in assenza di sintomatologia e raggiunge l’ambiente esterno attraverso l’escrezione fecale. Oltre a bovini, ovini, caprini, cervi, anche altre specie animali sono state associate a casi d’infezione umana da VTEC O157 e l’isolamento del microrganismo è stato segnalato, sia pur sporadicamente, anche in cavalli, cani, oche, tacchini, gabbiani, piccioni, ratti, mosche. In generale si può ipotizzare che molte specie non ruminanti possono rappresentare un ospite accidentale, il cui ruolo come fonte di disseminazione ambientale e di esposizione per l’uomo non va tuttavia sottovalutato, anche considerando che in alcuni animali (suini, polli) è stata dimostrata sperimentalmente la colonizzazione ciecale con prolungata escrezione fecale. Gli uccelli selvatici possono inoltre contribuire alla diffusione di VTEC anche a grande distanza (Caprioli et al, 2005). Il ruolo dei volatili è sempre più delicato in quanto piccioni e gabbiani sono importanti veicoli di diffusione di infezioni zoonotiche per la loro capacità ubiquitaria di sopravvivere sia nelle metropoli, ove è presente l’uomo, sia in luoghi ove sono presenti animali (in particolar modo i gabbiani attraverso la migrazione). Infatti i gabbiani non sono considerati dei veri serbatoi ma dei potenziali vettori per la possibilità di disseminare il patogeno su lunghe distanze (Wallace et al.1997).

Il primo approccio analitico in cui i volatili sono stati considerati come vettori dell’ *E. coli* O157:H7 è stato svolto da Wallace nel 1996 in uno studio in cui è stata isolata la verocitotossina dell’ *E. coli* O157:H7 prevalentemente dai gabbiani. Gli studi sono stati svolti sui volatili selvatici perché spesso implicati nella trasmissione di altri batteri patogeni come *Campylobacter spp.* La presenza del patogeno è il risultato di un alimentazione varia nei volatili selvatici che comprende rifiuti urbani, consumo di pesce contaminato, di acque contaminate, di

foraggi inquinati (Caprioli et al., 2005). In questo studio, non a caso, sono stati analizzati campioni di soggetti presenti nella discarica di Lancaster e nella baia di Morecambe (UK). Inoltre, da Gennaio a Luglio 2006 è stato operato un programma di ricerca dal Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Settore Patologia Aviaria, della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Napoli Federico II, con lo scopo di valutare la presenza di *Escherichia coli* VTEC in piccioni presenti sul territorio della città di Napoli ed in special modo in quelle aree dove è maggiore la possibilità di contatto da parte di bambini ed anziani, notoriamente più suscettibili, nonché da parte di lavoratori comunali (giardinieri, netturbini, etc.) che possono venire a contatto con ambienti contaminati anche solo dalle feci di tali volatili. L'isolamento batterico, confermato dalla PCR multiplex, ha evidenziato la presenza di 4 ceppi di *E. coli* O157:H7 nei 504 campioni analizzati (Santaniello et al., 2006). Recentemente, Dipineto et al. (2006) hanno isolato ceppi di *Escherichia coli* O157:H7 produttori di shigatossine da galline ovaiole vive. Il campionamento è avvenuto mediante l'impiego di tamponi sterili effettuati, a differenza di altri Autori, direttamente in cloaca. I microrganismi isolati in questa ricerca veicolavano i geni *eae* ed *hly* che, identificati da diversi Autori come marker di patogenicità per l'uomo, possono essere considerati importanti agenti di zoonosi. Inoltre, le galline ovaiole analizzate in questa indagine erano apparentemente in buono stato di salute e ciò ha spinto gli Autori a considerare tale specie animale un reservoir alternativo di *E. coli* O157 produttori di *shigatossine*.

PATOGENESI E SINTOMATOLOGIA NELL' UOMO

Il processo patogenetico dell'infezione da EHEC può essere riassunto nella seguente successione di eventi:

1. il microrganismo, dopo l'ingestione, colonizza la mucosa intestinale aderendo agli enterociti con il meccanismo di *attaching/effacing*;
2. rilascio di verocitossine e il passaggio della tossina nel circolo sanguigno, facilitato dal contatto intimo tra il batterio e le cellule della mucosa;
3. raggiungimento del tessuto bersaglio che è costituito dagli endoteli vasali del distretto intestinale e renale dove provocano danno endoteliale che rappresenta l'evento iniziale delle lesioni microangiopatiche e dei fenomeni trombotici caratteristici dell'infezione da EHEC.

Le manifestazioni cliniche associate all'infezione da *E. coli* O157:H7 dipendono dal livello di tossiemia e possono variare dallo stato di portatore asintomatico, alla diarrea acquosa non ematica, fino alle forme gravi di colite emorragica (HC), caratterizzata da forti dolori addominali e abbondante perdita di sangue con le feci, e alla sindrome emolitico-uremica (SEU). Il periodo di incubazione può variare da uno a otto giorni, con una media di tre giorni dopo l'ingestione di alimento o acqua contaminati. Inizialmente la malattia si manifesta con forti crampi addominali e diarrea acquosa non ematica che diventa ematica in 48 ore circa. Nel 30-60% dei casi sono presenti nausea e vomito, e la febbre, in genere modesta, è documentata solo nel 30% dei casi (Caprioli et al., 2005). Nelle forme non complicate i sintomi si attenuano fino a scomparire intorno al 7^o-8^o giorno. Edema ed emorragie della sottomucosa sono apprezzabili specialmente a livello del colon ascendente e trasverso, mentre l'esame endoscopico mette in

evidenza la mucosa fortemente edematosa, iperemica con ulcere e pseudomembrane superficiali (Nataro and Kaper, 1998). Dei soggetti che presentano colite emorragica il 5-7 % evolve verso la sindrome uremica emolitica. L'HUS insorge circa una settimana dopo il manifestarsi dei primi sintomi gastrointestinali e colpisce principalmente i bambini al di sotto dei 5 anni e i soggetti anziani, oltre i 65 anni di età (Nataro and Kaper, 1998). È caratterizzata dall'anemia emolitica, dalla trombocitopenia e dall'insufficienza renale acuta (Buchanan R.L and Doyle M.P., 1997). Il 3-5 % dei soggetti con SEU vanno incontro a morte, mentre circa il 15% ad insufficienza renale cronica, un ulteriore 8% manifesta altre complicazioni quali ipertensione del colon, pancreatite, cecità, convulsioni e coma (Donneberg M.S. and Whittam T.S., 2001). Simile alla SEU è la PTT che si manifesta nella seconda settimana di malattia e colpisce principalmente gli adulti. Essa differisce dalla sindrome uremica emolitica per il fatto che generalmente causa meno danni renali, coinvolge il sistema nervoso centrale determinando la comparsa di attacchi epilettici ed ictus (Buchanan R.L and Doyle M.P., 1997). La maggior parte dei soggetti con HC guariscono entro 5-10 giorni senza alcun trattamento specifico. L'uso di antibiotici non sembrerebbe migliorare il decorso della malattia ma, al contrario, potrebbe portare ad un peggioramento delle complicazioni renali (www.cdc.gov).

3.4 Salmonella

3.4.1 Etiologia

I batteri appartenenti al genere *Salmonella* sono microrganismi bastoncellari, Gram negativi, aerobi/anaerobi facoltativi, appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*. Sono prevalentemente mobili per la presenza di flagelli peritrichi, anche se vengono descritti sierotipi immobili, quali *S.Gallinarum* ed *S.Pullorum*. La temperatura ottimale di crescita è 37° C, il pH ottimale varia tra 6,5-7,5, tuttavia possono svilupparsi rapidamente anche su substrati più acidi o basici. Valori di pH superiori a 9 e inferiori a 4,5 hanno effetto battericida; catabolizzano il glucosio ed altri carboidrati con produzione di gas, sono ossidasi negativi e catalasi positivi.



Figura 1 – Morfologia di Salmonella spp al m.e.

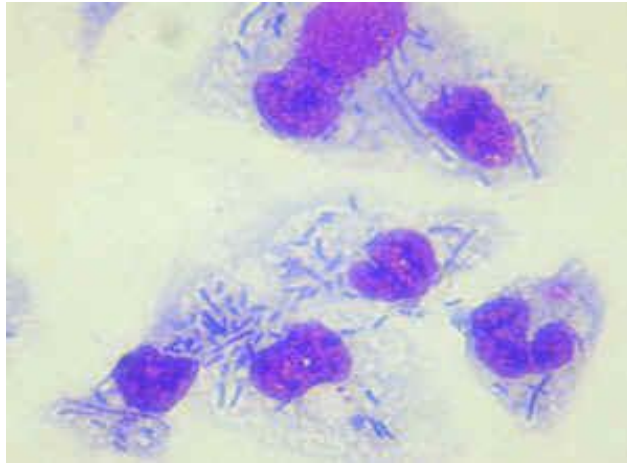


Figura 2 – Salmonella al m. o. dopo colorazione di Gram

A partire dal secolo scorso, l'identificazione e la classificazione di questi microrganismi sono stati basati sullo schema sierologico ideato da White ed elaborato da Kauffmann. Inizialmente i ceppi di *Salmonella* isolati da diverse forme cliniche, o diverso ospiti, venivano considerati come specie distinte, a cui veniva attribuita una nomenclatura che faceva riferimento al tipo di malattia causata, o all'animale da cui venivano isolate (es.: *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. typhimurium*). Successivamente, nel 1952, Kauffmann ed Edwards identificarono una sola specie comprendente tutti i sierotipi: *Salmonella enterica*. Ogni differenza nella struttura antigenica (antigeni somatici O e flagellari H, nelle reazioni biochimiche, nella distribuzione geografica o di ospite venne attribuita all'interno di questa singola specie. Attualmente, le *salmonelle* vengono distinte in più di 2.400 sierotipi e in due sole specie :*S. enteritidis* e *S. bongori*. La specie *enterica* è a sua volta suddivisa, sulla base delle diverse caratteristiche biochimiche, in sei sottospecie: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *houtenae*; peraltro i nomi sono mantenuti solamente per i sierotipi appartenenti a *S. enterica* subsp. *enterica*, mentre quelli ascrivibili alle altre sottospecie vengono identificati attraverso le relative formule antigeniche. Sono in realtà solo i batteri appartenenti a *S. enterica* subsp. *enterica* ad essere in

grado di colonizzare l'intestino dell'uomo e degli animali a sangue caldo. Queste *Salmonelle*, ed in particolare *S.enteritidis* ed *S. Typhimurium*, vengono in tutto il mondo annoverate fra i principali agenti di tossinfezione alimentare umana e sono caratterizzate dalla presenza di reservoir animali che permettono il mantenimento di cicli epidemiologici variabili ed estremamente articolati.

3.4.2 Epidemiologia

Le infezioni da *Salmonella* in Italia provocano circa 15.000 casi/anno e rappresentano un importante problema di sanità pubblica sia per l'elevata morbosità, sia per il peso economico che loro comportano. Le infezioni provocate da *Salmonella* si distinguono in forme tifoidee sostenute da *S.typhi* e *S.paratyphi*, responsabili della febbre tifoide e delle febbri enteriche in genere, in cui l'uomo rappresenta l'unico serbatoio del microrganismo e forme non tifoidee causate dalle cosiddette *Salmonelle* minori (come *S.typhimurium* e la *S.enteritidis*), responsabili di forme cliniche a prevalente manifestazione gastroenterica. Per quanto riguarda le salmonellosi in generale nel corso del tempo si è verificata una cospicua diminuzione dei casi di febbre tifoidea. Tale diminuzione può essere ascritta alle migliorate condizioni igieniche ambientale e di produzione degli alimenti. Per quanto riguarda i dati relativi ai casi di infezione da *Salmonella* non tifoidea, queste hanno subito un aumento.

Per controllare l'elevata capacità di diffusione dei batteri enteropatogeni è attivo un sistema di sorveglianza denominato Enter-Net . Dal 1997 è attivo anche a livello nazionale il sistema Enter-net Italia, basato su una rete di laboratori di microbiologia coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità. Gli obiettivi primari sono la sorveglianza delle infezioni da *Salmonella spp.*, da *Escherichia coli* O157 e altri *E.coli* produttori di vero-citotossina (VTEC), e di infezioni

sostenute da altri batteri enteropatoogeni. La rete integrata Enter-Net ed Enter-Vet raccoglie ogni anno dati riguardanti circa 6.000 isolamenti di *Salmonella* da fonte umana e altrettanti da fonte non umana (animali, alimenti, ambiente). Le informazioni sui principali sierotipi e fagotipi isolati da queste fonti contribuiscono alla comprensione dell'ecologia delle *Salmonelle* e dell'epidemiologia delle infezioni da esse sostenute. La maggior parte dei dati relativi agli isolamenti di *Salmonella* proviene dai laboratori di riferimento della rete Enter-net presenti nel Nord e nel Centro Italia, mentre il Sud non risulta sufficientemente rappresentato. Per quanto riguarda la stagionalità delle infezioni da *Salmonella*, come per le altre malattie enteriche, sono più frequenti nei mesi estivi. In particolare la elevata temperatura favorisce la replicazione dei microrganismi. Solo una piccola parte delle infezioni rilevate dal sistema riconoscono una matrice alimentare, nella grande maggioranza dei casi la sorgente di infezione rimane infatti ignota. Come è noto, infatti, *Salmonella* spp. comprende numerosissimi sierotipi che possono riconoscere anche serbatoi naturali ed ecologie del tutto diverse. Il riconoscimento del sierotipo è particolarmente utile nello studio della catena di trasmissione e nelle indagini sulle epidemie. I due sierotipi di più frequente riscontro in Italia sono *S.enteritidis* e *S.typhimurium*, il primo con un serbatoio prevalentemente aviario ed il secondo ubiquitario. Fino all'anno 2000 la maggior parte degli isolamenti riguardava *S.enteritidis*, ma dal 2001 il sierotipo typhimurium è diventato più frequente.

3.4.3 Patogenesi e sintomatologia nell'uomo

La patogenesi delle infezioni da *Salmonella* è un fenomeno complesso e multifattoriale. Una volta avvenuta l'ingestione del microrganismo, lo sviluppo di un'infezione sintomatica dipende dal numero di batteri ingeriti (la dose minima infettante è ipotizzata tra 10^2 e 10^3 cellule), ma può variare nei diversi sierotipi e in dipendenza delle condizioni dell'ospite. Sono più colpiti da salmonellosi gli individui molto giovani (neonati) o molto anziani e quelli con ridotte difese immunologiche. Anche fattori ambientali giocano un ruolo non trascurabile, essendo comprovato l'effetto nocivo della temperatura elevata, del grado di umidità, del sovraffollamento e dell'inquinamento chimico. In seguito all'ingestione, il batterio colonizza l'intestino, invade la mucosa intestinale e stimola la migrazione transepiteliale dei leucociti polimorfonucleati (PMN) con induzione di diarrea. In soggetti molto giovani o immunocompromessi l'infezione può propagarsi dall'intestino e divenire sistemica determinando meningite, polmonite e aborto (Darwin KH e Miller VL., 1999). Le salmonelle possiedono diversi fattori di virulenza, necessari ad attuare tutte le fasi dell'infezione: sistemi di difesa che permettono la sopravvivenza in ambienti a pH acido, utili per superare la barriera gastrica; fattori che intervengono al momento della colonizzazione dell'intestino permettendo al batterio di aderire efficacemente alle cellule del lume intestinale (fimbrie di tipo 1 e 3); fattori che consentono di attraversare l'epitelio intestinale a livello delle placche di Peyer o di sopravvivere nei macrofagi. Nell'uomo possiamo riconoscere quattro forme di salmonellosi:

1. la classica **febbre tifoide**, caratterizzata da una grave sintomatologia sistemica, trasmessa per contatto diretto e sostenuta da ceppi autoctoni umani. Raggiunge percentuali elevate di mortalità nei bambini e in pazienti debilitati;

2. la **forma gastroenterica**, caratterizzata da un breve periodo di incubazione (12-24 h), sostenuta da ceppi di origine animale veicolati con gli alimenti. Le manifestazioni cliniche più imponenti denotano un interessamento dell' apparato digerente (diarrea nel 50-100% dei casi, dolori addominali nel 40-90%, febbre nel 40-80%, nausea e vomito nel 20-50%). La sintomatologia regredisce in 2-4 giorni e nella gran parte dei casi la guarigione è completa, ma il soggetto può rimanere portatore ed eliminare batteri con le feci;
3. la **forma localizzata a vari organi e/o apparati** sotto forma di ascessi, empiemi, artriti, meningiti, osteomieliti, colecistiti, sostenute da vari ceppi di origine alimentare;
4. la **forma cronica**, asintomatica, provocata da ceppi adattati, assai pericolosa dal momento che i soggetti colpiti eliminano temporaneamente le salmonelle o ne divengono portatori cronici.

Parte sperimentale

Scopo della ricerca

Nell'ambito delle attività di ricerca, del triennio di dottorato, sono state condotte Attività e Terapie Assistite da Animali in diverse centri e più precisamente, Attività con l'Ausilio del cane, presso la Residenza Sanitaria per Anziani (RSA) Colonia Geremicca afferente al Dipartimento delle fragilità dell'ASL Na1; Programmi Educativi con l'Ausilio degli equidi presso alcune Scuole Medie Statali di Napoli e fattorie didattiche; Terapie Assistite da cani presso la Fondazione Istituto Antoniano di Ercolano; Attività che coinvolgevano animali da cortile e cani presso l'Ospedale Psichiatrico Giudiziario di Aversa.

Gli animali coinvolti negli interventi assistiti, sono stati regolarmente sottoposti a controlli sanitari di routine che, per gli animali d'affezione sono di competenza dei servizi veterinari dell'ASL e per gli equidi del Medico Veterinario aziendale, ma essendo gli animali possibile veicolo di alcune zoonosi si è ritenuto opportuno sottoporre i cani, gli equidi e gli altri animali coinvolti anche ad uno screening per la ricerca di *Salmonella* spp., *Campylobacter* termotolleranti ed *Escherichia coli* enteropatogeni.

Il motivo di questo approfondimento è legato al fatto che durante gli Interventi Assistiti è tale il contatto fisico che si instaura tra fruitore ed animale, da far presumere che realmente possa esistere un rischio zoonosico spesso sottostimato e non considerato. Infine, è opportuno sottolineare l'assenza di una normativa nazionale precisa e dettagliata che prenda in considerazione un qualunque tipo di protocollo sanitario ufficiale destinato agli animali coinvolti nella Pet Therapy. Inoltre, a questo proposito vi è un vuoto legislativo, poiché gli unici riferimenti legislativi sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, tra l'altro non rivolte agli animali coinvolti nelle attività di Pet Therapy, si riferiscono alla DIRETTIVA 2003/99/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 17 novembre 2003.

4.1 Materiali e metodi

4.1.1 Gli Interventi Assistiti con il cane presso l’RSA Colonia Geremicca

Presso la Residenza Assistenziale Sanitaria (RSA) Colonia Geremicca afferente all’ASL Na1 è stato proposto un Intervento Assistito da Animali, finalizzato alla riduzione dell’isolamento degli anziani attraverso la stimolazione delle capacità relazionali perse e la partecipazione ad attività di gruppo con il cane.

Gli incontri si sono tenuti durante le ore pomeridiane in un giorno fisso della settimana con cadenza quindicinale. Prima di ogni seduta l’equipe esterna, costituita da un Veterinario Zooterapeuta con il suo cane e da uno Psicologo, si sono incontrati con i Geriatri e il personale paramedico della struttura, per conoscere lo stato psico-fisico di ogni paziente e per concordare insieme, in base a queste notizie, come svolgere l’intervento. A seconda delle condizioni cliniche dei partecipanti, oltre che delle condizioni meteorologiche, gli incontri si sono tenuti nella sala comune o in giardino.

Tutti gli interventi sono stati filmati, previa autorizzazione firmata dai pazienti o dai loro parenti, per poter essere sottoposti alla supervisione dello Psicologo dell’equipe e di tutto il gruppo di ricerca, al fine di valutare il setting, le modalità di svolgimento dell’intervento stesso, il comportamento del cane e quello dello Zooterapeuta.

Gli animali coinvolti sono stati due cagnette Labrador: Nina di 5 anni e Camilla di 7 anni. Gli anziani che hanno partecipato al progetto, secondo quanto hanno riferito i Geriatri e gli infermieri della struttura, hanno presentato notevoli miglioramenti dal punto di vista sociale: trascorrendo più tempo insieme anche al di fuori dell’attività di Pet Therapy.

Durante gli interventi sono state proposte diverse attività di cura e gioco con il cane che hanno consentito un rapporto diretto e ravvicinato di ogni anziano con l’animale senza tralasciare l’attenzione all’aspetto igienico-sanitario.

I risultati ottenuti sono stati supportati dall'utilizzo e somministrazione di Test psicologici di Settore e dalla valutazione clinica fatta dalla componente medica dell'équipe costituita da Psicoterapeuta, Neuropsichiatra e Geriatra.

4.1.2 Terapie Assistite con il cane presso la Fondazione “Istituto Antoniano”

Presso la Fondazione “Istituto Antoniano” di Ercolano è stato proposto un progetto di Pet Therapy, rivolto ai bambini del Centro e finalizzato a sollecitare l’attenzione e l’interesse verso l’altro e verso l’ambiente; ampliare le abilità relazionali e comunicative; facilitare l’apprendimento motorio e l’acquisizione di schemi d’azione più funzionali; migliorare le capacità di autocontrollo comportamentale e facilitare la modulazione dell’impulsività.

Gli incontri si sono tenuti un giorno fisso alla settimana; prima di ogni seduta l’équipe esterna si è incontrata con i Neuropsichiatri e il personale paramedico della struttura, per conoscere lo stato psico-fisico di ogni paziente e per concordare insieme, in base a queste notizie, come svolgere l’intervento.

I bambini che hanno partecipato avevano tra i 3 e i 15 anni e presentavano un disturbo del movimento di origine centrale (PCI) o periferica (malattia neuromuscolare) di entità moderata-grave alla quale si accompagnava ritardo mentale e/o difficoltà relazionali secondarie.

Tutti gli interventi sono stati filmati, come previsto dal regolamento dell’Istituto, e sottoposti alla supervisione dello Psicologo dell’équipe e di tutto il gruppo di ricerca, al fine di valutare il setting, le modalità di svolgimento dell’intervento stesso, il comportamento del cane e quello dello Zooterapeuta.

Il cane coinvolto è stata Nina, una Labrador di 5 anni.

Ai bambini che hanno partecipato al progetto sono state proposte attività strutturate sotto forma di gioco, come la conduzione del cane al guinzaglio in uno spazio destinato, letture di libri sugli animali con il cane affianco che è stato reso partecipe, stimolazione dei bambini stessi alla verbalizzazione, strutturazione di giochi che coinvolgevano il cane per la stimolazione psicomotoria ed altro, attività di accudimento del cane come la somministrazione di cibo o acqua e spazzolamento. In tutte queste

attività sono stati coinvolti, per quanto possibile, i caregiver o gli operatori con il fine di creare relazioni armoniche senza mai perdere di vista l'aspetto igienico sanitario.

4.1.3 Interventi Educativi con l'ausilio degli equidi presso alcune scuole medie statali

Presso alcune Scuole Medie Statali di Napoli è stato svolto un intervento di zooantropologia didattica con l'ausilio degli equidi. Il progetto è stato articolato in quattro incontri in aula, per fornire agli alunni nozioni sulla storia, il mito di questi animali ma anche sulle sue caratteristiche etologiche e comportamentali; ed un incontro conclusivo con asini o con i cavalli.

Le lezioni in aula hanno previsto una prima parte di didattica frontale con l'ausilio di immagini e video ed una parte successiva in cui è stato richiesto ai ragazzi di elaborare disegni, lavori e attività con il fine di renderli maggiormente abili per l'incontro con gli animali.

L'incontro conclusivo, svoltosi all'interno delle fattorie didattiche, ha consentito ad ogni ragazzo di stabilire un contatto diretto con gli animali; facendo affidamento sulla curiosità e la voglia di esplorare; innata dei ragazzi, sono state proposte attività che gli hanno permesso di trovarsi liberi tra gli animali, di poterli osservare nelle loro interazioni senza la necessità di montarli consentendogli così di vivere con loro un rapporto alla pari che si allontana sempre più dal concetto di dominanza dell'animale.

I ragazzi hanno potuto vivere, attraverso il contatto con gli equidi, un'esperienza nuova e stimolante, che come rilevato dalle insegnanti può diventare (se opportunamente mediata) un momento di crescita che facilita il raggiungimento di specifici obiettivi pedagogici e offre ai ragazzi opportunità di educazione ed istruzione.

4.1.4 Interventi Assistiti con l'ausilio dei volatili da cortile l'Ospedale Psichiatrico Giudiziario (OPG) Filippo Saporito

L'intervento con gli Animali proposto, all'OPG di Aversa, è stato finalizzato all'accudimento, al prendersi cura di sé, ad ampliare le conoscenze etologiche e zootecniche sugli animali, ad accrescere l'autostima e a sviluppare le autonomie.

Attraverso il prendersi cura di un animale, si agisce, infatti, su aspetti caratteristici del paziente depresso, come la difficoltà a relazionarsi con l'altro e con l'ambiente esterno; la cura di sé invece coinvolge processi psichici e affettivo-emotivi rivolti verso l'individuo quali l'autostima, la consapevolezza corporea, la percezione di sé come individuo inserito nell'ambiente e l'investimento di risorse energetiche sulla propria persona; attraverso l'approfondimento delle caratteristiche etologiche e zootecniche delle specie animali che vivono nell'area verde si è cercato di facilitare la comunicazione e la socializzazione tra gli internati.

Gli animali coinvolti sono stati tutti quelli ospitati all'interno della vasta area verde, dell'OPG, e precisamente cani meticci, pecore, capre, conigli e volatili [germani (*Anas platyrhynchos*), anatre, anatre mute (*Cairina moschata*), fagiani (*Phasianus colchicus*), oche (*Anser anser*), galline e galli (*Gallus gallus domesticus*)]. Gli internati che hanno partecipato al progetto sono stati quelli con disturbo depressivo maggiore con innesto psicotico.

Gli incontri hanno avuto cadenza bisettimanale, le attività proposte hanno previsto momenti di cura, gioco ed educazione con il cane con la presenza dei responsabili del progetto ed attività di cura degli altri animali presenti con la guida degli operatori della struttura.

Prima di ogni seduta l'équipe esterna ha incontrato con il Neuropsichiatra e il personale paramedico della struttura, per conoscere lo stato psico-fisico di ogni paziente.

Alla fine di ogni incontro è stato previsto un momento di relax, seduti ai tavolini, all'ombra degli alberi da frutta, in un ambiente che ricordava

molto il parco di paese, gli internati hanno avuto la possibilità di parlare degli animali e dell'esperienza vissuta, ciò ha stimolato molto velocemente la ri-creazione di uno spazio familiare nel rispetto dei loro tempi. Si sono, pian piano, ottenuti i primi miglioramenti nella sfera relazionale e comunicativa, confermati anche dai test psicologici a cui gli internati sono stati sottoposti.

4.2 Tecniche di isolamento batterico ed identificazione

4.2.1 *Escherichia coli* produttori di shigatossine

Per l'isolamento batterico sono state seguite le metodiche standard internazionali (UNI EN ISO 16654:2003).

Nella prima fase della sperimentazione, i campioni pervenuti al Centro Sperimentale Avicunicolo di Varcaturò, sono stati trasferiti dalle provette originarie, contenenti 5 ml di PBS, a provette contenenti Buffered Peptone Water (BPW). BPW è un terreno di coltura costituito da peptone (1-2%) e cloruro di sodio in acqua distillata (0,5%), comunemente usato come terreno di prearricchimento (prima dell'arricchimento selettivo) nell'isolamento di alcuni batteri. Dopo essere stati incubati a 37°C per 24 h in termostato, i campioni si sono presentati torbidi, a testimonianza di una avvenuta crescita batterica. Nella seconda fase del processo, è stata prelevata un'aliquota di BPW da ogni provetta ed è stata seminata su terreno Mc Conkey Agar. Il Mc Conkey Agar è un terreno selettivo per enterobatteri, costituito da sali biliari e rosso neutro, i quali inibiscono la crescita di batteri Gram positivi. Il lattosio presente in questo terreno, permette di differenziare gli enterobatteri in batteri fermentanti il lattosio (*E. coli*), da quelli non fermentanti tale zucchero (es. *Salmonella*). Successivamente, previa incubazione a 37°C per 24 ore, il terreno Mc Conkey Agar è stato esaminato per la valutazione dei risultati: le colonie fermentanti il lattosio si sono presentate di un colore rosa intenso, le colonie non fermentanti hanno assunto un colore tendente al giallo.

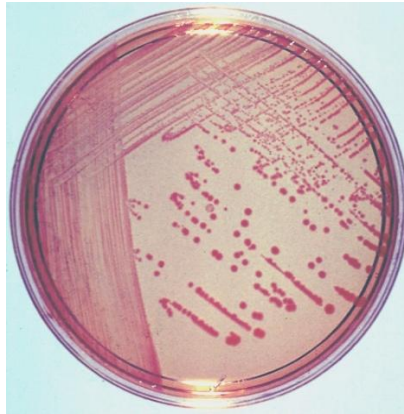


Fig.1 Piastra di Mac Conkey agar positiva per *E. coli*

Successivamente, alcune colonie “sospette” per *E. coli*, sono state seminate su agar TBX (Tryptone Bile X-Gluc Agar) ed incubate alla temperatura di 42°C per 24 ore. Il TBX è un terreno selettivo e cromogenico, la cui azione selettiva è dovuta alla presenza dei sali biliari, inibitori per i batteri Gram positivi; l’azione differenziale è esplicata dal substrato cromogenico X-GLUC (5-bromo-4-cloro-3 indolil- β -D-glucuronide), l’idrolisi del quale, attraverso l’enzima β glucuronidasi, dà luogo alla formazione di un pigmento blu-verde.



Fig.2 Piastra di TBX positiva per *E. coli*

E. coli, tra gli enterobatteri, è una delle poche specie β -glucuronidasi positiva, insieme a qualche sierotipo di *Salmonella* e *Shigella*, e quindi cresce sul terreno con colonie blu o verde-blu. Gli enterobatteri β glucuronidasi negativi crescono con colonie incolori.

L'indagine è poi proseguita con l'inoculazione delle colone di *E. coli* su Triple Sugar Iron Agar a becco di clarino con incubazione a 37°C per 18-24 ore.

4.2.1.1 Sierotipizzazione

I ceppi identificati come *Escherichia coli* sono stati testati per valutare il sierotipo mediante sieri polispecifici e monospecifici:

1. Anti-Coli I → sierotipo O26
2. Anti-Coli II → sierotipi O55, O111, O128
3. Anti-Coli III → sierotipi O103, O124, O145, O157, O164

4.2.2 *Salmonella* spp.

I tamponi rettali e cloacali sono stati processati seguendo la procedura internazionale standardizzata ISO 6579, metodica di isolamento batterico utilizzata principalmente per gli alimenti ma adattata all'uso nel nostro studio come di seguito indicato:

Pre-arricchimento in brodo non selettivo: i campioni sono stati inoculati in Buffered Peptone Water ed incubati in termostato a 37° C per 24 ore.

Arricchimento in brodo selettivo: le colture ottenute sono state inoculate in Rappaport-Vasiliadis Broth in rapporto 1:10 ed incubate in termostato a 42° C per 24 ore.

Semina su terreno selettivo: 10µl delle colture precedentemente ottenute sono state seminate su agar selettivo Brilliant Green Agar ed incubate in termostato a 37°C per 24 ore con il fondo della piastra rivolto verso l'alto.

Conferma: le colonie presuntive di *Salmonella* spp. Sono state seminate su terreni cromogenici (Rambach Agar), terreni differenziali (Triple Sugar Iron Agar) ed identificati biochimicamente per confermare ed identificare il genere *Salmonella* spp.

Selezione delle colonie per la conferma: per confermare il test, sono state selezionate un totale di 5 colonie tipiche o "sospette" dal Brilliant Green Agar. Se fossero state presenti meno di 5 colonie, tutte le colonie disponibili sarebbero state selezionate.

Semina su terreno cromo genico: semina di 5 colonie caratteristiche (i.e. colore rosso) dal Brilliant Green Agar che sono risultate negative al test dell'ossidasi su terreno cromogenico Rambach Agar ed incubare a 37 °C per 24 ore.

Identificazione biochimica tramite API 20E: è stata preparata una sospensione batterica prelevando una colonia ben isolata, preferibilmente giovane (18-24 ore), da Rambach Agar o da Brilliant Green Agar ed è stata inoculata in una fiala di API Suspension Medium (5 ml). La sospensione è stata accuratamente mescolata e sottoposta al test API 20E. Successivamente la sospensione batterica è stata

introdotta nelle microprovette della galleria e proseguire seguendo le istruzioni del produttore incubando a 37°C per 24 ore.

Semina su TSI agar: con un'ansa da 1µl o un ago, una colonia identificata come *Salmonella* spp. da Rambach Agar o da Brilliant Green Agar è stata inoculata, in Triple Sugar Iron Agar (TSI) facendo attenzione ad infiggere prima la colonia in profondità dell'agar e a strisciarla, successivamente, sulla superficie inclinata a “becco di clarino”. Successivamente è stata incubata a 37° C per 24 ore.

Campylobacter termotolleranti

I campioni sono stati seminati in 9 ml di brodo di arricchimento selettivo “Campylobacter Selective Enrichment Broth” (Oxoid) e trasportati in laboratorio. I campioni sono stati mantenuti in ambiente microaerofilo (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) ottenuto mediante l’ausilio di giare per microaerofilia e “Campygen Atmosphere Generating Kit” (Oxoid).

L’incubazione (42°C per 24h), entro le 2 ore successive al campionamento, è stata effettuata presso i laboratori del Centro Sperimentale Avicunicolo di Varcaturò, sede distaccata del Dipartimento di Patologia e Sanità Animale dell’Università di Napoli Federico II.

Trascorso il periodo d’incubazione, un’aliquota del brodo di arricchimento selettivo è stata seminata su agar selettivo “Campylobacter Blood-free Selective Agar Base, Modified CCDA-Preston” (Oxoid) (Fig.3). Le piastre sono state incubate nelle apposite giare per 48h a 42°C sempre in condizioni di microaerofilia.

Su agar selettivo le colonie di *Campylobacter spp.* si presentano di color grigio-crema, piatte o leggermente rilevate, umide, mucose e sciamanti.

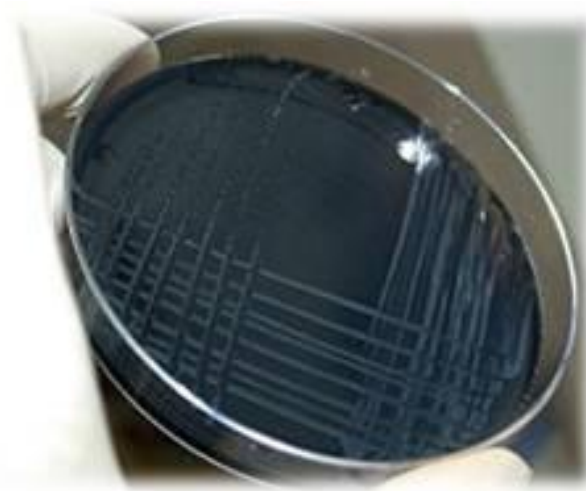


Fig.3 Colonie di *Campylobacter* su Preston Agar

Successivamente, è stata prelevata una colonia “caratteristica” per effettuare, in macrometodo, i test dell’ossidasi e della catalasi utilizzando rispettivamente il “test dell’ossidasi” (bioMeri ux) ed il test “ID color catalase” (bioMeri ux).

Le colonie positive ad entrambi i test biochimici sono state osservate al microscopio ottico (ingrandimento 100X ad immersione), previo allestimento di vetrini, per valutare la morfologia batterica. La colorazione   stata effettuata con la tecnica di Gram utilizzando come colorante di contrasto la fucsina a causa della difficolt  dei *Campylobacter* nell’assorbire la safranina (Schwartz et al., 1983).

Le colonie “sospette” sono state prelevate dall’agar selettivo e seminate su “Blood Agar Base n.2” (Oxoid) addizionato con il 5% di sangue di montone o bovino, per effettuare una sub-coltura in purezza del ceppo isolato ed incubate a 42 C e a 25  C per ulteriori 24h, sempre in condizioni di microaerofilia. La crescita alle diverse temperature ha permesso di differenziare le specie termotolleranti quali *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* (crescita a 42  C) dalle altre (crescita a 25 C).

Trascorso il periodo di incubazione, le colonie cresciute a 42  C sono state sottoposte a prove biochimiche e di sensibilit  agli antibiotici per l’identificazione di specie.

L’idrolisi dell’ippurato   stato il primo test biochimico utilizzato per differenziare *C.jejuni* (positivo al test) da *C.coli* e *C.lari* che non hanno la capacit  d’idrolizzare l’acido ippurico.

Il test   da considerarsi positivo se il campione assume un’intensa colorazione porpora entro 5 minuti dall’aggiunta della soluzione di ninidrina.

I ceppi isolati sono stati poi conservati a – 80 C sospesi in 1ml di “Brucella Broth” (Biolife) addizionato con il 20% di glicerolo in attesa di essere sottoposti ad una multiplex PCR.

4.2.3.1 PCR multiplex

Il DNA è stato estratto mediante PrepMan sample reagent (PE Applied Biosystems, Foster City, USA) seguendo le istruzioni consigliate dal produttore.

La presenza specifica del genere *Campylobacter* è stata ricercata attraverso l'amplificazione del gene cadF usando i primer cadF2B, 5'-TTG AAG GTA ATT TAG ATA TG-3' e cadR1B, 5'-CTA ATA CCT AAA GTT GAA AC-3' come descritto da Konkel et al. (1999).

Tutti gli estratti di DNA sono stati esaminati anche per la presenza delle specie *C. jejuni* e *C. coli* rispettivamente mediante i primer C-1, 5'-CAA ATA AAG TTA GAG GTA GAA TGT-3', C-4, 5'-GGA TAA GCA TAG CTA GCT GAT-3' e COL1, 5'-ATG AAA AAA TAT TTA GTT TTT GCA-3', COL2, 5'- ATT TTA TTA TTT GTA GCA GCG-3', come descritto da Winters et al. (1997) e Gonzalez et al. (1997).

Le condizioni per la PCR sono state calibrate come suggerito da Cloak & Fratamico (2002).

L'amplificazione è stata effettuata in un volume totale di 50 µl contenente 5 µl di DNA templatato purificato. Inoltre, erano presenti 10 mM Tris-HCl (pH 8.4), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 µM per ciascun deossinucleotide trifosfato, 0.40 µM (ciascun) primers cadF2B, cadR1B, COL 1, COL 2, C-1, e C-4, e 1.25 U di Taq DNA polimerasi (Gibco-BRL). Come marker è stato impiegato un Gene Ruler 100 bp DNA ladder (Fermentas International Inc.).

I campioni sono stati sottoposti ad una denaturazione iniziale a 94 °C per 4 min, seguita da 30 cicli di amplificazione a 94 °C per 1 min, 52 °C per 1 min, e 72 °C per 1 min ed una estensione finale a 72 °C per 5 min in un thermal cycler Model 9600 (PE Applied Biosystems).

I prodotti PCR sono stati separati mediante elettroforesi su gel di agarosio all'1.5% (Gibco-BRL, Milan, Italy), colorati con etidio bromuro e visualizzati tramite luce UV.

4.3 Cani

4.3.1 Campionamento

Nel periodo compreso tra settembre 2010 e gennaio 2012, sono stati controllati 70 cani padronali che hanno partecipato ai programmi assistiti o che hanno avuto accesso alle aree dove queste attività vengono regolarmente svolte e il campionamento è stato effettuato mediante un tampone rettale.

Per la ricerca di *Escherichia coli* produttori di shigatossine e *Salmonella* spp. il tampone è stato posto in una provetta sterile contenente 5 ml di phosphate buffered saline (PBS). Tali campioni sono stati conservati alla temperatura di 4° C e sono stati trasportati presso il Centro Sperimentale Avicunicolo di Varcaturò, sede distaccata del Dipartimento di Patologia e Sanità Animale dell'Università Federico II di Napoli, in meno di 12 ore.

Per la ricerca di *Campylobacter* il tampone è stato seminato in provette sterili contenenti 6ml di brodo di arricchimento selettivo "Campylobacter Selective Enrichment Broth" (OXOID). I tamponi sono stati trasportati in apposite giare "Anaerogen" per microaerofilia, all'interno della quale è stata inserita il "Campygen Atmosphere Generating kit" (OXOID) nel tentativo di ridurre al minimo lo stress ed il rischio di morte del *Campylobacter*.

4.3.2 Risultati e discussione

I risultati ottenuti nella presente indagine (tab.1)hanno evidenziato la presenza di STEC da 11/70 animali esaminati. In particolare sono stati isolati 6/11 E. coli O26; 4/11 E. coli O55; 1/11 E. coli O111; 1/11 E. coli O128 ; 4/11 E. coli O145; 1/11 E. coli O164. I ceppi di STEC riscontrati durante l'indagine, sono mostrati nella tabella seguente:

Positivi	Anti-coli I						Anti-coli III					
		O26	O55	O111	O128	O103		O124	O145	O157	O164	
3757-2	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
3757-8	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3757-10	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3757-11	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3759-16	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
3759-17	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
3763-3	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-
3763-7	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3773-4	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
3773-5	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3773-10	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+

Tab.1 Cani Positivi per E.Coli

I risultati ottenuti da alcuni campioni si sono rivelati alquanto interessanti, poiché alcuni animali risultavano positivi a più ceppi di E. coli. Per esempio, un cane è risultato positivo per E. coli O26, O55 e O128 contemporaneamente mentre un altro, per E. coli O26, O55, e O145.

Due cani inoltre, hanno dato risultati positivi per *E. coli* O26 e O145 e per *E. coli* O111 e O145 simultaneamente.

Dai risultati ottenuti nella presente indagine si evidenzia che su un totale di 70 tamponi rettali prelevati da cani non è mai stato isolato *E. coli* O157. Tuttavia, l'isolamento batterico e la seguente sierotipizzazione, hanno evidenziato la presenza di *Escherichia coli* produttori di shigatossine in 11 dei 70 campioni presi in esame. Il dato assume grande rilievo in quanto da una disamina della letteratura disponibile, gli animali da compagnia ed in particolare i cani sono raramente segnalati come serbatoi di STEC.

Da quanto esposto, risulta chiaro come il monitoraggio di specie diverse da quelle considerate serbatoio d'infezione da *E. coli* patogeni, sia utile a fornire dei dati interessanti che siano in grado di arricchire ulteriormente la letteratura scientifica internazionale ponendo l'accento sull'eventualità del rischio zoonosico proveniente dal contatto tra le specie animali prese in esame ed altre, compreso l'uomo. È opportuno ricordare, inoltre, che le infezioni sostenute da questi microrganismi possono causare manifestazioni cliniche molto gravi (in particolar modo Colite Emorragica e Sindrome Emolitico Uremica) e che la dose infettante è particolarmente bassa.

Dei 70 prelievi effettuati, 20 sono risultati positivi per *Campylobacter* termotolleranti e mediante le prove di identificazione biochimica è stato possibile differenziare le diverse specie. Infatti 5 tra i campioni sono risultati positivi alla prova dell'idrolisi dell'ippurato e sembrerebbero appartenere al sierotipo di *C. jejuni*. Dei restanti 15 ceppi, 13 apparterrebbero al sierotipo coli e 2 ad altre specie non termofile in quanto sono risultati negativi alla prova dell'ossidasi.

Positivi	Sierotipo Jejuni	Sierotipo Coli	Sierotipi non termofili
3757-12	+	-	-
3757-1	-	+	-
3757-6	-	+	-
3757-7	-	+	-
3757-10	-	+	-
3757-18	-	+	-
3757-9	+	-	-
3759-12	-	+	-
3759-7	-	+	-
3763-10	+	-	-
3759-13	-	+	-
3759-17	+	-	-
3759-18	-	+	-
3763-14	-	+	-
3763-18	-	+	-
3773-19	-	-	+
3773-20	+	-	-
3773-1	-	-	+
3773-6	-	+	-
3773-13	-	+	-

Tab.2 Cani Positivi per Campylobacter

I risultati da noi ottenuti, sull'isolamento del *Campylobacter*, e la percentuale del 30% rilevata sono in linea con le ricerche di altri autori.

Secondo la letteratura ufficiale, però, le prevalenze di isolamento del *C. jejuni* sono maggiori in quei soggetti affetti da sindrome gastroenterica con diarrea; invece la maggior parte dei cani controllati e risultati positivi per *C. jejuni* erano asintomatici.

Dunque è ipotizzabile un ruolo di commensale dell'apparato digerente nel cane per questo germe, piuttosto che di patogeno in grado di sviluppare una sintomatologia clinicamente manifesta.

L'elemento emerso è davvero significativo perché le persone che partecipano ai programmi assistiti da animali fanno parte delle categorie che l'OMS considera a rischio, bambini, anziani ed immunodepressi, quindi più suscettibili a contrarre malattie, inoltre accarezzano spesso gli animali venendo anche a contatto con zone, come quella perianale altamente a rischio.

In merito alla ricerca e isolamento di *Salmonella* spp., tutti i 70 campioni di cane analizzati sono risultati negativi.

4.4 Equidi

4.4.1 Campionamento

La fase di raccolta campioni negli equidi è stata effettuata nel periodo tra Marzo 2012 e Gennaio 2013, su animali, privi di una qualsiasi sintomatologia clinica riferibile a salmonellosi.

Nelle cinque fattorie didattiche analizzate, dove sono stati portati i ragazzi delle scuole medie statali presso le quali sono stati condotti interventi educativi con l'ausilio degli animali, sono stati campionati tutti gli equidi presenti attraverso prelievo individuale direttamente dall'ampolla rettale tramite tampone sterile monouso, senza l'uso del travaglio, per evitare eventuali reazioni di dolore o insofferenza da parte degli animali.

Dopo il prelievo i campioni sono stati portati presso il laboratorio del Centro Sperimentale Avicunicolo di Varcaturò, afferente al Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, per procedere alla ricerca ed all'isolamento di *Salmonella* spp. e come per le altre specie anche *Campylobacter* termotolleranti e *Escherichia coli* produttori di shigatossine.

4.4.2 Risultati e discussione

In riferimento alle indagini di laboratorio finalizzate alla ricerca e all'isolamento di *Salmonella* spp., i risultati ottenuti dal campionamento dei 140 animali esaminati utilizzando la Procedura ISO sono stati tutti negativi.

Lo scopo del nostro lavoro è stato improntato alla ricerca di *Salmonella* spp. in equidi impiegati in attività assistite. Tutto ciò nasce dal fatto che in questi protocolli terapeutici è tale il contatto fisico che si instaura in un rapporto relazionale paziente-animale da far presumere che realmente possa esistere un rischio di contagio. Gli animali, vivendo in condizioni di semilibertà, hanno la possibilità di contagiarsi nell'ambiente esterno, nei liquami o nell'acqua dalla quale si approvvigionano.

La resistenza di *Salmonella* spp. nell'ambiente esterno si attesta a temperature tra 2 e 54°C, a ph da 3,8 a 9,5, nei liquami e nelle acque stagnanti può addirittura sopravvivere per più di 6 mesi. Inoltre, dato che le terapie avvengono quasi sempre nell'habitat naturale dell'asino e dei cavalli, aumenta la possibilità di contagio e il contatto con altri vettori. Nonostante siano scarsi, i dati finora disponibili in letteratura rivolgono la loro attenzione sulla ricerca di patogeni, fra cui *Salmonella* spp., soprattutto nella matrice latte e carnea. Come emerge da una ricerca condotta in Inghilterra e Galles, riportata da un lavoro dell'Università degli Studi di Campobasso, è stato sicuramente accertato che, come altri patogeni intestinali, *Salmonella* spp. è un agente patogeno in grado contaminare il latte a partire da materiale fecale durante e dopo la mungitura, anche se fino ad oggi non si hanno segnalazioni di casi di salmonellosi da consumo di latte crudo. Questo è un dato importante in quanto ci attesta la possibilità, seppur non riscontrata in vivo, di isolarla in soggetti coinvolti in protocolli che coinvolgono asini e cavalli. Apparentemente la bibliografia attuale ci porta a considerare lieve o non significativo il rischio di infezione, anche se questo dato può essere confutato dal fatto che l'escrezione fecale di *Salmonella* è intermittente. Questa, probabilmente, rappresenta una valida ipotesi che spiega la bassa prevalenza di questo patogeno, infatti è probabile che non sempre ad un campionamento negativo corrisponda necessariamente un animale sano o non portatore della malattia. L'escrezione intermittente a livello intestinale rende particolarmente difficile l'isolamento di *Salmonella* spp. Questa difficoltà potrebbe essere affrontata con un miglioramento delle modalità ma soprattutto dei tempi di campionamento. E' chiaro che aumentando la frequenza dei prelievi dei campioni aumenteranno verosimilmente le probabilità di isolare il patogeno. Inoltre, l'utilizzo di antibiotici ad ampio spettro, prassi abitudinaria negli allevamenti, unitamente alle elevate condizioni di benessere e presumibilmente ai corrispondenti bassi livelli di cortisolo in circolo, costituiscono un'altra plausibile ipotesi per spiegare la bassa prevalenza e, nel nostro caso specifico, la totale assenza di *Salmonella* spp.

Per quanto riguarda la ricerca e l'isolamento di *Campylobacter* termotolleranti e *Escherichia coli* produttori di shigatossine, sono risultati positivi alle procedure ISO rispettivamente 28/140 e 90/140 campioni. I campioni positivi, al momento opportunamente sospesi in 1 ml di "Brucella Broth" (Biolife) addizionato con il 20% di glicerolo conservati a temperatura di congelamento pari a - 80° C , saranno successivamente sierotipizzati e sottoposti a PCR per valutarne l'eventuale potere patogeno o l'appartenenza a specie patogene a carattere zoonosico.

4.5 Volatili da cortile

4.5.1 Campionamento

Sono stati campionati 50 dei 250 volatili presenti all'interno dell'area verde dell'OPG di Aversa. Su ogni animale sono stati effettuati tre diversi tamponi cloacali per la ricerca rispettivamente di *Salmonella* spp., *Campylobacter* termotolleranti ed *Escherichia coli* produttori di shigatossine per un totale di 150 tamponi.

I prelievi cloacali sono stati effettuati, su ogni esemplare, con tamponi sterili di cotone idrofilo ed inoculati nel rispettivo brodo di arricchimento selettivo.



Fig.4 Area verde dell'OPG

4.5.2 Risultati e discussioni

In base alle indagini effettuate per l'isolamento di *Campylobacter spp.* 6 campioni su 50 sono risultati positivi a *Campylobacter jejuni* e 11 a *Campylobacter coli* (Tab. 3). Per quel che concerne *Salmonella spp.* ed *Escherichia coli* O157, invece, i risultati sono stati costantemente negativi.

Positivi	Specie	Sierotipo jejuni	Sierotipo coli
1	<i>Anas platyrhynchos</i> (germano reale)	+	-
2	<i>Anas platyrhynchos</i>	+	+
3	<i>Anas platyrhynchos</i>	-	-
4	<i>Anas platyrhynchos</i>	+	+
5	<i>Anas platyrhynchos</i>	-	+
6	<i>Anas platyrhynchos</i>	+	-
7	<i>Gallus gallus domesticus</i> (gallo domestico)	-	+
8	<i>Gallus gallus domesticus</i>	+	-
9	<i>Gallus gallus domesticus</i>	-	+
10	<i>Gallus gallus domesticus</i>		-
11	<i>Gallus gallus domesticus</i>		+
12	<i>Anas platyrhynchos</i>	+	-
13			+
14	<i>Anas platyrhynchos</i>	-	+
15	<i>Anas platyrhynchos</i>	-	+
16	<i>Gallus gallus domesticus</i>	-	+
17	<i>Gallus gallus domesticus</i>	-	+

Tab. 3 Volatili risultati positivi a *Campylobacter*

I volatili presenti nell'O.P.G. di Aversa possono essere considerati un importante veicolo di zoonosi per operatori, medici e soprattutto per gli internati che in molti casi sono immunodepressi.

I *Campylobacter* sono tra i principali batteri causa di gastroenterite nell'uomo (Friedman et al., 2000). *C. jejuni*, è infatti, attualmente riconosciuto come un'importante causa di tossinfezione alimentare. Esso colonizza la mucosa intestinale di diversi animali ma l'ambiente

preferito, comunque, risulta essere il tratto intestinale della maggior parte di uccelli, inclusi gli uccelli selvatici, polli, tacchini e anatidi dove il *Campylobacter* vive da microrganismo commensale.

Conclusioni

Pur conoscendo quali sono le possibilità di contagio per *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Campylobacter* e quali le misure da adottare per ridurre le tossinfezioni sostenute da questi batteri l'incidenza, ad oggi, risulta sempre costante, ciò sottolinea la necessità di adottare misure preventive che tengano in considerazione le diverse modalità di trasmissione e la necessità di valutare altri animali, come possibili veicoli per la trasmissione.

Bisogna infatti considerare anche i cani e gli equidi una fonte di contagio nuova, pertanto questi animali necessitano di maggiori e più scrupolosi controlli.

L'aspetto della sorveglianza non va però ritenuta misura indispensabile per i soli cani che partecipano ad Attività da loro Assistite ma anche per i cani che vengono adottati da allevamenti o da canili.

Per i *Campylobacter* termotolleranti il cane è risultato un possibile vettore e cosa ancora più allarmante è che in molti casi questi animali sono risultati asintomatici. La ricerca di *Campylobacter* infatti non rientra nei controlli a cui i cani, che partecipano a Interventi Assistiti, vengono sottoposti. Invece, gli accertamenti da noi condotti, hanno consentito l'esclusione dei soggetti malati anche se asintomatici.

Di routine, infatti, i soggetti che presentano sintomi o sospetta malattia vengono momentaneamente esclusi, sfuggono così al controllo tutti gli asintomatici che invece rappresentano una realtà.

Pertanto è auspicabile che i cani che partecipano a queste attività vengano controllati anche per la ricerca di *Campylobacter* e che vengano comunque e sempre rispettate le norme igienico-sanitarie atte a scongiurare un possibile contagio animale-uomo.

Infine, è opportuno sottolineare l'assenza di una normativa nazionale precisa e dettagliata che prenda in considerazione un qualunque tipo di protocollo sanitario ufficiale destinato agli animali coinvolti nella Pet Therapy e ancor meno nell'Onoterapia.

Bibliografia

Altekruse S.F., Stern N.J., Fields P.I., Swerdlow D.L. (1999). *Campylobacter jejuni*. An emerging foodborne pathogen. *Emerging Infectious Diseases*. 5:28-35

Ballarini, G., 2000. *Animali terapia dell'anima: le nuove vie dell'applicazione degli animali nella terapia umana (pet therapy)*, Brescia, Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche.

Barker S.B., Barker R.T., Dawson K.S., Knisely J.S., 1995. *The Supportive Role of Pets in the Childhood of Sexual Abuse Survivors* Medical College of Virginia, Virginia Commonwealth University, Richmond, Virginia, USA (VII International Conference on Human-Animal Interactions, Animals, Health and Quality of Life, Settembre 1995, Geneva, Switzerland).

Berger R., 2006. Incorporating Nature Into Therapy: a Framework For Practice. *Journal of Systemic Therapies*, Vol. 25, No. 2

Bexell S. M., 2006. Effect of a Wildlife Conservation Camp Experience in China on Student Knowledge of Animals, Care, Propensity for Environmental Stewardship, and Compassionate Behavior Toward Animals. *Georgia State University, Digital Archive@ GSU*

Blaser M.J. & Duncan D., 1984. Human serum antibody response to *Campylobacter jejuni* infection as measured in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Infect. Immun.*44:292-298.

Blaser M.J., Berkowitz I.D., LaForce F.M., Cravens J., Reller L.B., Wang L.L., 1979. *Campylobacter enteritis: clinical and epidemiologic features*. *Ann. Intern. Med.*91:179-185.

Blaser M.J., Pearson R.B., Wang W.L.L., 1980. Acute colitis caused by *Campylobacter fetus* ss. *jejuni*. *Gastroenterology* 78:448-453.

Buchanan, R. L., and M. P. Doyle. 1997. Foodborne disease significance of Escherichia coli O157:H7 and other enterohemorrhagic E. coli. *Food Technol.* 51(10):69-76.

Brian Hare and Michael Tomasello, . Human-like social skills in dogs? *TRENDS in Cognitive Sciences*

Bjerke, T., T. S. Odegardstuen, and B. P. Kaltenborn, 1998. Attitudes toward animals among Norwegian children and adolescents: species preferences. *Anthrozoos*, v. 11, p. 227-235.

Broom DM., 2011. A history of animal welfare science. *Acta Biotheor Jun;59(2):121-37.*

Broom DM., 2007. Cognitive ability and sentience: which aquatic animals should be protected? *Dis Aquat Organ.* 2007 May 4;75(2):99-108.

Buchanan, R. L., and M. P. Doyle. 1997. Foodborne disease significance of Escherichia coli O157:H7 and other enterohemorrhagic E. coli. *Food Technol.* 51(10):69-76.

Caldora C., Cocilovo A., Dall'Ara P., Martino P. A., 1996. Classificazione dei batteri e batteriologia speciale, Genere Salmonella. In: "Microbiologia e Immunologia Veterinaria" a cura di G. Poli e A. Cocilovo, UTET, Torino. Pp 228-229.

Caprioli A, Conendera G, Lucangeli C. 2005. Escherichia coli O157 e altri E. coli Enteroemorraggici. In: Trattato sulle infezioni e tossinfezioni alimentari, Rondinelli E.G, Fabbi M, Marone P. (Eds). Pavia: Selecta Medica.

Caprioli A., Pezzella C., Morelli R., Giammanco A., Arista S., Crotti D. Facchini M., Guglielmetti P., Piersimoni C., Luzzi I., 1996. Enteropathogens associated with childhood diarrhea in Italy. The Italian

Study Group on Gastrointestinal Infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 15:876-873.

Cecily Mall Er, Mardie Town Send, 2005. Healthy nature healthy people: 'contact with nature' as an upstream health promotion intervention for populations. *Health Promotion International, Vol. 21 No.1*

Ciandella S., 1996. La pet therapy nella riabilitazione dei pazienti psicotici cronic. Atti del convegno La Pet Therapy: gli animali e la salute dell'uomo, Teramo, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Dell'Abruzzo e del Molise " G. Caporale" 10-11 giugno.

Cirulli F., Alleva E., 2007. Terapie e attività assistite con gli animali: analisi della situazione italiana e proposta di linee guida. Rapporto ISTISAN 2007, Roma: Istituto Superiore di Sanità.

Cutt H, Giles-Corti B, Knuiaman M, Burke V., 2007. Dog ownership, health and physical activity: a critical review of the literature. *Health Place* 2007 Mar;13(1):261-72

Darwin , K.H. and V.L. Miller.1999. Molecular basisof the interaction of Salmonella with the intestinal mucosa .*Clin.Microbiol. Rev.* 12:405-428.

Delta Society Handbook for Animal Assisted Activities and Animal Assisted Therapy Renton, WA, 1992

Di Pietro S., Gruppillo A.M., Pugliese A., 2000. Pet Therapy: ruolo del medico veterinario. Atti 1°Convegno Nazionale Pet Therapy: Nuovi Orizzonti Riabilitativi. Giardini Naxos, pp.161-165.

Dipineto L, Gargiulo A, De Luca Bossa L, Cuomo A, Santaniello A, Sensale M, Menna LF, Fioretti A. Survey of thermotolerant

Campylobacter in pheasant (*Phasianus colchicus*). Atti XLVI Convegno Annuale SIPA. Forlì, 27-28 Settembre 2007.

Dipineto L, Santaniello A, Fontanella M, Lagos K, Fioretti A, Menna LF. 2005 Presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in living layer hens. *Lett Appl Microbiol.* 43(3):293-5.

DIRETTIVA 2003/99/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 17 novembre 2003 sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, recante modifica della decisione 90/424/CEE del Consiglio e che abroga la direttiva 92/117/CEE del Consiglio.

Donnenberg MS and Whittan TS. 2001. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Clin. Investigation* 107, pp 539-548.

Evans M.R., Lane W., Frost J.A., Nylén G. (1998). A campylobacter outbreak associated with stir-fried food. *Epidemiology & Infectious* 121:275-9.

Fraser D., 1995. Science, Values and Animal Welfare: Exploring the 'Inextricable Connection'. *Animal Welfare* 1995, 4: 103-117 pp. 103-117.

Fraser D., 2008., Understanding animal welfare. *Acta Veterinaria Scandinavica*.

Friedman, C. R., N eimann, J., Wegener, H. C., Tauxe, R. V. (2000). Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: I. Nachamkin, M.J. Blaser (eds.) *Campylobacter. American Society for Microbiology.* Washington, DC, USA, pp. 121–138.

Furtado C., Adak G.K., Stuart J.M., Wall P.G., Evans H.S., Casemore D.P., 1998. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-5. *Epidemiology & Infectious*. 121:109-19.

Giaccon M., Pet Therapy, Edizioni Mediterranee, 1992, Roma

Goossens H., Pot B., Vlaes L., Van den Borre C., Van den Abbeele R., Van Naelten C., Levy J., Cogniau H., Marbehant P., Verhoef J. Kersters K., Butzler J.P., Vandamme P., 1990. Characterization and description of "Campylobacter upsaliensis" isolated from human faces. *Journal of Clinical Microbiology* 28:1039-1046

Gould S.R., 1985. Toxic megacolon complicating Campylobacter colitis. *Br. Med. J.* 291:1580

Grinde B, Patil GG., 2009. Biophilia: does visual contact with nature impact on health and well-being? *International Journal Environmental Research in Public Health*. 2009 Sep;6(9):2332-43.

Handbook for Animal Assisted Activities and Animal Assisted Therapy
Renton, Delta Society, WA, 1992.

Ham SA, Epping J., 2006. Dog walking and physical activity in the United States. *Prev Chronic Dis*. 2006 Apr;3(2):A47
International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity ,*IJBNPA*.

Hayley Cutt , Billie Giles-Corti, Matthew Knuiman, 2008. Encouraging physical activity through dog walking: Why don't some owners walk with their dog? *Preventive Medicine* 46.

Hayley E Cutt, Matthew W Knuiman and Billie Giles-Corti. 2008. Does getting a dog increase recreational walking?

Il Codice Deontologico del Medico Veterinario entrato in vigore il 12 giugno 2011.

Jacobs-Reitsma W.F., 1997. Aspects of epidemiology of *Campylobacter* in poultry. *Vet. Q.* 19:113-117.

Jean-Pierre Digard, 1990. *L'Homme et les animaux domestiques, anthropologie d'une passion*, Paris, Fayard.

John R. Sirard, Carrie D. Patnode, Mary O. Hearst, Melissa N. Laska, 2011. Dog Ownership and Adolescent Physical Activity. *American Journal of Preventive Medicine*.

Jones P.H., Willis A.T., Robinson D.A., Skirrow M.B., Josephs D.S., 1981. *Campylobacter* enteritis associated with the consumption of free school milk. *Journal of Hygiene.* 87:155-162

Katherine D. Hoerster, Joni A. Mayer, 2011. Dog walking: Its association with physical activity guideline adherence and its correlates. *Preventive Medicine* 52.

Kirkwood, J. K.; Weddell, S.; Hubrecht, R. C.; Wickens, S. M., 2010. Could empathy for animals have been an adaptation in the evolution of *Homo sapiens*? *Animal Welfare* 2010. 19: Supplement, 107-112.

Knight Sarah, Karl Nunkoosing, Aldert Vrij, and Julie Cherryman, 2003. Using Grounded Theory to Examine People's Attitudes Toward How Animals are Used. *Society & Animals - SOC ANIM* , vol. 11, no. 4, pp. 307-327

Krauss H., Weber A., Appel M., Enders B., Graevenitz A. v., Isenberg H. D., Schiefer H. G., Slenczka W., Zahner H., 2003. Zoonoses. In : *Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans*. 3rd Edition. ASM Press. *American Society for Microbiology*, Washington DC., USA. pp 238-244

Le Minor L., 1963. *Epidemiological importance of the determination of Salmonella serotypes*. Ann Inst Pasteur (Paris) 104: 670-7.

Levinson B., 1962. The dog as a co-therapist. *Mental Hygiene Vol 46*, 59-65.

Luis MP Ceriáco , Mariana P Marques, Natália C Madeira, Carlos M Vila-Viçosa, and Paula Mendes, 2011. Folklore and traditional ecological knowledge of geckos in Southern Portugal: implications for conservation and science. *J Ethnobiol Ethnomed*.

McKendrick M.W., Geddes A.M., Gearty J. (1982). Campylobacter enteritis: a study of clinical features and rectal mucosal changes. *Scand. J. Infect. Dis.* 14(1):35-8.

Marchesini R., 2001, A lezione dal mondo animale, Bologna, Apèiron.

Marchesini R., 2004, Nuove prospettive nelle attività e nelle terapie assistite dagli animali, Cremona, Edizioni SCIVAC.

Marchesini R., Tonutti S., 2007. *Manuale di zooantropologia*, Roma, Meltemi.

McKendrick M.W., Geddes A.M., Gearty J., 1982. Campylobacter enteritis: a study of clinical features and rectal mucosal changes. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 14(1):35-8.

Mee A.S., Shield M., Burke M., 1985. Campylobacter colitis: differentiation from inflammatory bowel disease. *J. R. Soc. Med.* 78:217-223.

Milonis E., 2010. Io e gli asini. Attività di mediazione con l'asino. 2010, Lupetti editore. pp 51-54

Montagner H., 2002. L'enfant et l'animal, Paris, Odile Jacob,

Moore, J. E., Corcoran, D., Dooley, J. S., Fanning, S., Lucey, B., Matsuda, M., McDowell, D. A., Mégraud, F., Millar, B. C., O'Mahony, R., O'Riordan, L., O'Rourke, M., Rao, J. R., Rooney, P. J., Sails, A., Whyte, P., 2005. Campylobacter. *Veterinary Research* 36:351-382.

Mormann F., Julien Dubois, 2011. A category-specific response to animals in the right human amygdale. *Nature Neuroscience | Brief Communication.*

Motooka M, Koike H, Yokoyama T, Kennedy NL, 2006. Effect of dog-walking on autonomic nervous activity in senior citizens. *Med J Aust.* 2006 Jan 16;184(2):60-3.

Murray M.F., 1996. Salmonellosis in Horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 209. pp 559-560.

Navarro Garcia F, Canizalez R A, Luna J, Sears C, and Nataro J P. 2001. Plasmid-Encoded Toxin of Enteroggregative Escherichia coli is Internalized by Epithelial Cells. *Infection and Immunity,* 69(2):1053-1060

Nataro JP and Kaper JB. 1998. Diarrheagenic Escherichia coli. *Clinical Microbiology Review.* 11, pp 142-201.

Navarro Garcia F, Canizalez R A, Luna J, Sears C, and Nataro J P. 2001. Plasmid-Encoded Toxin of Enteroggregative Escherichia coli is Internalized by Epithelial Cells. *Infection and Immunity,* 69(2):1053-1060.

Pitkänen T., Pönkä A., Pettersson T., Cosunen T.U., 1983. Campylobacter enteritis in 188 hospitalized patients. *Archive of Internal Medicine* 143:215-219

Poli M., 1981. *Psicologia animale e etologia,* Il Mulino, Bologna.

Prokop P., 2012. Tolerance of Amphibians in Slovakian People: A Comparison of Pond Owners and Non-Owners. *Anthrozoös* 25(3).

Regio Decreto 9 Maggio 1929, n 994 Approvazione del regolamento sulla vigilanza igienica del latte destinato al consumo diretto.

Richard P. Haynes, 2011. Competing Conceptions of Animal Welfare and Their Ethical Implications for the Treatment of Non-Human Animals. *Acta Biotheor.*

Ruffo G. 1998. Enterobatteri. In: “Trattato di Malattie Infettive degli Animali” Farina R., Scatozza F. (Eds.). Torino: UTET. Pp 115-134.

Ruffo G., 1998. Enterobatteri. In: “Trattato di Malattie infettive degli animali” a cura di R. Farina e F. Scatozza, UTET Torino, pp. 132-133.

Santaniello A, Gargiulo A, Borrelli L, Dipineto L, Cuomo A, Sensale M, Fontanella M, Calabria M, Musella V, Menna LF, Fioretti A. 2006. Survey of Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 in urban pigeons (Columba livia) in the city of Naples, Italy. Atti del XLV Convegno SIPA, 28 settembre, Forlì

Schmid K., 2011. Concepts of Animal Welfare in Relation to Positions in Animal Ethics (t) *Acta Biotheor.*

Schwartz R.H., Bryan C., Rodriguez W.J, Park C., McCoy P. 1983. Experience with the microbiologic diagnostic of Campylobacter enteritis in an office laboratory. *Pediatr. Infect. Dis.* 2:298-301.

Serpell J., 1991. Beneficial effects of pet ownership on some aspects of human health and behavior. *Journal of the Royal Society of Medicine Volume 84*

Serpell, J.A., 1996, In the Company of Animals, 2nd (Revised) Edition Cambridge, Cambridge University Press (Canto)

Smith B.P., 2002. Salmonellosis. In: Large Animal Internal Medicine, 3rd ed., ST. Louis, Mosby. pp 654-655.

Sola Corazon, S., Stigsdotter, UK., Claudi, A.G., Kjell Nilsson, 2010. Development of a Nature-Based Therapy Concept for Stress Patients at the Danish Healing Forest Garden Nacadia. *Journal of Therapeutic Horticulture*, volume 20, pp. 34-51. 2010.

Swart Jac. A.A., Jozef Keulartz (2011). Wild Animals in Our Backyard. A Contextual Approach to the Intrinsic Value of Animals. *Acta Biotheor*

Tauxe R.V. (1992). Epidemiology of Campylobacter jejuni infections in the United States and other industrial editors nations. In: Nachamkin I., Blaser M.J., Tompkins L.S. (eds.). Campylobacter jejuni: current and future trends. Washington: *American Society for Microbiology*. Pp. 9-12.

Thorpe R.J., 2006. Dog Ownership, Walking Behavior, and Maintained Mobility in Late Life. *The American Geriatrics Society*.

Tonutti S., 1999. Da operatore totemico a lubrificante sociale: il pet nella società occidentale, in AAVV, Bioetica e professione medico-veterinaria. Nuove prospettive per un punto di svolta nella veterinaria, Cesena, Macro, pp. 143-151.

Toohey A.M and Rock M.J., 2011. Unleashing their potential: a critical realist scoping review of the influence of dogs on physical activity for dog-owners and non-owners. *International Journal of Behaviour Nutrition and Physical Activity*.

Tugnoli Claudio, 2003. Zooantropologia. Storia, etica e pedagogia dell'interazione uomo animale. Franco Angeli 2003, Milano.

Vining J., 2003. The Connection to Other Animals and Caring for Nature *Human Ecology Review*, Vol. 10, No. 2.

Wada Y, Kondo H, Nakaoka Y, Kubo M., 1996. Gastric attaching and effacing *Escherichia coli* lesions in a puppy with naturally occurring enteric colibacillosis and concurrent canine distemper virus infection. *Veterinary Pathology*. 33(6):717-20.

Walker H., 2011. Soulful voices: birds, language and prophecy in Amazonia. *LSE Research Online: March 2011*.

Wallace JS, Cheasty T, Jones K. 1997. Isolation of vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from wild birds. *Journal of Applied Microbiology* (3):399-404

Westgarth C. , G. L Pinchbeck, J. WS Bradshaw, S. Dawson, R.M Gaskell, and R.M Christley, 2007. Factors associated with dog ownership and contact with dogs in a UK community. *BMC in Veterinary Research*.

Wood L., Billie Giles-Corti, Max Bulsara, 2005. The pet connection: pets as a conduit for social capital? *Social Science & Medicine* (61).

SITOGRAFIA

www.aaweb.net

www.antropozoonosi.it/

www.asinergie.it

www.bvet.admin.ch/

www.epicentro.iss.it

www.epicentro.iss.it

www.galileonet.it

www.izsvenezie.it

[www.ministerodellasalute.it.](http://www.ministerodellasalute.it)

www.salute.gov.it

www.tempadelfico.com/

www.veterinariaalimenti.marche.it

Ringraziamenti

Grazie alla Prof.^{ssa} Lucia Francesca Menna che mi ha saputo guidare con impareggiabile impegno umano e professionale. Preziose le sue idee e le sue indicazioni, che sono state costante riferimento e confronto degli argomenti trattati nel lavoro svolto.

Grazie al Prof. Alessandro Fioretti, per essere stato sempre disponibile a mostrarmi il suo illuminato punto di vista.

Grazie ai miei genitori per essere stato un costante sostegno ed avermi insegnato che ai valori si tende e che non serve averli sulla bocca ma viverli nel cuore e nella mente. Grazie soprattutto a mia madre che, per essere una nonna perfetta, mi ha consentito di lavorare con tranquillità e di dedicarmi alla ricerca.

Grazie al Dott. Antonio Santaniello che, avendomi preceduto in questa esperienza di dottorato, ha saputo darmi i giusti consigli e una mano da amico.

Grazie è una parola semplice ed immediata, una parola magica che crea un legame tra chi dà e chi riceve, ma va ben oltre la semplice riconoscenza. La si usa nelle conclusioni, ammirando qualcosa che è stato fatto per noi, io spero che in questa occasione esprima anche il desiderio di continuare insieme ciò che è iniziato.