

Alma Mater Studiorum – **Università di Bologna**

DOTTORATO DI RICERCA IN

Epidemiologia e Controllo delle Zoonosi

Ciclo XXIII

Settore scientifico-disciplinare di afferenza: VET06

EPIDEMIOLOGIA DELLE STRONGILOSI DELL'ASINO: QUALI
APPLICAZIONI PER IL CONTROLLO DELLE INFEZIONI DA ELMINTI?

Presentata da: Federica Usai

Coordinatore Dottorato:

Prof. Giovanni Poglayen

Relatore:

Dott. Laura Stancampiano

Esame finale anno 2011

“I do not know what I may appear to the world, but to myself I seem to have been only like a boy playing on the sea-shore, and diverting myself in now and then finding a smoother pebble or a prettier shell than ordinary, whilst the great ocean of truth lay all undiscovered before me”

Isaac Newton

INDICE

Premessa	3
Capitolo 1. Parassiti e aggregazione	5
1 Introduzione	5
2 Distribuzione dei macroparassiti nella popolazione ospite	7
3 Misure di aggregazione	8
4 Raccolta e analisi dei dati parassitologici	16
5 Pattern di aggregazione	18
6 Conseguenze dell'aggregazione	19
7 Cause di aggregazione parassitaria	22
7.1 Età dell'ospite	22
7.2 Sesso dell'ospite	24
7.3 Condizioni fisiche dell'ospite	25
7.4 Comportamento degli ospiti	26
7.5 Fattori genetici e immunitari	26
7.6 Fattori di eterogeneità estrinseci	27
Capitolo 2. Dinamica di popolazione e di infezione	29
1 Introduzione	29
2 Dinamica della popolazione ospite	30
3 Regolazione della popolazione ospite	33
4 Modelli di dinamica ospite-parassita	35
4.1 Il modello di Anderson e May	35
4.2 Estensioni del modello base di Anderson e May	41
4.3 Modelli per animali da allevamento	43
5 Regolazione della popolazione parassita nella popolazione ospite	48
6 Dinamica di infezione	49
6.1 Forza di infezione	49
6.2 Numero riproduttivo di base	54
6.3 Calcolo dell' R_0	57

6.4 Punti critici di interruzione nella trasmissione dei parassiti	62
6.5 Fattori climatici	63
7 Ancora sui modelli	64
Capitolo 3. Epidemiologia e ciclo degli strongili gastrointestinali degli equidi	67
1 Ciclo biologico	67
1.1 <i>Strongylus vulgaris</i>	69
1.2 Piccoli strongili	69
2 Epidemiologia	70
Capitolo 4. Materiali e metodi	73
1 Allevamento e animali	73
2 Raccolta dei campioni di feci in allevamento	74
3 Esame coprologico quantitativo	75
4 Esame coprologico qualitativo	76
5 Coprocoltura, estrazione e identificazione larvale	76
6 Campionamento e indagine parassitologica al macello	77
7 Analisi dei dati	79
Capitolo 5. Risultati	83
1 Analisi statistica esplorativa	83
1.1 Animali campionati	83
1.2 Esami coprologici quali-quantitativi	84
1.3 Identificazione delle larve di terzo stadio (L3).....	86
1.4 Uova - differenze tra gruppi	87
1.5 L3 - differenze tra gruppi	88
2 Modelli Lineari Generalizzati	90
3 Calcolo degli indici di aggregazione	93
4 Studio della dinamica di infezione	94
4.1 Piccoli strongili	94
4.2 <i>Strongylus vulgaris</i>	99
5 Modelli matematici	103

5.1 Modello base	103
5.2 Modello per <i>Strongylus vulgaris</i>	105
5.2.1 Validazione del modello	110
5.2.2 Simulazione dell'effetto dei trattamenti	112
5.3 Modello per piccoli strongili	117
5.3.1 Validazione del modello	123
5.3.2 Simulazione dell'effetto dei trattamenti	125
5.4 Calcolo dell'R_0	128
5.4.1 <i>Strongylus vulgaris</i>	128
5.4.2 Piccoli strongili	130
Capitolo 6. Discussione	139
1 Caratteristiche del campione	139
2 UPG	139
3 IEPG	142
4 Analisi della dinamica di infezione	143
5 Modelli matematici	144
5.1 <i>Strongylus vulgaris</i>	146
5.2 Piccoli strongili	149
Capitolo 7. Conclusioni	152
APPENDICI	155
1. La distribuzione binomiale negativa	155
2. Significato biologico dei parametri b_1 e b_2 nel modello di crescita logistica	160
3. Criteri di stabilità di un sistema lineare tempo invariante	162
BIBLIOGRAFIA	167
Ringraziamenti	183
ALLEGATO 1	185

Abstract

Strongylosis in equids, despite being very common, have never been studied from a strictly ecological point of view.

Mathematical models are important ecological tools used to study the temporal dynamics of parasite populations, and are useful to study the effect of different biological parameters, as well as to analyse the outcome produced by perturbations such as anthelmintic treatments.

This work describes the study of the temporal dynamics of strongyles infection in an organic donkey population, performed using coprological quantitative analysis and donkeys' age as a proxy of the time of infection. Force of infection was then estimated for *Strongylus vulgaris* and small strongyles and the results used as the basis for the development of mathematical models. In particular, the comparison of models output and field data made it possible to estimate the transmission coefficient β and to consequently calculate the basic reproduction number R_0 and the threshold host density. Small strongyles model includes hypobiosis and, more interestingly as never found in literature, a density-dependent development rate of hypobiotic larvae in adult parasites in order to simulate a negative feedback between larvae emergence from hypobiosis and adult parasite abundance.

Simulations of pharmacological and environmental treatments showed that parasite eradication was possible for *S. vulgaris* only, while small strongyles, due to hypobiosis and density-dependent development rate of their hypobiotic larvae, are very difficult to control and impossible to eradicate.

In addition, density-dependence in larval development has been demonstrated to act as a key factor in improving parasite population survival and abundance even in absence of human intervention.

Premessa

L'approccio ecologico allo studio delle infezioni nelle popolazioni ospiti domestiche è da qualche anno caldamente auspicato nell'ambiente scientifico. Se in Italia tale punto di vista è praticamente inesistente (Ferrari e Stancampiano, 2010), anche all'estero sono pochi i lavori di ecologia dei parassiti negli animali allevati.

Tra gli strumenti tipicamente ecologici, l'uso di modelli di dinamica delle infezioni nei domestici è quasi assente, a parte qualche raro e poco sviluppato tentativo per i ruminanti domestici da parte di alcuni autori (Grenfell *et al.*, 1987; Roberts e Grenfell, 1991; Smith e Guerrero, 1993; Smith e Grenfell, 1994; Roberts, 1999; Cornell *et al.*, 2004).

Per le strongilosi degli equidi, pur così diffuse, tale assenza è totale. Alla generale scarsità di lavori di stampo eco-epidemiologico, per questo gruppo di animali si sovrappone una tradizione veterinaria che, affondando le sue radici nella antica mascalcia, è nel migliore dei casi rigidamente clinica e nel suo peggiore aspetto quasi sciamanica. Come sottolinea in un recente lavoro Uhlinger (2007), è particolarmente spinosa la mancanza di evidenze scientifiche riguardanti il ruolo patogeno degli strongili ed è ancora più grave l'uso acritico di protocolli terapeutici antiparassitari tanto antichi quanto poco comprovati.

Con questa ricerca si è voluto guardare alle strongilosi degli equidi da un punto di vista del tutto nuovo, rigidamente ecologico, in cui parassiti e ospiti hanno la stessa dignità in quanto parte di una sistema dinamico di interazioni reciproche.

L'auspicio è che questo punto di vista possa portare alla luce aspetti ancora sottovalutati e non del tutto chiariti relativi al rapporto tra gli animali domestici e i loro parassiti.

CAPITOLO 1

Parassiti e aggregazione

1. Introduzione

Se lo studio dell'ecologia dei parassiti viene considerato nella sua accezione più ampia, allora esso ha una lunga storia che risale alla metà del XIX secolo con le scoperte di studiosi del calibro di Dujardin, Kuchenmeister, Leuckart, Manson e Ross, quest'ultimo insignito del premio nobel nel 1902 per i suoi studi sulla malaria (Bush *et al.*, 2001). Molti di questi primi studi erano già ecologici nello scopo e nell'approccio. È stato comunque con gli studi di Holmes (1961, 1962a, b) sulla competizione interspecifica tra il cestode *Hymenolepis diminuta* e l'acantocefalo *Moniliformis dubius* nei ratti che la prospettiva quantitativa si è solidamente trincerata nella letteratura parassitologica. Dieci anni più tardi, Crofton (1971a, b), adottò un approccio simile nello studio della dinamica di popolazione dei parassiti.

L'approccio ecologico ha portato Crofton (1971a) a formulare quella che forse è la definizione più esaustiva di parassitismo, ovvero una relazione ecologica fra le popolazioni di due differenti specie, il parassita e l'ospite, con le seguenti caratteristiche:

- a) il parassita è fisiologicamente dipendente dall'ospite;
- b) il processo di infezione produce o tende a produrre una distribuzione aggregata dei parassiti all'interno della popolazione ospite;
- c) il parassita uccide gli ospiti massivamente infestati (ciò differenzia il parassitismo dal commensalismo);
- d) la specie parassita ha un potenziale riproduttivo più elevato della specie ospite (ciò differenzia il parassitismo dal predatorismo).

Questa definizione mette in luce il valore ecologico del parassitismo, inteso come interazione dinamica, e pone l'accento sulla distribuzione aggregata dei parassiti nella popolazione ospite, caratteristica talmente comune da rientrare a pieno titolo nella definizione di parassitismo.

In base al tipo di relazione che i parassiti stabiliscono con l'ospite, essi possono essere distinti in microparassiti e macroparassiti. I microparassiti (batteri, virus, funghi e protozoi) possiedono un ciclo riproduttivo solitamente caratterizzato da brevi tempi di riproduzione, che avviene completamente all'interno dell'ospite; la durata dell'infezione è breve in relazione all'aspettativa di vita dell'ospite. I macroparassiti (elminti e artropodi), invece, sono organismi pluricellulari, immunologicamente caratterizzati da numerosi antigeni e quindi incapaci di suscitare una risposta immunitaria specifica; determinano lunghi tempi di infezione e di solito non svolgono l'intero ciclo biologico all'interno dell'ospite, ma presentano spesso ospiti intermedi o fasi larvali a vita libera (Anderson e May, 1982; Hudson e Dobson, 1995). Un'altra caratteristica che differenzia i due gruppi consiste nel fatto che i microparassiti spesso stimolano nell'ospite, una volta superata l'infezione, lo sviluppo di un'immunità stabile e duratura. Di contro, la persistenza ambientale che caratterizza i macroparassiti porta nella maggior parte dei casi alla continua reinfezione di nuovi ospiti (Anderson e May, 1982); l'immunità in questo caso è spesso regolata da meccanismi densità-dipendenti per cui le risposte dell'ospite sono proporzionali al numero di parassiti che esso alberga (Anderson, 2000).

Poiché le interazioni tra parassiti e ospiti vengono considerate a livello di popolazione e poiché spesso i parassiti presentano cicli biologici complessi che di frequente coinvolgono più di un ospite, gli ecologi hanno scelto di adottare un approccio terminologico gerarchico per superare le difficoltà relativamente alla definizione del termine popolazione. Una popolazione di parassiti consiste di individui conspecifici che coesistono nello stesso spazio e nello stesso tempo. Ogni popolazione di parassiti può essere suddivisa in popolazioni più piccole, quelle presenti in ciascun individuo ospite, ognuna delle quali è detta infrapopolazione. Adottando un punto di vista più ampio, tutti gli individui di una specie parassita, in

tutti i loro stadi di sviluppo, presenti all'interno di tutte le specie ospiti costituiscono una sovrappopolazione (Margolis *et al.*, 1982).

Per comprendere a pieno quale influenza i parassiti abbiano sulla dinamica della popolazione ospite, ed in particolare quali individui ne subiscano più intensamente gli effetti, è importante sapere come i parassiti siano distribuiti nella popolazione ospite.

2. Distribuzione dei macroparassiti nella popolazione ospite

Sebbene si sia visto che le popolazioni animali possano seguire tre diverse distribuzioni - *random* (varianza = media); uniforme (varianza < media); aggregata (varianza > media) - la distribuzione aggregata è quella che si osserva più frequentemente in natura: l'abbondanza delle specie varia infatti nello spazio in funzione dell'idoneità degli *habitat* e della disponibilità di risorse. Su scala più piccola, anche i singoli individui mostrano una distribuzione a macchia di leopardo riflettendo la distribuzione irregolare delle risorse (Poulin, 2007). In certa misura, l'*habitat* dei parassiti differisce da quello della maggior parte degli animali a vita libera dato che esso non è spazialmente continuo, ma consiste di isole discrete di ambiente idoneo, gli ospiti, in un ambiente altrimenti inospitale. Tra queste isole, i parassiti non sono uniformemente distribuiti, cosicché alcune contengono molti più parassiti della media e altre ne ospitano pochi. In altri termini, poiché le infrapopolazioni sono sottoinsiemi discreti dell'intera popolazione parassita, l'aggregazione dei parassiti implica che la maggior parte delle infrapopolazioni sarà piccola e solo poche infrapopolazioni saranno grandi (Poulin, 2007). Eterogeneità come questa sono associate a diversi fattori come la variabilità nella ricettività e nel comportamento dell'ospite, l'efficienza dell'immunità dell'ospite, la variabilità nell'aggregazione spaziale degli stadi infettanti, la presenza di altre specie parassite, fattori genetici e fattori ambientali (Anderson, 2000).

Il tipo di distribuzione dei parassiti ha molte implicazioni negli studi epidemiologici e nella dinamica ospite-parassita (Anderson e May, 1978; Poulin,

1993). Per i macroparassiti, la morbilità e la mortalità dell'ospite tendono ad essere densità-dipendenti, sicché questi effetti saranno più severi nella coda della distribuzione dei parassiti. La proporzione di ospiti in questa coda sarà relativamente più grande nel caso in cui i parassiti siano casualmente distribuiti negli ospiti (e la varianza della distribuzione sia bassa) rispetto a quando la distribuzione è aggregata (varianza alta). Di conseguenza, l'aggregazione riduce l'impatto dei parassiti sulla popolazione ospite, contribuendo a stabilizzarne l'interazione (Anderson e May, 1978; May e Anderson, 1978). Inoltre, in funzione dei livelli di aggregazione, potrà variare anche il contributo di ogni singolo ospite alla dinamica di trasmissione, introducendo una non-linearità che potrebbe influenzare il numero riproduttivo di base (R_0) (Keeling *et al.*, 2003).

Diversi modelli teorici possono descrivere una distribuzione di frequenza aggregata, fra cui la distribuzione logaritmica, lognormale, la distribuzione di Neyman di tipo A (Bliss e Fisher, 1953) e la distribuzione di Weibull (Gaba *et al.*, 2005). La distribuzione binomiale negativa, caratterizzata dal parametro k legato inversamente all'aggregazione, è però la distribuzione di probabilità discreta che ha mostrato di descrivere al meglio il rapporto ospite-parassita (Anderson e May, 1978; May e Anderson, 1978; Hudson e Dobson, 1995; Shaw e Dobson, 1995) (si veda l'Appendice 1 per una trattazione esaustiva sulla distribuzione binomiale negativa).

3. Misure di aggregazione

Un tema centrale della ricerca parassitologica nel corso degli anni, è stato lo sviluppo di una comprensione teorica ed empirica del ruolo stabilizzante dell'aggregazione nella dinamica di popolazione dei parassiti e dei loro ospiti e lo sviluppo di numerosi indici per soddisfare la necessità di quantificare il grado di aggregazione.

La distribuzione dei parassiti nella popolazione ospite va considerata un fenomeno dinamico essendo il prodotto di processi che non sono costanti nel tempo. Non esiste quindi una singola misura che possa catturare tale distribuzione. Una

stima dell'aggregazione ottenuta da un campione di ospiti e parassiti è meramente un'istantanea di una distribuzione complessa e in continuo mutamento (Boag *et al.*, 2001). Qualunque misura si scelga per quantificare l'aggregazione, e ne esistono diverse (Wilson *et al.*, 2001), la natura dinamica della distribuzione dei parassiti negli ospiti non dovrebbe mai essere trascurata.

La misura di aggregazione più semplice e comunemente usata è il rapporto tra la varianza (s^2) e il numero medio di parassiti per ospite (m):

$$\text{variance to mean ratio} = \frac{s^2}{m} \quad [1]$$

Nella teoria della probabilità questo rapporto è una misura di dispersione di una distribuzione di probabilità o di densità. Se i parassiti sono dispersi in maniera casuale tra i loro ospiti secondo una distribuzione di Poisson, la varianza della distribuzione dei parassiti è approssimativamente uguale alla media. Nel caso di una distribuzione aggregata, invece, la varianza è più grande della media ($s^2 > m$).

Il rapporto tra la varianza e la media potrà variare, quindi, da zero (quando i parassiti sono uniformemente distribuiti tra gli ospiti), attraverso l'unità (nel caso di una distribuzione *random*) fino a un valore uguale al numero totale di parassiti nel caso ipotetico di una distribuzione massimamente aggregata in cui tutti i parassiti si trovano un singolo ospite (Wilson *et al.*, 2001).

Un rapporto varianza/media maggiore dell'unità indica quindi uno scostamento dalla casualità e una tendenza all'aggregazione che sarà maggiore all'aumentare del rapporto. Questo indice di aggregazione è semplice da calcolare ed esistono inoltre semplici test statistici per accertare la significatività della deviazione tra il rapporto varianza/media osservato e il valore associato a una distribuzione casuale (Sun e Hughes, 1994).

Una deviazione dalla distribuzione *random* può essere testata moltiplicando il rapporto tra la varianza e la media per il numero di ospiti campionato (n) meno 1.

Questo indice è detto indice di dispersione¹ (I_D) e può essere confrontato con la distribuzione del chi-quadrato (χ^2) con $n-1$ gradi di libertà (Selby, 1965; Wilson *et al.*, 2001):

$$I_D = \frac{s^2(n-1)}{m} \quad [2]$$

Un indice di aggregazione simile può essere ottenuto dividendo il *variance to mean ratio* per la media. Wilson *et al.* (2001), chiamano questo rapporto varianza standardizzata (SV):

$$SV = \frac{s^2}{m^2} \quad [3]$$

Più correttamente, questo indice dovrebbe essere chiamato varianza relativa, in quanto, dividendo per la media, è possibile trasformare un indice non adimensionale in uno adimensionale. La varianza relativa è il quadrato del coefficiente di variazione (o deviazione standard relativa), solitamente espresso in percentuale (Wilson *et al.*, 2001):

$$CV = \frac{s}{m} 100 \quad [4]$$

Un approccio più generale alla relazione tra varianza e media è data da un'equazione che è conosciuta come *Taylor's Power Law* (Taylor, 1961; Morand e Krasnov, 2008):

¹ Il numeratore dell'indice di dispersione è la devianza, la cui distribuzione campionaria è collegata alla distribuzione del chi-quadrato (χ^2). Infatti il rapporto $\frac{(n-1)S^2}{\sigma^2}$, dove S^2 è la variabile aleatoria varianza corretta, si distribuisce secondo un χ^2 con $n-1$ gradi di libertà. L'indice di dispersione può quindi essere così riscritto: $I_D = \frac{s^2(n-1)}{\sigma^2} \frac{\sigma^2}{m} = \frac{\sigma^2}{m} \chi^2$ (Cicchitelli, 2004). In altre parole, nel caso di una distribuzione di Poisson ($\frac{\sigma^2}{m} = 1$), l'indice di dispersione si distribuirà secondo un χ^2 con $n-1$ gradi di libertà.

$$s^2 = a + m^b \quad [5]$$

in cui a è una costante riferita come coefficiente di campionamento e b rappresenta un indice di aggregazione (*Taylor's Power Law Index*) (Boag *et al.*, 1992). I parametri dell'equazione possono essere ottenuti linearizzando l'equazione [5], il che risulta in una regressione lineare del logaritmo delle variabili s^2 e m :

$$\log(s^2) = \log(a) + b \cdot \log(m) \quad [6]$$

Nel dettaglio, b rappresenta il coefficiente angolare della retta e quindi il grado di dipendenza della variabile dipendente (s^2), dalla variabile indipendente (m); a rappresenta invece l'intercetta sull'ordinata.

L'aggregazione è misurata dal parametro b che varia in modo continuo da zero per una distribuzione uniforme, all'infinito per una distribuzione altamente aggregata ed è uguale a 1 nel caso di una distribuzione casuale. È stato suggerito (Taylor, 1970) che il parametro b sia una costante specie-specifica e che possa essere usato per produrre una trasformazione che normalizzi i dati relativi a una data specie parassita. Tuttavia, in uno studio sull'aggregazione dei parassiti di *Oryctolagus cuniculus*, Boag *et al.* (2001) hanno evidenziato cambiamenti temporali nell'aggregazione dei parassiti e come b non fosse una caratteristica stabile delle specie esaminate; tuttavia esso era meno variabile per alcune specie rispetto ad altre, probabilmente a causa di differenze nel ciclo di vita.

Il *Taylor's Power Law Index* non può essere usato per quantificare il grado di aggregazione presente in un campione singolo; comunque esso può essere utile quando sia disponibile una collezione di campioni da differenti località, popolazioni o specie (si veda Shaw e Dobson, 1995). Oppure, poiché diversamente dal parametro k della distribuzione binomiale negativa, b è indipendente dalla dimensione del campione e dalla media, può essere usato per analizzare come l'aggregazione vari in sottocampioni di una *dataset* diviso per sesso, età o altre variabili, applicando una tecnica statistica di ricampionamento detta *bootstrapping* (Boag *et al.*, 2001).

Valori di b compresi tra 1 e 2 sono coerenti con una distribuzione binomiale negativa (Wilson *et al.*, 2001).

Come la distribuzione di Poisson descrive una distribuzione casuale, la distribuzione binomiale negativa è la rappresentazione statistica dell'aggregazione e da quando Crofton (1971a) la suggerì, il suo adattamento (*fitting*) alle distribuzioni di parassiti è diventato pratica comune. In generale, se la distribuzione delle frequenze osservate dei parassiti non si discosta dalle frequenze predette dalla distribuzione binomiale negativa, allora i parassiti sono considerati aggregati. L'adattamento è generalmente così buono che ogni discrepanza è considerata come evidenza di mortalità dell'ospite indotta dal parassita: gli ospiti con cariche parassitarie elevate sono presenti in popolazione, ma non vengono campionati a causa della loro elevata mortalità (Rousset *et al.*, 1996). In diversi modelli statistici la distribuzione binomiale negativa si è dimostrata molto utile per simulare *pattern* realistici di aggregazione parassitaria e un'indicazione del grado di aggregazione nella popolazione ospite può essere ottenuta dal parametro k della seguente equazione² (Fisher, 1941; Bliss e Fisher, 1953; Ross e Preece, 1985):

$$s^2 = m + \frac{m^2}{k} \quad [7]$$

Da cui si ricava:

$$k = \frac{m^2}{(s^2 - m)} \quad [8]$$

² Sia $(1 - \frac{1}{1+p})^{-k}$ la funzione generatrice di probabilità della distribuzione binomiale negativa, la media e la varianza saranno rispettivamente uguali a kp e $kp(1+p)$. Sostituendo il valore di $p = \frac{m}{k}$, si ottiene: $s^2 = m + \frac{m^2}{k}$ (per maggiori dettagli si veda l'Appendice 1).

Quando k è elevato, la distribuzione tende a quella di Poisson ($s^2 \rightarrow m$) e i parassiti sono casualmente distribuiti; quando il valore di k diminuisce, l'aggregazione aumenta (Fisher *et al.*, 1943).

Nella maggior parte delle infezioni parassitarie, sia umane che animali k è < 1 (Shaw e Dobson, 1995). L'equazione [8] offre solo un'approssimazione di k e può produrre stime non completamente affidabili specie quando m è grande, k è piccolo o quando la dimensione del campione (n) è ridotta. Una stima più accurata, che tiene conto della dimensione del campione, è data dalla seguente formula (Wilson *et al.*, 2001):

$$k = \frac{(m^2 - \frac{s^2}{n})}{(s^2 - m)} \quad [9]$$

Tale stima prende il nome di stima dei momenti corretti (*corrected moment estimate*). La stima più corretta di k si ottiene comunque dall'applicazione della tecnica di massima verosimiglianza o *maximum-likelihood*³ alla distribuzione di frequenza dei parassiti nella popolazione ospite (Bliss e Fisher, 1953; Anderson e May, 1982; Pacala e Dobson, 1988). Questo risultato può essere raggiunto tramite una procedura iterativa che ripete un'alternanza di due passi: il calcolo del valore atteso della *likelihood* in base alla stima corrente per la distribuzione dei parametri e il calcolo dei parametri che massimizzano la verosimiglianza attesa determinata al passo precedente (Bliss e Fisher, 1953; Ross e Preece, 1985). Per motivi pratici spesso si preferisce massimizzare una trasformazione monotona della funzione di verosimiglianza, ovvero il suo logaritmo.

Insieme al rapporto s^2/m , il k della binomiale negativa è l'indice di aggregazione più comunemente impiegato. Il suo uso non è tuttavia del tutto privo di problemi. Infatti, k non è molto sensibile alla coda della distribuzione, cioè agli ospiti con elevate cariche parassitarie, e non varia molto al variare del loro numero (Scott,

³ Metodo che trova le stime dei parametri che massimizzano la probabilità di osservare, in base al modello di distribuzione di probabilità o densità scelto, una data realizzazione campionaria.

1987a). Inoltre, confronti dei livelli di aggregazione tra campioni differenti usando k come indice, possono essere totalmente inaffidabili essendo k fortemente dipendente dal numero medio di parassiti per ospite (Scott, 1987a). Secondo Scott (1987a), il rapporto s^2/m è una misura migliore del grado di aggregazione (cioè della lunghezza della coda della distribuzione), mentre k fornirebbe maggiori informazioni circa la dispersione dei dati intorno alla media. Quindi, il rapporto tra varianza e media dovrebbe essere usato quando il numero di ospiti non infetti è grande, viceversa k . Essendo inoltre k dipendente dalla media, s^2/m dovrebbe essere preferito quando vengono confrontate distribuzioni di parassiti in popolazioni che differiscono nella prevalenza e nell'abbondanza dell'infezione.

Un'altra stima di aggregazione, usata meno di frequente ma utile quando si scelga di usare un approccio squisitamente ecologico considerando il punto di vista del parassita, è rappresentata dall'indice di affollamento di Lloyd (1967) (*Mean Crowding Index* m^* o *Patchiness Index*, m^*/m) che esprime il grado di affollamento sperimentato in media da un parassita:

$$m^* = m + \frac{s^2}{m} - 1 \quad [10]$$

Quando la distribuzione dei parassiti approssima la distribuzione binomiale negativa, la stima del *Mean Crowding Index* è uguale a $m(1 + \frac{1}{k})$ o nel caso del *Patchiness Index* a $1 + \frac{1}{k}$. In questo modo, il parametro k della distribuzione binomiale negativa acquisisce una interpretazione ecologica intuitivamente significativa: il reciproco di k è quella proporzione attraverso la quale il *Mean Crowding Index* eccede la densità media. Poiché k^{-1} misura il grado di aggregazione, addizionando 1 a questa misura, si ottiene il termine $1 + \frac{1}{k}$ che è interpretabile in termini di esperienza media di ciascun individuo all'aggregazione; in altre parole, permette di misurare quanto più *crowding* sperimenta un individuo

rispetto a quello che sperimenterebbe se provenisse da una popolazione distribuita in modo *random*.

Un indice di aggregazione più recente è rappresentato dall'Indice di Discrepanza D (Poulin, 1993), che quantifica l'aggregazione come discrepanza tra la distribuzione parassitaria osservata (la curva della figura 1) e la distribuzione ipotetica in cui tutte le infrapopolazioni sono della stessa dimensione (distribuzione uniforme, la retta della figura 1):

$$D = 1 - \frac{2 \sum_{i=1}^n \{ \sum_{j=1}^i x_j \}}{xn(n + 1)} \quad [11]$$

dove x è il numero di parassiti nell'ospite j (dopo che gli ospiti siano stati ordinati dal meno parassitato al più parassitato) e n è il numero di ospiti.

L'Indice di Discrepanza può quindi essere quantificato come rapporto tra le aree $A/A+B$ e varia da 0 (nessuna aggregazione) a 1 quando l'aggregazione raggiunge il valore ipotetico massimo in cui tutti i parassiti sono nello stesso ospite, rendendo più semplice il confronto tra gruppi di dati che differiscano in prevalenza o abbondanza parassitaria.

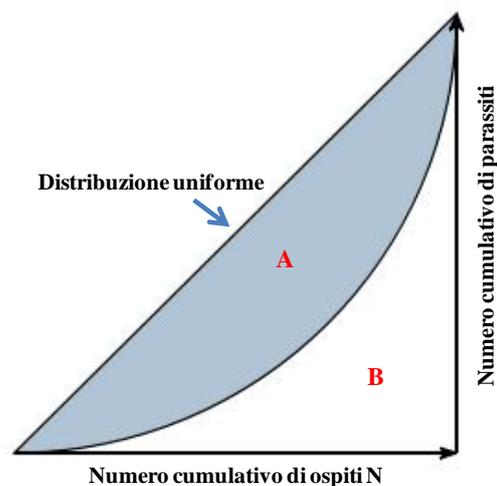


Figura 1. Discrepanza relativa D tra la distribuzione osservata dei parassiti (curva) e la loro ipotetica distribuzione uniforme (retta) (da Dobson, 1986).

4. Raccolta e analisi dei dati parassitologici

Un fattore variabile che affligge ugualmente tutte le misure di aggregazione è la dimensione del campione (Poulin, 1993). I veri livelli di aggregazione sono infatti sempre sottostimati quando sono calcolati su piccoli campioni, producendo una relazione positiva tra la dimensione del campione e i livelli di aggregazione. Tale relazione è un artefatto statistico come è stato dimostrato in uno studio di simulazione condotto da Gregory e Woolhouse (1993) in cui, quando diminuivano le dimensioni dei campioni estratti da un'ipotetica popolazione, l'aggregazione e l'abbondanza parassitaria venivano sottostimate.

Questa è un'inevitabile conseguenza dell'aggregazione dei parassiti: gli ospiti fortemente parassitati sono poco frequenti ed è quindi improbabile che siano inclusi in piccoli campioni. È importante quindi effettuare dei campionamenti numericamente significativi e che il campione sia stratificato in modo da campionare in tutti i gruppi demografici (età, sesso, stato riproduttivo, ecc.) e per unità di campionamento (periodo di tempo, densità di popolazione, localizzazione, ecc.) (Wilson *et al.*, 2001). La maggior parte dei dati parassitologici che normalmente vengono raccolti, derivano purtroppo da campionamenti "opportunistici", effettuati su individui morti o che presentano sintomi di malattia. Dati di questo tipo rappresentano dei campioni potenzialmente distorti della popolazione ospite dal momento che gli animali parassitati possono essere più o meno suscettibili al processo di campionamento rispetto ai non parassitati (Wilson *et al.*, 2001). Inoltre in studi sul campo, dove spesso le dimensioni dei campioni declinano con l'età dell'ospite a causa della mortalità, la stima dell'aggregazione può decrescere anch'essa. Ancora, se il campione non è correttamente stratificato in relazione alla struttura demografica della popolazione ospite, i *pattern* di infezione e aggregazione possono apparire artefatti (Wilson *et al.*, 2001).

L'accuratezza della stima dell'aggregazione e del numero medio di parassiti per ospite cresce al crescere della dimensione del campione, così che questi valori nel campione tendono asintoticamente verso quelli reali della popolazione. Simili

risultati sono stati ottenuti indipendentemente dall'indice di aggregazione usato (Gregory e Woolhouse, 1993). Anche la prevalenza è influenzata dalla dimensione del campione (Gregory e Blackburn, 1991), ma non in modo così marcato quanto la misura di altri parametri (Gregory e Woolhouse, 1993); il calcolo della prevalenza è affetto non dall'assenza degli ospiti altamente parassitati ma dalla proporzione degli ospiti non infetti, e questa proporzione in effetti non varia sostanzialmente con la dimensione del campione.

Il fatto che la distribuzione dei parassiti nella popolazione ospite sia di tipo aggregato implica che i metodi statistici comunemente utilizzati, come la regressione lineare e l'analisi della varianza, non possano essere utilizzati perché si basano sull'assunto che i dati presentino una distribuzione di tipo Normale⁴. La trasformazione logaritmica dei dati, che di solito viene utilizzata per normalizzare i dati, può non risultare adeguata quando la distribuzione è altamente aggregata o la carica media dei parassiti è bassa (Wilson e Grenfell, 1997). I metodi statistici attualmente utilizzati comprendono i *Generalized Linear Models* (GLM) e i *Tree-Based Models*. I GLM sono generalizzazioni dei classici modelli lineari che tengono conto del tipo di distribuzione statistica dei dati. Così, invece di assumere una distribuzione dei dati di tipo Normale, essi assumono distribuzioni di tipo Poissoniano o binomiale negativo. In questo modo il *fit* di un GLM risulta migliore di quello ottenuto con i classici modelli lineari, anche quando sia stata effettuata una trasformazione logaritmica dei dati (Wilson e Grenfell, 1997).

I *Tree-Based Models* sono modelli che permettono di dividere, secondo un sistema ad albero, i dati in *cluster* con caratteristiche simili. La struttura gerarchica di questi modelli permette la selezione automatica delle variabili predittive più importanti. Questi modelli sono adeguati per analizzare dati sia di tipo continuo (*regression tree*) che categorico (*classification tree*) (Breiman *et al.*, 1984).

⁴ Più rigorosamente, tali metodi assumono che la distribuzione degli errori sia Normale e che le varianze siano omogenee.

5. *Pattern* di aggregazione

Qualunque indice di aggregazione si scelga, il risultato è sempre lo stesso: le popolazioni di parassiti sono aggregate, discostandosi nettamente da una distribuzione casuale. Usando il rapporto tra la varianza e la media, Shaw e Dobson (1995) hanno trovato che tutte le 269 popolazioni di parassiti esaminate, tranne una, avevano tale rapporto significativamente più grande di uno e quindi una distribuzione che si discostava dalla distribuzione di Poisson. Lo stesso quadro emergeva quando veniva usato il parametro k della distribuzione binomiale negativa.

La vasta indagine svolta da Shaw e Dobson riguardava solo parassiti di ospiti vertebrati e sebbene non esista un lavoro simile relativamente ad ospiti invertebrati, ci sono molte evidenze che l'aggregazione sia la norma. Rolff (2000), ad esempio, ha raccolto dati sulla distribuzione di acari parassiti di insetti acquatici trovando che il rapporto tra varianza e media era più basso di quelli trovati da Shaw e Dobson, ma comunque ben più grande dell'unità. Alcuni autori sostengono che la distribuzione aggregata dei parassiti nei loro ospiti segua *pattern* quantitativi comuni, con circa il 20% degli ospiti che ospitano l'80% dei parassiti. Questa regola, che è stata chiamata legge venti-ottanta, sebbene sia stata riscontrata in numerosi sistemi ospite-parassita (Woolhouse *et al.*, 1997, Perkins *et al.*, 2003; Ferrari *et al.*, 2004), non si applica comunque alla maggioranza dei sistemi presi in esame da Shaw e Dobson (1995) e quindi non rappresenta un modello generale. I livelli di aggregazione non sono fissati, ma variano tra le popolazioni parassite insieme ad altri parametri di infezione correlati, in particolare la prevalenza. La frazione della popolazione ospite usata dai parassiti è una componente di ciò che si misura come aggregazione; quindi, più alta sarà la prevalenza dell'infezione, più grande sarà la dispersione dei parassiti tra gli ospiti disponibili e quindi inferiore sarà l'aggregazione; questa relazione inversa tra prevalenza e aggregazione è stata ben documentata (Anderson, 1982; Poulin, 1993). Anche per questa ragione, non ci si può aspettare che la legge venti-ottanta o ogni altro *pattern* costante di aggregazione possa applicarsi generalmente a tutti i sistemi ospite-parassita.

Tuttavia, ci sono alcuni vincoli che agiscono sui livelli di aggregazione: per una data abbondanza è possibile osservare solo un certo *range* nei livelli di aggregazione.

Questo appare evidente quando si rappresenta in un grafico il logaritmo dell'abbondanza in funzione del logaritmo della varianza (Shaw e Dobson, 1995).

Non meraviglia che questa relazione sia lineare, ma ciò che è interessante è l'eccellente *fit* della retta di regressione con i punti. Shaw e Dobson (1995) hanno suggerito che il grado di aggregazione dei parassiti sia vincolato per ogni data abbondanza. Il compromesso tra l'alta mortalità degli ospiti (e dunque dei parassiti) quando i livelli di aggregazione sono alti, e le ridotte opportunità di accoppiamento per i parassiti quando i livelli di aggregazione sono molto bassi, potrebbe limitare i livelli osservati di aggregazione a un *range* relativamente stretto di valori intermedi.

Infine, sebbene ubiquitaria, l'aggregazione dei parassiti non è universale; esistono infatti, alcune eccezioni a questo *pattern* generale. Diverse forze ecologiche, come la mortalità intensità-dipendente dei parassiti e la mortalità dell'ospite indotta dai parassiti, agiscono diminuendo l'aggregazione (Anderson e Gordon, 1982).

6. Conseguenze dell'aggregazione

L'effetto più ovvio dell'aggregazione sulla biologia dei parassiti è che l'intensità della competizione intraspecifica per lo spazio o i nutrienti non sarà uguale per tutti gli individui in una popolazione, ma sarà invece proporzionale alla dimensione dell'infrapopolazione (Poulin, 2007). I parassiti in infrapopolazioni grandi sperimentano, quindi, un "effetto *crowding*" (Read, 1951), ed è stato ampiamente documentato come sia la crescita sia la fecondità mostrino una pronunciata densità-dipendenza in molti *taxa* di elminti (Keymer *et al.*, 1983; Keimer e Slater, 1987; Jones *et al.*, 1989; Quinnell *et al.*, 1990; Shostak e Scott, 1993). La forma della relazione tra la crescita dei parassiti o la fecondità e le dimensioni dell'infrapopolazione indica la forza della densità-dipendenza.

Sebbene la *fitness* media dei parassiti sia più bassa in infrapopolazioni grandi, esiste comunque una certa plasticità fenotipica relativamente alle dimensioni

raggiunte ed alla fecondità (Dobson, 1986). La popolazione parassita adulta può consistere di numerosi piccoli individui con scarsa fecondità o di pochi individui di grandi dimensioni con fecondità elevata, tutti sessualmente maturi che producono uova a un tasso proporzionale alle loro dimensioni.

La distribuzione aggregata impedisce alla maggior parte dei parassiti di raggiungere da adulti le loro dimensioni potenziali, ma non è ancora chiaro se quei pochi parassiti che le raggiungono siano individui con genotipi superiori o se siano favoriti da eventi casuali che seguono l'infezione (come l'assicurarsi un buon punto di attacco). Dobson (1986) ha proposto l'uso della *curva di Lorenz* (detta anche curva di concentrazione, usata per rappresentare graficamente il grado di concentrazione di una variabile) e del *coefficiente di Gini* (introdotto dallo statistico Corrado Gini come misura della disuguaglianza di una distribuzione) per misurare il grado di disuguaglianza nelle dimensioni del corpo, che sarebbero in relazione diretta con la fecondità nella maggior parte degli elminti parassiti (Poulin e Latham, 2002), tra parassiti cospecifici in una popolazione.

Dobson (1986) ha suggerito che il *coefficiente di Gini* potrebbe indicare in quale misura una larga frazione della riproduzione nella popolazione parassita sia realizzata da solo pochi individui. Studi successivi dei sistemi ospite-parassita dove la misura della fecondità dei parassiti è stata ottenuta direttamente, hanno mostrato come disuguaglianze nella produzione di uova siano più pronunciate di quelle nelle dimensioni del corpo (Shostak e Dick, 1987; Szalai e Dick, 1989). Tipicamente, in popolazioni parassite altamente aggregate, solo pochi parassiti possono essere responsabili della produzione totale di uova, cosicché il contributo genetico alla generazione successiva è profondamente diseguale tra gli individui.

Nella genetica delle popolazioni, è la dimensione "effettiva" della popolazione, ovvero il numero di individui che contribuisce coi propri geni alla generazione successiva, e non la dimensione reale della popolazione che determina l'ammontare relativo di deriva genetica. Nelle popolazioni aggregate di parassiti, la dimensione effettiva della popolazione può essere più vicina al numero di ospiti infetti che al numero totale di parassiti dato che solo pochi parassiti per ospite emettono quantità

elevate di uova (Dobson, 1986; Criscione e Blouin, 2005). Nel caso di popolazioni effettive di piccole dimensioni, la propagazione di alleli benefici può essere più lenta e i cambiamenti casuali nella frequenza allelica causati da eventi stocastici divengono più probabili (Nadler, 1995).

L'impatto negativo dell'aggregazione sulle dimensioni effettive delle popolazioni si applica certamente ai parassiti ermafroditi come i cestodi e la maggior parte dei digenei. Nei parassiti dioici questo effetto può essere ulteriormente rafforzato da un diseguale rapporto tra i sessi, che è caratteristico di molti *taxa* di elminti. Esistono alcune evidenze tuttavia che la *sex ratio* dei parassiti approssimi l'unità ad alte intensità di infezione; in questo caso l'effetto netto dell'aggregazione sulla dimensione effettiva della popolazione di parassiti dioici potrebbe essere positivo (Criscione e Blouin, 2005).

Negli ultimi anni è cresciuto il numero di studi sulla variabilità genetica all'interno e tra le popolazioni parassite e ci si è chiesti se tale variabilità possa essere influenzata dall'aggregazione dei parassiti nelle popolazioni ospiti. Nadler (1990) ha trovato che i livelli di variabilità genetica nelle popolazioni di elminti parassiti sembrano essere più bassi rispetto a quelli riportati per invertebrati a vita libera. La proporzione di individui eterozigoti osservati per ciascun *locus* era cioè più bassa per i parassiti. Un risultato ancora più netto è stato ottenuto quando la variabilità genetica è stata misurata come proporzione di *loci* polimorfici sul numero totale di *loci* esaminati (Bush *et al.*, 2001). Tuttavia, studi recenti sul DNA mitocondriale hanno permesso di evidenziare come le popolazioni di elminti parassiti mostrino livelli di diversità genetica alti almeno quanto quelli degli animali a vita libera (Blouin *et al.*, 1992; Bush *et al.*, 2001). Questo è certamente vero per parassiti come *Ostertagia* ed *Haemonchus* che formano infrapopolazioni di migliaia di individui e mostrano alti livelli di variabilità genetica all'interno delle loro popolazioni. Gli effetti dell'aggregazione sulle dimensioni effettive delle popolazioni e sulla variabilità genetica all'interno delle popolazioni di questi parassiti, sembrerebbero minimi (Blouin *et al.*, 1992, 1995). Diversamente, le popolazioni di *Ascaris* hanno alti livelli

di omozigosi probabilmente a causa delle dimensioni più elevate di questi parassiti che rendono gli effetti negativi del *crowding* più marcati (Nadler *et al.*, 1995).

L'aggregazione può anche influenzare l'emergere di tratti recessivi, ovvero la produzione di omozigoti rari, perché essa garantisce un certo grado di consanguineità conseguentemente al fatto che le uova presenti nello stesso deposito fecale sono più simili geneticamente rispetto alle uova in depositi di feci differenti e verranno probabilmente trasmesse insieme allo stesso ospite (Cornell *et al.*, 2003). Questo fenomeno potrebbe spiegare la rapida insorgenza di fenotipi recessivi farmaco-resistenti nelle popolazioni di nematodi (Cornell *et al.*, 2003). Più in generale, l'aggregazione potrebbe, in certe circostanze, permettere un più rapido adattamento dei parassiti in condizioni mutevoli.

Infine, la natura altamente frammentata delle popolazioni parassite può, sempre a causa di fenomeni stocastici, influenzare la *richness* (Poulin, 2007) e la composizione di specie in una popolazione ospite che si sia separata geograficamente da una popolazione d'origine.

7. Cause di aggregazione parassitaria

Dopo aver visto quali conseguenze abbia l'aggregazione sulle popolazioni di parassiti e ospiti e quanto comune sia questo tipo di distribuzione, la domanda più ovvia è chiedersi perché i parassiti siano aggregati e quali siano i fattori chiave che generalmente condizionano la loro distribuzione nella popolazione ospite. Sono stati individuati numerosi fattori, che saranno trattati nei paragrafi seguenti.

7.1 Età dell'ospite

Nella maggior parte delle infezioni da macroparassiti l'età dell'ospite, che riflette l'esposizione cumulativa ai parassiti, è un importante fattore nel determinare cambiamenti nell'intensità parassitaria (Anderson e Gordon, 1982; Anderson e May, 1991).

Le curve età-intensità (figura 2) sono utili per ricavare rilevanti informazioni epidemiologiche, come il tasso di trasmissione dei parassiti e il tasso di mortalità, e

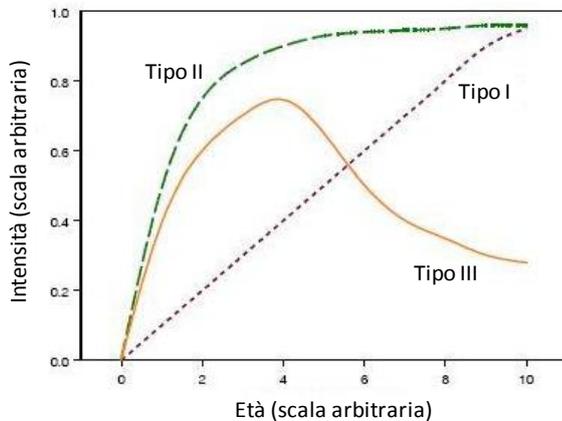


Figura 2. Principali profili delle curve età-intensità (da Wilson *et al.*, 2001).

possono avere tre principali profili (Hudson e Dobson, 1995). Nel caso più semplice (definito *Tipo I* da Hudson e Dobson, 1995) in cui il tasso di acquisizione dei parassiti è costante ed eccede il tasso di mortalità, l'intensità media cresce linearmente con l'età dell'ospite. Se il tasso di mortalità dei parassiti diviene via via approssimativamente uguale al tasso di acquisizione, allora il numero medio di parassiti per ospite aumenterà fino a un asintoto determinato dall'equilibrio dinamico tra questi due tassi (*Tipo II*). Un profilo di questo tipo è tipico dei sistemi in cui agiscono forze densità-dipendenti. Un certo numero di studi sperimentali hanno riportato curve età-intensità che mostrano o una crescita continua della carica parassitaria, o la crescita asintotica con l'età (Hudson e Dobson, 1995). In altri sistemi ospite-parassita, la curva età-intensità è convessa, ovvero dopo una crescita iniziale segue un declino della carica parassitaria (*Tipo III*). Queste differenti relazioni tra carica parassitaria ed età degli ospiti sono generalmente specifiche per il tipo di interazione ospite-parassita e possono variare tra diverse popolazioni.

Una curva età-intensità convessa può essere generata da numerosi meccanismi, fra cui la mortalità dell'ospite indotta dai parassiti, l'immunità acquisita o cambiamenti legati all'esposizione ai parassiti. In alcuni sistemi tutti questi processi possono giocare un ruolo nel determinare il profilo finale della curva (Hudson e Dobson, 1995). In popolazioni dove i tassi di trasmissione sono elevati, il livello di infezione crescerà rapidamente e sarà seguito da un rapido incremento nell'immunità acquisita dell'ospite; conseguentemente si osserverà un picco dell'intensità in età

precoce cui seguirà un declino a un tasso più rapido dovuto all'immunità. Diversamente, in popolazioni dove i tassi di trasmissione del parassita sono bassi,

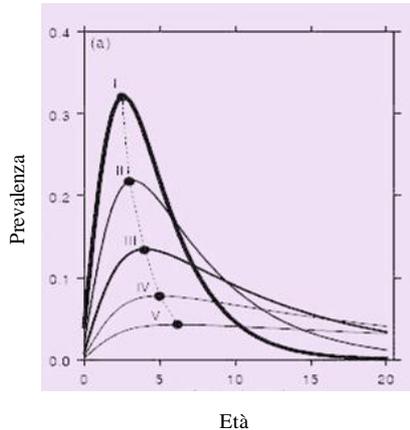


Figura 3. Relazione tra prevalenza ed età in popolazioni soggette a differenti tassi di trasmissione (da Wilson *et al.*, 2001).

l'intensità e l'immunità acquisita cresceranno più lentamente culminando più tardi nel picco di infezione. L'effetto dell'immunità acquisita risulterà quindi in una correlazione negativa tra i livelli del picco di infezione e l'età a cui il picco si verifica: questo fenomeno è noto come *peak shift* (Woolhouse, 1998) (figura 3).

Una importante limitazione delle curve età-intensità è che esse dovrebbero essere idealmente costruite da dati longitudinali, che non sono però facilmente reperibili. In alternativa, possono essere ricavate da dati trasversali in cui individui appartenenti a diverse classi di età sono campionati nello stesso momento. Dati di questo tipo riflettono *pattern* di infezione dipendenti sia dall'età, sia dal tempo nel caso in cui l'età sia usata come *proxy* del tempo (Bundy e Medley, 1992).

Sebbene possano essere più facilmente ottenute, le curve età-prevalenza sono indicatori più ambigui delle interazioni ospite-parassita e strumenti meno potenti nello studio dei processi epidemiologici.

7.2 Sesso dell'ospite

Diversi autori hanno osservato come gli individui di sesso maschile di numerose specie animali tendano a esibire cariche parassitarie più elevate rispetto alle femmine.

Esistono differenze biologiche intrinseche tra i due sessi che potrebbero portare un sesso ad essere più propenso dell'altro all'infezione da parassiti. Sebbene il sesso sia spesso citato come fattore in grado di influenzare la carica parassitaria (Esch e Fernandez, 1993), differenze statisticamente significative tra maschi e femmine nei livelli di infezione non sono facili da far emergere. Ci sono molte ragioni per aspettarsi che un sesso sia più parassitato dell'altro: differenze fisiologiche,

morfologiche e comportamentali potrebbero creare un *bias* legato al sesso nei livelli di infezione (Wilson *et al.*, 2001). Le differenze fisiologiche riguardano differenze nei livelli di ormoni steroidei che condizionano sia direttamente che indirettamente il sistema immunitario, oltre che la crescita e lo sviluppo dei parassiti. Per esempio, il testosterone può causare immunosoppressione nei maschi agendo sia sull'immunità cellulo-mediata sia sull'immunità umorale (Grossman, 1985; Folstad e Karter, 1992) ed è stato ipotizzato da alcuni autori (Hamilton e Zuk, 1982) che questo ormone sia responsabile del compromesso fisiologico tra lo sviluppo di caratteri sessuali secondari e la suscettibilità ai parassiti. In altri termini, solo i maschi che hanno un alto grado di resistenza genetica ai parassiti saranno in grado di produrre alti livelli di testosterone esibendo caratteri sessuali secondari attraenti. I parassiti avrebbero dunque un ruolo nel guidare la selezione sessuale. Poulin (1996) ha preso in esame 85 studi presenti in letteratura evidenziando che nei mammiferi e negli uccelli i maschi avevano prevalenze maggiori e nei mammiferi questa relazione era vera anche per l'intensità.

Diversamente dal testosterone, gli estrogeni aumentano la risposta immunitaria umorale mentre inibiscono la risposta cellulo-mediata. Inoltre, ci sono evidenze che il costo energetico della gravidanza (Festa-Bianchet, 1989) insieme agli effetti immunosoppressivi di alcuni ormoni prodotti durante il parto e la lattazione, possano aumentare la suscettibilità delle femmine ai parassiti (Soulsby, 1987) invertendo la tendenza osservata fuori dalla stagione riproduttiva.

7.3 Condizioni fisiche dell'ospite

La risposta all'infezione parassitaria comporta dei costi di tipo energetico per l'individuo ospite. Le condizioni fisiche possono quindi condizionare l'abilità dell'organismo a compensare i danni prodotti dal parassita. Gli ospiti in cattive condizioni fisiche, possedendo meno risorse energetiche da allocare nei processi difensivi nei confronti dell'infezione parassitaria, saranno più predisposti a danni di maggiore intensità oltre che a maggiori livelli di infezione (Wilson *et al.*, 2001).

7.4 Comportamento degli ospiti

Comportamenti differenziati che modifichino l'esposizione ai parassiti indurranno eterogeneità nei livelli di infezione. In generale, le infezioni parassitarie condizionano la *fitness* degli ospiti che hanno quindi sviluppato strategie comportamentali finalizzate a ridurre il contatto coi parassiti. Le strategie comportamentali per evitare il parassitismo o minimizzare il suo impatto sono diverse. Molti animali ad esempio hanno aree di pascolo separate dalle aree di defecazione, così da evitare il contatto con feci contaminate con uova o larve infettanti (Hart, 1994).

7.5 Fattori genetici e immunitari

I fattori genetici ed immunitari sono alla base dei fenomeni di resistenza del singolo individuo ospite all'aggressione dei parassiti, condizionandone la distribuzione all'interno della popolazione. Anche se la capacità del sistema immunitario di rispondere a uno stimolo eterologo è strettamente correlata alla genetica dell'individuo, altri fattori possono influire sull'efficacia della risposta, quali l'intensità dello stimolo (numero di parassiti, frequenza dell'incontro, ecc.) e la *fitness* dell'individuo.

Nelle popolazioni ospiti esiste una grande variabilità genetica nella resistenza ai parassiti, variabilità che è generalmente considerata una potenziale causa di aggregazione (Anderson e Gordon, 1982). È possibile che questa diversità sia mantenuta dal compromesso tra i costi di *fitness* associati alla resistenza e quelli associati al parassitismo (May e Anderson, 1983).

Un altro meccanismo capace di mantenere la variabilità genetica nella resistenza ai parassiti è una così detta "corsa alle armi" coevolutiva tra l'ospite e il parassita in cui ciascun contendente è continuamente chiamato a rispondere e a controrispondere alle pressioni selettive imposte dall'altro (Stenseth e Maynard-Smith, 1984).



Illustrazione di Sir John Tenniel (1820-1914)

Questo processo è conosciuto come Ipotesi della Regina Rossa (*Red Queen Hypothesis*), formulata da Van Halen (1973), secondo cui la coevoluzione di specie interagenti (ad esempio un sistema ospite-parassita) porta ad evoluzione molecolare attraverso una continua selezione naturale per adattamento e controadattamento. Tale teoria deve il suo nome ad un passaggio del libro *Through the Looking Glass* di Lewis Carroll, in cui la Regina Rossa dice ad Alice: “*Now, here, you see, it takes all the running you can do, to keep in the same place, if you want to get somewhere else, you must run at least twice as fast as that!*”.

7.6 Fattori di eterogeneità estrinseci

Alcuni fattori estrinseci possono condizionare la distribuzione dei parassiti negli ospiti. Tra essi, il tipo di distribuzione degli stadi infettanti nell'ambiente può condizionare la probabilità di contatto tra ospiti e parassiti e quindi generare eterogeneità nei livelli di infezione degli ospiti. Alcuni eleganti esperimenti condotti Keymer e Anderson (1979) su *Tribolium confusum*, hanno ad esempio evidenziato come una distribuzione di tipo uniforme degli stadi infettanti (uova) di *Hymenolepis diminuta* inducesse un'aggregazione meno marcata dei cisticercoidi nell'insetto ospite rispetto a una distribuzione degli stadi infettanti di tipo aggregato. In ogni caso, comunque, la distribuzione dei parassiti era aggregata e il grado di aggregazione tendeva a un asintoto superiore al crescere dell'aggregazione delle uova. Questo significa che le eterogeneità spaziali nella distribuzione degli stadi infettanti possono accentuare differenze comportamentali o immunologiche esistenti tra gli ospiti.

Anche le variazioni stagionali di abbondanza degli stadi infettanti legati al ciclo biologico dei parassiti rappresentano fattori importanti in grado di condizionare la distribuzione dei parassiti negli ospiti. Tra le variazioni stagionali, vanno inoltre annoverate le modificazioni temporali di suscettibilità o esposizione all'infezione

legate ad esempio a fattori fisiologici (attività riproduttiva) o comportamentali dell'ospite. I fattori climatici, come la temperatura e le precipitazioni, svolgono un ruolo importante nel condizionare l'epidemiologia di molte infezioni parassitarie. L'effetto diretto di questi fattori condiziona, ad esempio, l'abbondanza di ospiti intermedi o di vettori, oltre che la durata e lo sviluppo degli stadi infettanti nell'ambiente (Wilson *et al.*, 2001).

CAPITOLO 2

Dinamica di popolazione e di infezione

1. Introduzione

Il modo in cui parassiti possono influenzare la dinamica della popolazione ospite è stato chiaramente dimostrato trent'anni fa nei pionieristici lavori di Anderson e May (Anderson e May, 1978, 1979, 1981; May e Anderson, 1978, 1979). Da allora c'è stata una grande quantità di ricerche volte allo sviluppo di modelli matematici per studiare la dinamica di popolazione e l'interazione ospite-parassita.

Questi modelli sono serviti da fondamento per i modelli successivi, che sono essenzialmente modificazioni dei modelli originali di Anderson e May adattati a condizioni più specifiche in cui sono state incorporate, ad esempio, altre specie ospiti (Begon *et al.*, 1992; Dobson, 2004), l'immunità acquisita (Woolhouse, 1992; Roberts, 1999) o la stagionalità (White *et al.*, 1996; Altizer *et al.*, 2006). La conseguenza è stata una progressiva comprensione dei fattori chiave che influenzano la trasmissione dei parassiti, l'incidenza delle infezioni e la dinamica dei sistemi ospite-parassita in generale; i modelli matematici sono diventati, quindi, strumenti preziosi per la comprensione di come questi sistemi funzionino, e conseguentemente per l'attuazione di programmi di controllo delle malattie parassitarie.

Nel caso delle infezioni da macroparassiti, la costruzione di un modello matematico deve tener conto della peculiarità dell'interazione tra ospiti e macroparassiti e dei vari fattori che regolano la numerosità finale della popolazione parassita nell'ospite oltre che del tipo di distribuzione da essi assunto. L'impatto dei parassiti come forza regolatrice è infatti criticamente dipendente dal grado di aggregazione dei parassiti nella popolazione ospite (Anderson e May 1978; May e Anderson, 1978). Il fatto che l'interazione ospite-parassita sia stabile o porti a dinamiche cicliche o addirittura caotiche dipenderà però non dalla sola aggregazione,

ma dall'interazione tra distribuzione dei parassiti, virulenza, efficienza di trasmissione e tasso di crescita della popolazione ospite in assenza dei parassiti.

Per esempio, quando la virulenza del parassita è alta, la stabilità sarà raggiunta solo se l'aggregazione dei parassiti diminuisce (quindi k cresce); diversamente troppi parassiti sarebbero persi dal sistema a causa della mortalità indotta dai parassiti. In generale, quando k cresce e i parassiti diventano più uniformemente distribuiti nella popolazione ospite, la mortalità indotta dai parassiti cresce e declina la densità della popolazione ospite all'equilibrio (Wilson *et al.*, 2001).

Secondo la definizione data da Scott e Dobson (1989), per regolazione si intende l'insieme dei processi che riducono la sopravvivenza *pro capite* o la fecondità in una popolazione al crescere della densità della popolazione stessa. In altre parole, affinché ci sia regolazione, deve essere chiara l'influenza di forze densità-dipendenti sulla mortalità dell'ospite o sulla sua *fitness* riproduttiva. In assenza di fattori di regolazione la popolazione o si estingue o cresce all'infinito oppure è soggetta a continue oscillazioni casuali dovute a fattori indipendenti dalla densità.

Con particolare riferimento ai parassiti, i fattori di regolazione delle popolazioni sono quelli condizionati dalla densità di popolazione dei parassiti stessi (Barger, 1986; Anderson e May, 1978), cosicché il loro effetto deprimente sulla crescita delle popolazioni è più evidente all'aumentare della densità.

2. Dinamica della popolazione ospite

Una popolazione deve essere considerata come un'entità dinamica e, come tale, soggetta a fluttuazioni del numero degli individui che la compongono in un preciso contesto ambientale; ne deriva che le sue modalità di accrescimento non sono determinate solamente da parametri di ordine demografico, ma anche dalla capacità dell'ambiente di accogliere un numero più o meno grande di organismi.

Assumendo che vi sia una popolazione di ospiti sana e in assenza di predatori, la crescita di tale popolazione segue il modello basilare della curva di accrescimento logistico (Campbell e Reece, 2004):

$$\frac{dN}{dt} = r_{max} N \left(1 - \frac{N}{K}\right) \quad [12]$$

Il modello di crescita logistica incorpora il concetto di capacità portante K , ovvero il numero massimo di individui di una popolazione che un particolare ambiente è in grado di sostenere. Le popolazioni dispongono infatti di quantità limitate di risorse e quando aumenta la densità di popolazione N , ogni individuo ha accesso a una quantità progressivamente minore di risorse.

Da un punto di vista matematico, il modello di crescita logistica viene costruito partendo dal modello di crescita esponenziale e introducendo un termine che riduce il tasso di accrescimento della popolazione con l'aumentare di N (Campbell e Reece, 2004). Una crescita che si verifica in condizioni ideali, caratterizzate dal fatto che gli organismi sono limitati esclusivamente dal proprio ciclo biologico, è definita crescita esponenziale:

$$\frac{dN}{dt} = r_{max} N \quad [13]$$

In queste condizioni, il tasso di crescita *pro capite* r (pari alla differenza tra il tasso *pro capite* di natalità e di mortalità) può assumere il valore del massimo tasso di crescita della specie, noto come tasso intrinseco di accrescimento r_{max} . La dimensione di una popolazione che si accresce esponenzialmente aumenta rapidamente e, quando in un grafico se ne riporta la dimensione rispetto al tempo, la curva assume una forma a J. Sebbene il tasso intrinseco di accrescimento rimanga costante quando una popolazione si accresce, in realtà alla popolazione si aggiunge un numero maggiore di individui quando essa è più numerosa rispetto a quando essa è costituita da pochi individui e la curva diviene progressivamente più ripida col passare del tempo. Ciò è dovuto al fatto che la crescita di popolazione dipende sia da N sia da r e, a parità di tassi di natalità e mortalità *pro capite*, nelle popolazioni grandi nasce e muore un numero maggiore di individui rispetto a quanto si verifica nelle popolazioni piccole (Campbell e Reece, 2004).

Il modello di crescita logistica tiene conto, quindi, dell'effetto esercitato dalla densità di popolazione sul tasso di crescita *pro capite*, permettendo a tale tasso di variare da un valore massimo, quando la dimensione della popolazione è piccola (ovvero quando il tasso effettivo di crescita della popolazione dN/dt è vicino al suo tasso intrinseco di accrescimento r_{max}), fino a zero quando la popolazione raggiunge la propria capacità portante (quando $N = K$, $dN/dt = 0$). Riportando N rispetto al

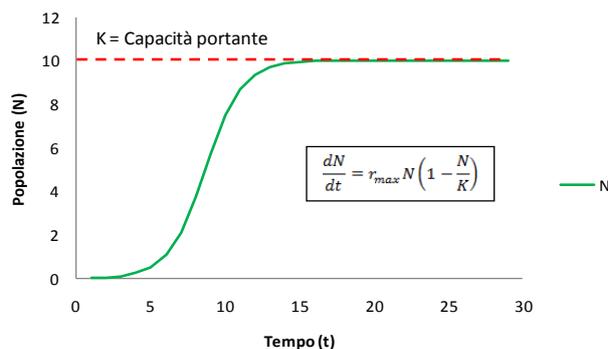


Figura 4. Grafico della curva di accrescimento logistico.

tempo, il modello logistico della crescita di popolazione produce una curva sigmoideale (figura 4).

I nuovi individui si aggiungono alla popolazione più rapidamente quando questa è caratterizzata da dimensioni intermedie, ossia quando la popolazione non solo ha

raggiunto una certo numero di individui che si riproducono, ma vi è contemporaneamente ancora la disponibilità di spazio e altre risorse ambientali che permettono la crescita della popolazione. Le cause che provocano il cambiamento del tasso di crescita con l'avvicinamento di N a K possono agire sul tasso di natalità diminuendolo, sul tasso di mortalità aumentandolo o su entrambi (Campbell e Reece, 2004). Un tasso di mortalità che aumenta all'aumentare della densità di popolazione viene detto densità-dipendente; lo stesso vale per una tasso di natalità che si abbassa con l'aumentare della densità. I tassi densità-dipendenti costituiscono un esempio di *feedback* negativo. Quando viene raggiunta la capacità portante, la crescita della popolazione si stabilizza e i tassi di mortalità e natalità divengono uguali. A questo punto la dimensione della popolazione rimarrà costante salvo che per fluttuazioni erratiche in risposta a cambiamenti nella disponibilità delle risorse, fluttuazioni che possono essere influenzate anche da competizione, predatorismo e parassitismo (Bush *et al.*, 2001).

3. Regolazione della popolazione ospite

Per lungo tempo gli ecologi hanno considerato i parassiti come benigni, predatori specializzati che vivono in equilibrio con i loro ospiti (Lack, 1954) e dunque incapaci di influenzare la dinamica delle popolazioni ospiti. Se un ruolo regolatore veniva dato loro, questo risiedeva nel fatto che alla morte dell'ospite consegue necessariamente anche quella del parassita. In quest'ottica, il verificarsi di epidemie in grado di causare mortalità massiva negli ospiti, è da considerarsi un caso limite in cui l'intervento di fattori ambientali disturba il delicato equilibrio ospite-parassita.

Evidenze teoriche e sperimentali hanno dimostrato quanto queste teorie fossero miopi. Il modo in cui i parassiti possono influenzare la dinamica di popolazione degli ospiti è stato chiaramente dimostrato oltre 30 anni fa da Anderson e May (Anderson e May, 1978; May e Anderson, 1978). I modelli matematici sviluppati da questi autori per i macroparassiti dimostrano che i parassiti sono in grado di regolare le popolazioni di ospiti se essi riducono la sopravvivenza degli ospiti e/o la fecondità in maniera densità-dipendente. Dimostrare la regolazione di una popolazione ospite da parte della popolazione parassita richiede lo studio di sistemi in cui le popolazioni di entrambi possono essere sperimentalmente perturbate e i conseguenti cambiamenti nella fecondità, nella sopravvivenza e nella densità monitorati nel tempo (Hudson e Dobson, 1995). Sfortunatamente condizioni di questo tipo sono di difficilissima realizzazione in studi sul campo. In condizioni di laboratorio i parassiti hanno mostrato di ridurre drasticamente le dimensioni delle popolazioni ospiti (Hudson e Dobson, 1995). A questo proposito, uno dei più chiari esempi è stato fornito da Scott (1987b), che mise a punto una serie di esperimenti il cui scopo era confrontare la dinamica di popolazione di colonie di topi da laboratorio infette e non infette. Nelle colonie non infette, i tassi di natalità e mortalità si stabilizzavano quando veniva raggiunta la densità di 320 topi/m², per intervento di meccanismi intrinseci di regolazione della popolazione in una situazione in cui l'emigrazione era impossibile (mortalità densità-dipendente tra i giovani, cannibalismo, diminuzione del tasso di

fecondità). Quando *Heligmosomoides polygyrus*, un comune nematode intestinale dei topi, veniva introdotto in una popolazione *naive*, l'impatto era drammatico e il 90% dei topi morivano. Inoltre, alla rimozione dei parassiti tramite trattamento antielmintico, seguiva un rapido incremento del tasso di crescita della popolazione. È lampante, quindi, la dimostrazione di come il parassita fosse in grado di regolare la popolazione ospite riducendone la densità di equilibrio rispetto ai livelli esistenti in assenza di parassiti. Scott (1987b) osservò, comunque, che questi esperimenti erano condotti con popolazioni mai esposte prima al parassita, da cui gli elevati tassi di mortalità osservati, e concluse rimarcando la necessità di valutare l'importanza relativa del parassitismo rispetto ad altri fattori di regolazione, fattori che non possono essere trascurati dagli ecologi che di occupano di popolazioni a vita libera.

L'integrazione di dati empirici in modelli matematici ha dimostrato come i parassiti possano destabilizzare la popolazione ospite e generare in questa fluttuazioni cicliche quando esistono nel sistema ospite-parassita alcune condizioni specifiche, in particolare quando l'impatto dei parassiti è più marcato sulla fertilità che non sulla mortalità dell'ospite, quando presentano una distribuzione *random* nella popolazione e quando possiedono stadi infettanti che persistono a lungo nell'ambiente esterno (May e Anderson, 1978; Hudson e Dobson, 1995). Numerosi studi condotti sul sistema *Trichostrongylus tenuis* - pernice bianca di Scozia (*Lagopus lagopus scoticus*) hanno permesso di dimostrare, inoltre, anche dal punto di vista empirico, come l'effetto della riduzione della fertilità indotta dal parassita possa essere correlato a fluttuazioni cicliche nelle popolazioni ospiti e come l'eliminazione sperimentale del parassita dal sistema possa ridurre la tendenza della popolazione a fluttuare (Hudson *et al.*, 1992; Hudson e Dobson, 1995).

Semplificando, è possibile tenere conto dell'effetto negativo di una popolazione di parassiti sulla popolazione ospite, incorporando nel modello logistico un termine che indichi il tasso con cui i parassiti influenzano la popolazione ospite.

L'aspetto comune a tutti i parassiti, infatti, è che essi sottraggono risorse ai loro ospiti causando un *deficit* fisiologico negli organismi e riducendone la *fitness*. Questo accade sia nel caso in cui il parassita uccida il proprio ospite sia nel caso in cui il

parassita ne riduca la capacità riproduttiva. L'organismo parassitato, infatti, utilizza le proprie difese immunitarie per combattere il parassita consumando risorse che potrebbero essere altrimenti investite nella riproduzione (Cotgreave e Forseth, 2004).

Per azione dei parassiti, quindi, l'espressione della curva di accrescimento logistico della popolazione ospite può essere modificata inserendo un fattore α che indica la riduzione della popolazione ospite per effetto della mortalità indotta dai parassiti, e un fattore δ che indica la riduzione nella fecondità dell'ospite (Cotgreave e Forseth, 2004):

$$\frac{dN}{dt} = r_{max} \left(1 - \frac{N}{K}\right) - (\alpha + \delta)P \quad [14]$$

Un modello di questo tipo descrive quindi in modo semplicistico la dinamica di una popolazione di ospiti influenzata negativamente dalla presenza di una popolazione di parassiti.

4. Modelli di dinamica ospite-parassita

I modelli matematici, come abbiamo visto, sono immensamente utili per la comprensione dei processi che guidano la dinamica di popolazione dei parassiti, permettendo a questi processi di essere definiti, separati gli uni dagli altri e quantificati. In questi modelli, la variazione nel tempo del numero di ospiti e parassiti è determinata da alcuni tassi istantanei di crescita. Quindi, la dimensione della popolazione parassita varierà in funzione del tasso totale al quale gli individui sono persi e del tasso totale al quale nuovi individui sono reclutati, in un reciproco *feedback* con la popolazione ospite.

4.1 Il modello di Anderson e May

Nel modello base sviluppato da Anderson e May (1978) per studiare la dinamica di popolazione di un nematode a ciclo diretto, emerge che i parassiti possono regolare la popolazione ospite se il tasso di fecondità (λ) dei parassiti eccede la

somma dei tassi di mortalità dei parassiti (μ), di natalità degli ospiti (a) e di mortalità degli ospiti indotta dai parassiti (α); ovvero se $\lambda > \mu + a + \alpha$. Il modello si basa sui seguenti assunti:

- il tasso di mortalità dell'ospite indotto dai parassiti α è linearmente proporzionale al numero di parassiti che gli ospiti albergano;
- la mortalità dei parassiti (μ) e la fecondità (λ) all'interno degli ospiti non sono densità-dipendenti;
- la trasmissione (β) è virtualmente istantanea, ovvero non ci sono ritardi tra la produzione di stadi di trasmissione e l'insediamento in un nuovo ospite;
- il tasso di crescita della popolazione ospite è semplicemente determinato dal tasso intrinseco di crescita in assenza di parassiti meno il tasso di mortalità indotta dai parassiti. Sia il tasso di natalità (a) che il tasso di mortalità naturale (b) (non indotta da parassiti) sono considerati come costanti e non influenzati da vincoli densità-dipendenti. Il concetto di capacità portante è stato quindi escluso dal modello e qualora i parassiti non siano in grado di regolare la popolazione ospite, questa mostrerà una crescita esponenziale.

Il modello prende la forma di due equazioni differenziali ed è schematizzato dal diagramma di flusso in figura 5; i parametri del modello e dei suoi successivi sviluppi sono descritti nel box 1. La prima equazione descrive il tasso di cambiamento della popolazione ospite H :

$$\frac{dH}{dt} = rH - \alpha P \quad [15]$$

dove r è il tasso di crescita della popolazione ospite in assenza dei parassiti pari alla differenza tra il tasso di natalità (a) e il tasso di mortalità (b) degli ospiti; il modello assume anche che ogni parassita aumenti il tasso di mortalità dell'ospite di una quantità α .

La seconda equazione descrive la dinamica della popolazione parassita P :

$$\frac{dP}{dt} = \frac{\lambda HP}{(H_0 + H)} - P(\mu + b) - \alpha HE(i^2) \quad [16]$$

I parassiti producono stadi di trasmissione (uova o larve) al tasso λ e la

proporzione di questi che dà luogo a parassiti adulti è

$\frac{H}{(H_0 + H)}$ dove H_0 è uguale al rapporto $\frac{\gamma}{\beta}$ e γ è il tasso di mortalità degli stadi di trasmissione. Il tasso di perdita dei parassiti ha due componenti: la prima riflette le perdite dovute alla mortalità naturale dei parassiti (μ) e alla mortalità dell'ospite in assenza di parassiti (b); la seconda componente è la perdita dei

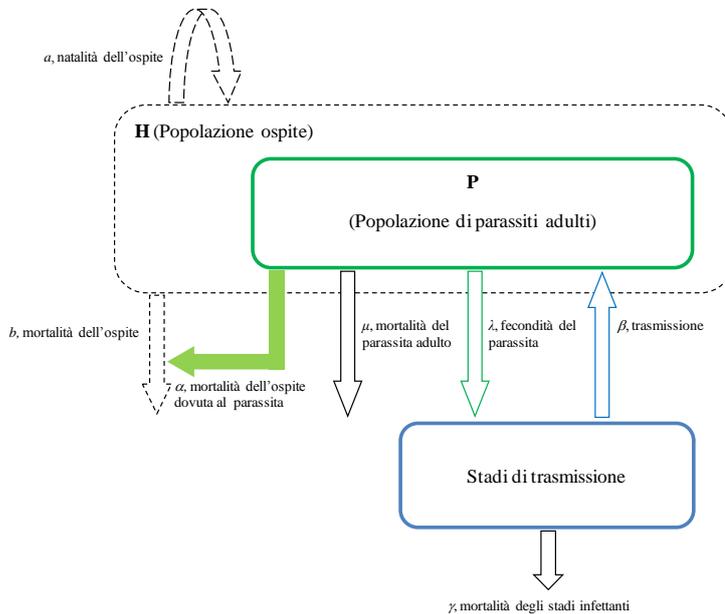


Figura 5. Diagramma di flusso di un modello per macroparassiti a trasmissione diretta.

parassiti dovuta alla mortalità dell'ospite indotta dai parassiti $\alpha HE(i^2)$. Se un singolo ospite ha i parassiti, il suo tasso di mortalità sarà incrementato di una quantità αi . Poiché quando un ospite muore anche i suoi parassiti muoiono, la probabilità che i parassiti all'interno dell'ospite muoiano è aumentata di una quantità proporzionale a i^2 . Quindi, per determinare l'effetto del parassitismo sulla popolazione parassita (in un reciproco *feedback* con la popolazione ospite), è necessario conoscere la media del quadrato del numero di parassiti, ovvero il momento⁵ di secondo ordine della distribuzione dei parassiti che può essere calcolato dalla media e dalla varianza (Roberts, 1995). La notazione $E(i^2)$ quindi indica proprio la media del quadrato del

⁵ Se X_1, X_2, \dots, X_N sono gli N valori assunti dalla variabile X , la quantità $\overline{X^r} = \frac{X_1^r + X_2^r + \dots + X_N^r}{N} = \frac{\sum X^r}{N}$ è definita momento di ordine r . Il momento di primo ordine ($r = 1$) è la media aritmetica \overline{X} . Il momento di secondo ordine ($r = 2$) sarà quindi $\frac{\sum X^2}{N}$.

numero di parassiti per ospite, il cui preciso valore dipende dalla forma della distribuzione di probabilità del numero di parassiti per ospite⁶.

Le caratteristiche del modello, come la mortalità degli ospiti indotta da parassiti

BOX 1	
Parametri	Descrizione
r	tasso di crescita della popolazione ospite in assenza dei parassiti
a	tasso di natalità degli ospiti
b	tasso di mortalità degli ospiti
μ	tasso di mortalità del parassita adulto
α	mortalità dell'ospite indotta dal parassita
γ	tasso di mortalità degli stadi di trasmissione
β	coefficiente di trasmissione
λ	tasso di fecondità del parassita adulto
σ	proporzione di larve che entrano in ipobiosi
θ	tasso al quale le larve ipobiotiche si sviluppano in parassiti adulti ($1/\theta$ è quindi la durata dell'ipobiosi)
μ_A	tasso di mortalità delle larve ipobiotiche
δ	riduzione della fecondità indotta dai parassiti
K	capacità portante della popolazione ospite
k	aggregazione dei parassiti negli ospiti

e la trasmissione di stadi infettanti del parassita, fanno sì che la distribuzione dei parassiti tra gli ospiti cambi nel tempo, sia cioè un processo dinamico. Un'equazione del momento di secondo ordine per la dinamica della popolazione parassita dovrebbe includere un termine per il momento di ordine 3 (per esempio l'asimmetria o *skewness*) e così via all'infinito (Roberts, 1995). Nel modello di Anderson e May questa difficoltà è stata superata assumendo che la popolazione parassita abbia una distribuzione binomiale negativa con il parametro k fisso e indipendente

dal numero medio di parassiti P/H . Questo approccio è una forma di chiusura dei momenti (*moment closure*), tecnica che può essere usata per passare dai modelli stocastici a quelli deterministici o per estendere i modelli deterministici inserendo alcuni effetti di stocasticità (Cornell, 2005).

Basandosi su una distribuzione binomiale negativa a parametro k fisso:

$$E(i^2) = \frac{P}{H} + \left(1 + \frac{1}{k}\right) \frac{P^2}{H^2}$$

⁶ La lettera E sta per "expectation" e indica quello che in italiano viene detto "valore atteso". Il valore atteso di una variabile corrisponde al suo momento di ordine primo.

Sostituendo nell'equazione [16] avremo:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{\lambda HP}{(H_0 + H)} - P(\mu + \alpha + b) - \frac{\alpha(k + 1)P^2}{kH} \quad [17]$$

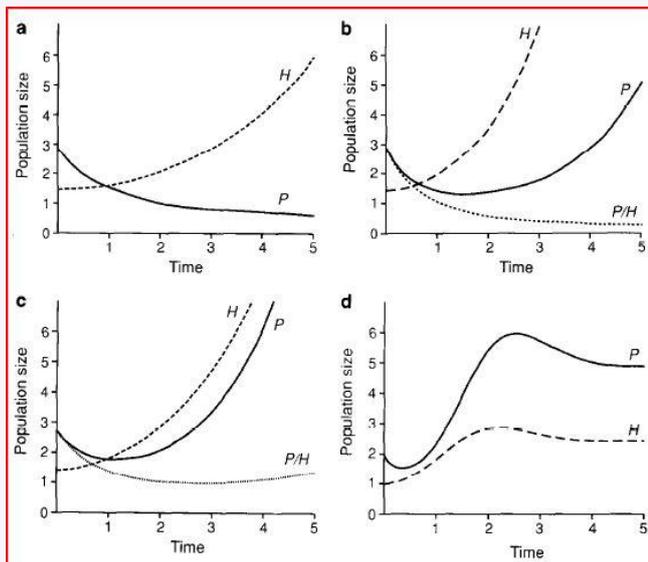
Con l'incorporazione di k la condizione perché abbia luogo la regolazione diventa:

$$\lambda > \mu + \alpha + a + (a - b) \frac{k + 1}{k}$$

È importante notare che se λ è abbastanza alto, i parassiti sono in grado di regolare la popolazione ospite. Alti valori di k rafforzano questa capacità (box2).

BOX 2

(da Roberts, 1995)



r = tasso di crescita della popolazione ospite in assenza dei parassiti = tasso di natalità (a) – tasso di mortalità (b);
 μ = mortalità del parassita adulto;
 α = mortalità dell'ospite indotta dal parassita;
 λ = fecondità del parassita adulto;

(a) se $\lambda < \mu + \alpha$, allora la popolazione parassita si estingue e la popolazione ospite cresce senza limiti;

(b) se $\mu + \alpha < \lambda < \mu + \alpha + r$, allora sia la popolazione ospite sia la popolazione parassita crescono senza limiti, ma il numero medio di parassiti per ospite tende a zero;

(c) se $\mu + \alpha + r < \lambda < \mu + \alpha + r + r/k$, allora sia la popolazione ospite sia la popolazione parassita crescono senza limiti, e il numero medio di parassiti tende a un numero positivo;

(d) se $\lambda > \mu + \alpha + r + r/k$, allora sia la popolazione ospite sia la popolazione parassita tendono a uno stato stazionario. In questo caso i parassiti regolano la popolazione ospite a una densità costante che decresce al crescere di λ .

Gli assunti su cui si basa il modello sono semplicistici e possono essere sostituiti da altri più realistici. In questo modo è possibile analizzare l'influenza di ciascun parametro nel modello ed è possibile determinare il contributo relativo di ciascuna variabile alle dinamiche di popolazione. È possibile, per esempio, oltre alla mortalità dell'ospite indotta dai parassiti, incorporare la riduzione della fecondità indotta dai parassiti (δ). Quando il modello è modificato in questo modo, sarà più semplice per i parassiti regolare la popolazione ospite, cioè sarà sufficiente un tasso di fecondità inferiore. Per i macroparassiti, che raramente sono letali, gli effetti regolatori di δ tendono ad essere maggiori di quelli di α (Dobson e Hudson, 1992).

Un'altra modifica che può essere fatta al modello consiste, come abbiamo visto, nell'incorporare la capacità portante K nella dinamica della popolazione ospite; infatti, altri fattori oltre al parassitismo possono regolare la popolazione ospite.

Quando la densità della popolazione ospite è regolata da fattori estrinseci, diversi dal parassita, la numerosità stessa della popolazione ospite diventa un parametro in grado di influenzare la dinamica della popolazione parassita. In questo caso, ci sono due metodi alternativi (ma equivalenti) di determinare la dinamica a lungo termine della popolazione parassita. Se la dimensione della popolazione parassita è molto piccola, la densità all'equilibrio della popolazione ospite sarà prossima a K .

Inoltre, l'ultimo termine dell'equazione [16] sarà molto piccolo rispetto agli altri due e le dimensioni della popolazione parassita diminuiranno se:

$$\frac{\lambda H}{(H_0 + H)} < (\mu + b)$$

che è vero se:

$$H < \frac{(\mu + b)H_0}{\lambda - (\mu + b)}$$

Il modello suggerisce, quindi, che la popolazione parassita si estinguerà se la densità della popolazione ospite è inferiore a un valore critico determinato dai parametri epidemiologici della popolazione parassita. La capacità portante soglia al di sotto della quale la popolazione parassita non può mantenere se stessa, è spesso indicata con K_T (Anderson e May, 1991; Roberts *et al.*, 1995).

Esiste un altro modo di vedere il problema. Del tutto analogamente, la popolazione parassita non può mantenere se stessa nella popolazione ospite se:

$$\frac{\lambda K}{(H_0 + H)(\mu + b)} < 1$$

Questo rapporto è chiamato numero riproduttivo di base o R_0 ed è un concetto di importanza basilare in epidemiologia (si veda paragrafo 6.2).

In ultimo, ciò che emerge dai modelli di Anderson e May (1978) è che, in presenza dei seguenti fattori: (1) aggregazione dei parassiti nella popolazione ospite, (2) mortalità indotta dai parassiti che aumenta esponenzialmente invece che linearmente col numero di parassiti per ospite, e (3) presenza di vincoli densità-dipendenti su sopravvivenza o fecondità dei parassiti, l'effetto è un aumento della stabilità sia della popolazione ospite sia della popolazione parassita.

4.2 Estensioni del modello base di Anderson e May

Il modello appena discusso può essere implementato aggiungendo un'equazione che tenga conto di eventuali stadi larvali con una fase di sviluppo nell'ambiente esterno (May e Anderson, 1978):

$$\frac{dL}{dt} = \lambda P - \gamma L - \beta HL \quad [18]$$

Assumendo che gli stadi a vita libera raggiungano l'equilibrio più velocemente dei parassiti adulti e ponendo $dL/dt = 0$, l'equazione [17] può essere riscritta nel modo seguente:

$$\frac{dP}{dt} = \beta HL - P(\mu + \alpha + b) - \frac{\alpha(k + 1)P^2}{kH} \quad [19]$$

Ancora, può essere inclusa un'equazione per le larve ipobiotiche (Hudson e Dobson, 1997):

$$\frac{dA}{dt} = \sigma\beta HL - (\mu_A + b + \theta + \alpha P)A \quad [20]$$

dove σ è la proporzione di larve che entrano in ipobiosi, μ_A è la mortalità delle larve ipobiotiche e θ è il tasso al quale le larve ipobiotiche si sviluppano in parassiti adulti ($1/\theta$ è quindi la durata dell'ipobiosi).

L'equazione che descrive la dinamica della popolazione parassita può essere quindi riscritta così:

$$\frac{dP}{dt} = \theta A + (1 - \sigma)\beta HL - P(\mu + \alpha + b) - \frac{\alpha(k + 1)P^2}{kH} \quad [21]$$

È possibile tenere conto anche delle interazioni tra due o più specie di parassiti (Roberts e Dobson, 1995). Modelli di questo tipo considerano due tipi di interazione.

Nella competizione per sfruttamento (*exploitation competition*), le specie parassite utilizzano le stesse risorse indipendentemente e quindi la covarianza tra le loro distribuzioni nella popolazione ospite è zero; questo presuppone che non si arrivi all'esclusione di una specie parassita dall'ospite a causa della presenza dell'altra. Nella competizione per interferenza (*interference competition*), la presenza di una specie influenza la probabilità che sia presente l'altra e quindi la covarianza tra le loro distribuzioni sarà diversa da zero (positiva nel caso in cui l'interazione sia sinergica o negativa nel caso in cui sia antagonista).

Le equazioni per la dinamica della popolazione ospite e di n specie parassite sono:

$$\frac{dH}{dt} = (a - b)H - \sum_{i=1}^n \alpha_i P_i \quad [22]$$

$$\frac{dP_j}{dt} = \frac{\lambda_j P_j H}{H_0 + H} - (b + \mu_j + \alpha_j)P_j - \frac{\alpha_j(1 + k_j)P_j^2}{k_j H} - \sum_{i=1; i \neq j}^n \frac{\alpha_i(1 + l_{ij})P_i P_j}{l_{ij} H} \quad [23]$$

Quando le n specie parassite sono distribuite con media m_i , la loro varianza è $m_i(1+m_i/k_i)$ e la covarianza tra le specie i e j è $m_i m_j / l_{ij}$, per i e j che vanno da 1 a n .

Senza entrare nel dettaglio di un modello tanto complicato, ciò che emerge è che specie parassite molto aggregate sono più in grado di coesistere, ma sono meno in grado di regolare la popolazione ospite. Una correlazione negativa tra le specie parassite aumenta sia la loro capacità di coesistere sia la loro capacità di regolare la popolazione ospite.

Si possono costruire modelli ancora più complessi. Modelli, ad esempio, che tengano conto del fatto che il tasso di infezione non è verosimilmente costante ma può dipendere dall'età dell'ospite; che i parassiti possono infettare diverse specie ospiti simpatriche; che la morte dell'ospite può non portare alla morte del parassita; che nel caso di parassiti a ciclo indiretto, la popolazione ospite è compartimentalizzata in differenti ospiti con uno o più stadi a vita libera. Ancora, possono essere inseriti tassi di trasmissione dipendenti dalla densità della popolazione ospite, l'immunità dell'ospite come funzione della carica parassitaria e un termine che indichi la perdita di memoria immunitaria (Poulin, 2007).

4.3 Modelli per animali da allevamento

Numerosi progressi sono stati fatti nel tentativo di dare una descrizione matematica dell'epidemiologia delle malattie dell'uomo e degli animali selvatici, ma meno attenzione è stata data ai modelli per lo studio della diffusione delle malattie negli animali da allevamento (per una *review* si veda Smith e Grenfell, 1994).

La dinamica di popolazione degli animali da allevamento è in gran parte controllata dall'uomo e spesso coinvolge popolazioni di ospiti ad alta densità i cui spostamenti sono limitati. Ne consegue una maggiore esposizione agli stadi infettanti dei parassiti rispetto agli animali selvatici e conseguentemente una maggiore stimolazione immunitaria che può, almeno in parte, proteggere dalle reinfezioni (Roberts, 1995). L'immunità acquisita dell'ospite, che è una funzione dell'esposizione nel tempo ai parassiti, è quindi un determinante importante della dinamica della popolazione parassita. Altre differenze rispetto ai modelli concepiti

per gli animali selvatici riguardano il fatto che la popolazione ospite sia considerata costante e che di solito non venga considerato il concetto di regolazione dell'ospite da parte dei parassiti e di conseguenza neppure quello di regolazione dei parassiti mediato dalla mortalità da loro indotta nell'ospite (Roberts, 1995).

Nella loro introduzione alla descrizione di un modello per *Ostertagia ostertagi* nei vitelli, Grenfell *et al.* (1987), hanno sottolineato che il modello non era un "sistema di previsione di malattia", ma era destinato ad essere utilizzato come una semplice procedura di *screening* per determinare quale dei tanti possibili protocolli antelmintici avrebbe dovuto essere scelto per un controllo più accurato in condizioni di campo, e per fornire un quadro teorico entro il quale idee riguardanti l'epidemiologia dei parassiti gastrointestinali dei bovini potessero essere sviluppate e vagliate. Il modello consiste di dieci complicate equazioni differenziali che descrivono il ciclo di vita del parassita. La regolazione dei parassiti è stata modellizzata attraverso tre meccanismi: (1) una riduzione con l'età dell'ospite della probabilità che una larva si insedi (utilizzato per simulare l'aumento della resistenza dell'ospite sia con l'età sia con l'esperienza di infezione), (2) un aumento della mortalità dei parassiti all'aumentare della carica parassitaria, e (3) la dipendenza della fecondità dei parassiti dalla carica parassitaria e dalla durata dell'infezione. L'aggregazione è ritenuta essere un importante vincolo densità-dipendente sulla fecondità dei parassiti, ma è stato dimostrato che, con i bassi livelli di aggregazione trovati in pratica (k compreso nel *range* 2-8), questo effetto era trascurabile e quindi non veniva inserito nel modello.

Il modello sviluppato successivamente da Roberts e Grenfell (1991) per le infezioni da tricostrongili dei ruminanti, poi adattato da Roberts (1995), rappresenta una descrizione più semplice della dinamica dei nematodi di animali da allevamento in grado di riflettere la situazione reale. Questo ed altri modelli sviluppati per studiare la dinamica di nematodi parassiti nei ruminanti allevati (Leathwick *et al.*, 1992; Barnes *et al.*, 1995), nella loro forma essenziale sono composti da tre equazioni differenziali: una per la densità delle larve nel pascolo; una per il numero

medio di parassiti per ospite ed una per il livello medio di immunità acquisita nella popolazione ospite.

Si assume che la popolazione ospite sia costante. Se la densità delle larve nell'ambiente decresce al tasso ρ in assenza degli ospiti (ovvero il tasso al quale le larve sono perse dall'ambiente per cause diverse dagli ospiti), le larve sono ingerite dall'ospite al tasso β e i parassiti adulti producono uova che danno origine a larve infettanti al tasso medio $\lambda(r)$, allora la dinamica della popolazione larvale L è:

$$\frac{dL}{dt} = -(\rho + \beta H)L + \lambda(r)P \quad [24]$$

Se le larve ingerite si sviluppano in parassiti adulti con un probabilità $p(r)$ e il tasso di mortalità dei parassiti adulti è $\mu(r)$, allora l'equazione che descrive la dinamica della popolazione dei parassiti adulti P è:

$$\frac{dP}{dt} = p(r)\beta HL - \mu(r)P \quad [25]$$

I fattori λ , p e μ sono scritti in funzione di r che è usato come misura del livello medio di immunità acquisita nella popolazione ospite:

$$\frac{dr}{dt} = \beta L - \sigma r \quad [26]$$

r dipende dal numero cumulativo di larve ingerite dall'ospite. Il parametro σ è il tasso di perdita di memoria immunitaria (ovvero il tasso al quale r decrescerebbe in assenza di una nuova esposizione alle larve).

L'immunità acquisita può ridurre la capacità del parassita di persistere riducendone la fecondità, aumentando il tasso di mortalità o diminuendo la probabilità che le larve ingerite si sviluppino in parassiti adulti. Quindi, λ e p sono funzioni decrescenti di r , mentre μ è una funzione crescente di r .

Le soluzioni di *steady-state* (i valori di L , P ed r assumono valori stazionari nel corso del tempo) si ricavano imponendo:

$$\frac{dr}{dt} = 0, \text{ da cui si ricava } L = \frac{\sigma r}{\beta};$$

$$\frac{dP}{dt} = 0, \text{ da cui si ricava } P = \frac{p(r)\beta HL}{\mu(r)}$$

Sostituendo queste espressioni nell'equazione [24] con $\frac{dL}{dt} = 0$, si ottiene $\lambda(r)p(r)\beta H = (\rho + \beta H)\mu(r)$, da cui $\frac{\lambda(r)p(r)\beta H}{(\rho + \beta H)\mu(r)} = 1$. Possiamo chiamare questo rapporto $R(r)$ e per $r = 0$, non è che un altro modo di scrivere il numero riproduttivo di base:

$$R(r) = \frac{\lambda(r)p(r)\beta H}{(\rho + \beta H)\mu(r)} = 1 \quad [27]$$

La funzione $R(r)$ decresce all'aumentare di r . Per $r = 0$, $R(0) = R_0$ può essere > 1 o < 1 . Se $R_0 > 1$ allora esiste un r tale che $R(r) = 1$ e quindi i valori *steady-state* di L , P ed r sono possibili; se $R_0 < 1$ allora non esiste nessun valore *steady-state* e la popolazione parassita si estinguerà nel tempo.

Roberts e Grenfell (1991) hanno osservato che in situazioni di allevamento era improbabile che venissero raggiunti i valori di *steady-state* e che le equazioni [24], [25] e [26] generavano *pattern* annuali dell'abbondanza di larve e parassiti adulti anche in assenza di effetti climatici, purché il numero medio di parassiti (P) e il livello di immunità acquisita (r) fosse ridotto a zero su base annuale, simulando così la sostituzione annuale degli animali immuni con animali *naive*. Questi risultati sono simili a quelli prodotti da modelli più complessi, con tassi di sviluppo larvale temperatura-dipendenti, e a quelli osservati sul campo.

Il limite di un modello di questo tipo è che r non ha un significato fisiologico diretto e non c'è un valore numerico di immunità che possa essere misurato e assegnato ad ogni animale. Inoltre, nei sistemi di allevamento, i parassiti sono talmente diffusi che l'ipotesi che l'immunità possa decadere nel tempo è spesso vista come poco convincente (Roberts, 1999)

Un modello che cattura l'essenza della dinamica di popolazione dei nematodi è stato analizzato da Roberts e Heesterbeek (1998). Sia x una qualche misura dell'abbondanza di parassiti (ad esempio la densità di larve nel pascolo), r il livello medio di immunità acquisita nella popolazione ospite e il parametro κ il tasso di perdita naturale di parassiti dal sistema ($\kappa = \rho + \beta H$). La dinamica di popolazione del parassita può essere rappresentata dalle equazioni:

$$\frac{dx}{dt} = \kappa x [R(r) - 1] \quad [28]$$

$$\frac{dr}{dt} = x \quad [29]$$

Questo modello rappresenta un caso limite del precedente in cui $\sigma \rightarrow 0$ e quindi l'immunità, una volta acquisita, si mantiene per tutta la durata di vita dell'ospite.

La funzione $R(r)$ incorpora tutte le informazioni circa la trasmissione e la perdita di parassiti e dipende dallo stato immunitario medio degli ospiti. R decresce con r (o almeno non cresce) e $R(0) = R_0$ si assume essere > 1 in assenza di interventi di controllo. La soluzione delle equazioni [28] e [29] consiste in una crescita esponenziale dell'abbondanza di parassiti all'inizio dell'anno seguita da un declino esponenziale non appena gli ospiti divengono immuni, a meno che l'abbondanza iniziale di parassiti non sia così bassa da non attivare l'immunità dell'ospite portando, quindi, a un incremento esponenziale durante tutto l'anno. Le soluzioni per la dinamica a lungo termine possono essere abbastanza complicate e dipendono criticamente dai valori dei parametri del sistema. Per piccoli valori di κ la soluzione tende allo *steady-state*, ovvero si osserva ogni anno la stessa dinamica di parassiti. Al crescere di κ la soluzione prima tende a un ciclo limite di periodo 2 (si alternano anni con abbondanze parassitarie basse ed elevate), poi a *pattern* irregolari, a un ciclo limite di periodo 3, quindi, sempre al crescere di κ , di nuovo a un *pattern* irregolare.

Misure di controllo dei parassiti che agiscono modificando i parametri del sistema potrebbero avere effetti drammatici sulla dinamica di questi modelli,

cambiando il *pattern* a lungo termine dell'abbondanza parassitaria da uno regolare a uno per cui sarebbe in pratica impossibile predire le future dinamiche. Un intervento di controllo basato sulla rimozione dei parassiti adulti dal ciclo, ad esempio, come la chemioterapia, aumenterebbe κ e ridurrebbe R_0 . Diversamente, un intervento basato sulla vaccinazione ridurrebbe R_0 ma lascerebbe inalterato κ .

5. Regolazione della popolazione parassita nella popolazione ospite

La caratteristica importante delle risposte dell'ospite agli elminti è il fatto che esse agiscono in forma densità-dipendente. La riduzione proporzionale dell'insediamento, della sopravvivenza e della fecondità è maggiore, cioè, nelle infrapopolazioni dense di parassiti. Questi processi agiscono come meccanismi a *feedback* negativo per regolare l'accrescimento della popolazione di parassiti negli ospiti. Anche se sono le risposte immunitarie a indurre di norma questi effetti, può essere importante anche la competizione tra parassiti per le risorse limitate all'interno dell'ospite (Esch e Fernandez, 1993).

Il ciclo biologico di ogni parassita può contenere più di un processo densità-dipendente, in particolare se questo implica due o più ospiti. Un singolo processo densità-dipendente, in qualsiasi fase del ciclo biologico del parassita, potrà agire in modo da limitare l'accrescimento della popolazione di tutti i vari stadi di sviluppo durante l'intero ciclo.

Anche il fenomeno dell'arresto temporaneo dello sviluppo (ipobiosi) in numerose specie di nematodi (Schad, 1977) è in parte influenzato da fattori densità-dipendenti. Schad (1977) ha identificato diversi gruppi di fattori in grado di indurre l'arresto: fattori ambientali (temperatura, fotoperiodo); fattori associati all'ospite in grado o di stimolare lo sviluppo del parassita o di causarne l'arresto (immunità, età, sesso, specie); fattori genetici, e fattori densità-dipendenti (l'ingresso in ipobiosi di nematodi appena acquisiti da un ospite può avvenire come meccanismo adattativo per regolare le infrapopolazioni di parassiti adulti quando la carica parassitaria diviene particolarmente elevata).

La severità dei processi densità-dipendenti determina il livello di infezione nella popolazione degli ospiti, livello che è misurato dall'intensità media di parassiti.

Poiché la distribuzione di frequenza del numero di parassiti per ospite ha tipicamente una forma altamente aggregata, sarà nei pochi ospiti nella coda della distribuzione che gli effetti densità-dipendenti saranno più marcati, influenzando la maggior parte della popolazione totale dei parassiti. Via via quindi che la distribuzione dei parassiti diventa più aggregata, l'effetto regolatore dei processi densità-dipendenti diventerà più pronunciato (Anderson, 2000).

6. Dinamica di infezione

I fattori che esercitano un effetto regolatore sulle popolazioni parassite, ne determinano la capacità di resistere alle perturbazioni. Affinché l'infezione si perpetui nella popolazione ospite, il flusso di parassiti tra gli ospiti deve superare un certo tasso complessivo per compensare le perdite di parassiti durante tutto il ciclo biologico. Esiste, quindi, un insieme di tassi di trasmissione, riproduzione e mortalità dei parassiti al di sotto del quale l'infezione si estinguerà e al di sopra del quale si perpetuerà. Questo livello è detto soglia di trasmissione e la sua determinazione è importante per la progettazione e l'attuazione delle strategie di lotta contro le malattie (Anderson, 2000).

La prevalenza e l'abbondanza parassitaria nella popolazione ospite è determinata in parte dalla forza di infezione, la quale è influenzata da molti fattori comprendenti le condizioni climatiche, il comportamento dell'ospite e del parassita, la densità sia dell'ospite sia dello stadio infettante, più le loro rispettive distribuzioni spaziali.

6.1 Forza di infezione

La forza di infezione è definita come il tasso istantaneo al quale le specie suscettibili si infettano. In altre parole è la velocità con la quale gli ospiti suscettibili acquisiscono l'infezione (Grenfell e Anderson, 1985). È importante sottolineare che

la forza di infezione misura un tasso di acquisizione su ospiti suscettibili e non sull'intera popolazione e il metodo adottato per misurarla dipende dal tipo di parassita e dalla sua modalità di trasmissione (Anderson, 2000).

Si consideri, ad esempio, in una popolazione di N ospiti costituita da X recettivi e Y infetti ($N = X+Y$), un individuo suscettibile che entri in contatto con altri membri della popolazione a un tasso C e sia Y/N la proporzione di contatti con individui infetti. Se la probabilità di trasmissione di un'infezione è β , allora il tasso al quale l'infezione è trasmessa ai recettivi è $\beta CY/N$ e il tasso al quale la popolazione recettiva diviene infetta è $\beta CXY/N$ (Roberts e Heesterbeek, 2003).

Ammesso che la popolazione sia confinata in un'area fissata, un incremento del numero degli individui che la compongono è equivalente ad un incremento della densità. E' possibile a questo punto costruire un modello riferendosi alla densità di popolazione piuttosto che alle dimensioni, in cui il tasso di infezione dipende dalla densità dei recettivi e degli infetti (Keeling e Rohani, 2008).

La ragione principale per cui è preferibile utilizzare la densità è la sua similitudine con la legge dell'Azione di Massa derivata dalla cinetica delle reazioni chimiche. Lo stesso principio su cui si basa questa legge (la velocità di una reazione chimica è proporzionale alla concentrazione delle sostanze partecipanti) si può applicare agli individui recettivi ed infetti che abbiano contatti all'interno di una popolazione omogeneamente distribuita. Si assume che tutti gli individui si muovano casualmente ed entrino in contatto con altri individui in proporzione alla loro densità; in caso di contatto l'agente infettante è trasmesso con una certa probabilità, ossia data la "collisione", la "reazione" ha luogo con una certa probabilità. Ne deriva che il numero di contatti per unità di spazio e di tempo è proporzionale al prodotto della densità dei recettivi (X) per la densità degli infetti (Y) (Diekmann *et al.*, 1995).

Nel caso in cui la densità di popolazione sia costante, il tasso di contatto C viene incorporato in β , che non è più una probabilità quindi, ma un "coefficiente di trasmissione" (Roberts e Heesterbeek, 2003). β è quindi il prodotto tra la frequenza media di contatto tra ospiti e la probabilità che un incontro tra un suscettibile e un infetto determini la trasmissione dell'infezione.

Il tasso al quale gli individui acquisiscono l'infezione (per unità di popolazione e unità di tempo) è uguale al prodotto tra la densità dei recettivi e la densità degli infetti moltiplicato il coefficiente di trasmissione β (Anderson, 2000):

$$\frac{dY}{dt} = \beta XY = \beta(N - Y)Y \quad [30]$$

Questa equazione ammette la soluzione:

$$Y_t = \frac{NY_0}{[Y_0 + (N - Y_0)e^{(-\beta Nt)}]} \quad [31]$$

dove Y_0 rappresenta il numero degli infetti introdotti nella popolazione all'istante $t = 0$.

Denominando Λ il tasso a cui insorgono nuovi casi di infezione (cioè dY/dt) e sostituendo l'equazione [31] nella [30], si ottiene (Anderson, 2000):

$$\Lambda = \frac{\beta Y_0(N - Y_0)N^2 e^{(\beta Nt)}}{[(N - Y_0)e^{(-\beta Nt)}]^2} \quad [32]$$

L'equazione [32] descrive una curva che ha all'incirca una forma a campana. È importante notare che al crescere della popolazione ospite N , cresce la velocità con cui vengono acquisite nuove infezioni; quindi la forza di infezione è sempre maggiore nelle popolazioni dense piuttosto che in quelle rarefatte. Il valore di β varia spesso stagionalmente per effetto dell'influenza di fattori climatici o dell'attesa di vita degli stadi infettanti che determina la probabilità di trasmissione dei parassiti (Anderson, 2000). Tale parametro non è di facile stima, in quanto bisognerebbe sapere, in ogni istante, quanti sono gli infetti (Y) e quanti i recettivi (X). Inoltre bisognerebbe essere a conoscenza di quanti sono i contatti tra X e Y utili al fine della trasmissione della malattia (Anderson e May, 1991). La forza di infezione esprime, invece, la relazione matematica esistente tra le caratteristiche intrinseche dell'agente eziologico e quelle della popolazione ospite ed è quindi influenzata dai fattori che

caratterizzano gli ospiti come la struttura per classi d'età e i precedenti contatti con l'agente eziologico. Questo è un parametro, quindi, che può variare al variare dell'età e può essere calcolato sulla base di dati di prevalenza-età per i microparassiti o intensità-età per i macroparassiti (Anderson e May, 1991).

Per esempio, se $x(a,t)$ sono i suscettibili di età a al tempo t e $x(a+I, t+I)$ sono i suscettibili di età $a+I$ al tempo $t+I$, allora la forza di infezione è definita come $\Lambda = -\ln \frac{x(a+I, t+I)}{x(a,t)}$. La grandezza di Λ è inversamente correlata con l'età media alla quale si acquisisce l'infezione A definita come $A = \int_0^{\infty} [1 - F(a)] da$, dove $F(a)$ è la frequenza cumulata dei casi osservati alle diverse età (Grenfell e Anderson, 1985). Se il valore di Λ è indipendente dall'età, A è semplicemente $\frac{1}{\Lambda}$ (Anderson e May, 1991). Partendo da dati di prevalenza strutturati per età è possibile quindi calcolare la forza di infezione e il coefficiente di trasmissione β .

Rigorosamente la forza di infezione dovrebbe essere stimata da studi longitudinali che seguono gli animali nel tempo.

Tuttavia, poiché tempo ed età sono dimensionalmente identici, anche indagini orizzontali sulla carica parassitaria in differenti classi di età possono fornire informazioni preziose sul tasso a cui gli ospiti contraggono l'infezione, purché la popolazione ospite e la popolazione parassita siano rimaste approssimativamente stabili per un certo intervallo di tempo (Anderson, 2000). Poiché, quindi, i cambiamenti legati all'età possono riflettere variazioni temporali, i dati stratificati per età sono un'importante fonte di informazione negli studi sulla dinamica di trasmissione delle malattie (Grenfell e Anderson, 1985). I dati raccolti possono essere interpolati da una curva che descrive graficamente la carica parassitaria in funzione dell'età, la cui equazione può essere derivata rispetto all'età, ottenendo così la curva che descrive la forza di infezione.

Nel caso dei macroparassiti, possono considerarsi nuove infezioni sia nuovi ospiti infetti, sia l'acquisizione di nuovi parassiti da ospiti già infetti. L'assenza di un'immunità persistente fa sì che la forza di infezione diventi un tasso netto che sintetizza l'acquisizione di nuove infezioni e la perdita di vecchie (Brooker *et al*,

2007; Grenfell e Dobson, 1995). Per quei parassiti che producono stadi di trasmissione, non va trascurato inoltre il periodo di vita all'esterno dell'ospite.

Il parametro β in questo caso è definito come il prodotto tra il tasso di contatto C tra ospiti (N) e stadi infettanti (I), e la probabilità che un contatto si risolva nell'insediamento dello stadio infettante nell'ospite.

Il numero di parassiti acquisiti nel tempo sarà $\frac{dM}{dt} = \beta IN$ e il numero medio di parassiti acquisiti da ciascun ospite pari a (Anderson, 2000):

$$\frac{dM}{dt} = \beta I \quad [33]$$

Il tasso di variazione nel tempo di I stadi infettanti sarà uguale a:

$$\frac{dI}{dt} = -\beta IN - I\mu \quad [34]$$

dove μ è il tasso di mortalità degli stadi infettanti e βNI è il numero di infezioni che hanno luogo.

Queste equazioni ammettono le seguenti soluzioni (Anderson, 2000):

$$I_t = I_0 e^{(-\beta N + \mu)t} \quad [35]$$

$$M_t = \frac{\beta I_0}{\beta N + \mu} (1 - e^{(-\beta N + \mu)t}) \quad [36]$$

In un intervallo di tempo \bar{t} , la relazione tra il numero medio di infezioni riuscite per ogni ospite (M) e la densità iniziale di stadi infettanti I_0 , è lineare. Il numero di parassiti acquisiti nello stesso intervallo di tempo è inoltre strettamente dipendente dall'attesa di vita dello stadio infettante $1/\mu$. Questo significa che un coefficiente di trasmissione molto alto può non condurre necessariamente al rapido accumulo di parassiti nella popolazione ospite se l'attesa di vita dello stadio infettante è breve. Il numero di parassiti che riescono a insediarsi nella popolazione ospite (MN) è una

funzione crescente non-lineare della densità di ospiti e tende a un asintoto il cui valore è determinato sia dal numero di stadi infettanti I_0 sia dalla loro attesa di vita $1/\mu$ (Anderson, 2000).

La principale considerazione da fare è che la forza di infezione cambia al variare delle circostanze epidemiologiche, e così predire una situazione futura è possibile solo se prima si è determinato β (Anderson e May, 1991). La forza d'infezione sia per i micro sia per i macroparassiti, dipende dal numero riproduttivo di base (R_0) e dalla speranza di vita del parassita ($D = 1/\mu$):

$$\Lambda = \frac{(R_0 - 1)}{D} = (R_0 - 1)\mu \quad [37]$$

Ogni infezione cioè produce R_0 nuove infezioni in un arco di tempo di durata D e poi si estingue.

6.2 Numero riproduttivo di base

Cambiamenti nelle dimensioni della popolazione di un macroparassita a trasmissione diretta possono essere esaminate matematicamente usando l'espressione per il numero riproduttivo di base R_0 ⁷ (Anderson e May, 1991). L' R_0 è il numero di discendenti di sesso femminile che sono prodotti da una femmina adulta durante tutta la sua vita riproduttiva e sopravvivono fino a raggiungere la maturità sessuale in una popolazione di N ospiti non infetti. La soglia di trasmissione è data quindi dalla condizione $R_0 = 1$. Nello scenario più semplice di un elminta ermafrodita a ciclo diretto con trasmissione istantanea (trascurando quindi ritardi nello sviluppo, come il tempo impiegato per raggiungere la maturità sessuale) esso è:

$$R_0 = \frac{\beta N \lambda}{(\mu + b + \alpha)(\gamma + \beta N)} \quad [38]$$

⁷ Anche se R_0 è spesso chiamato tasso (R è l'iniziale di *rate*, tasso in inglese), in realtà è una grandezza adimensionale non definita per unità di tempo.

β è il coefficiente di trasmissione;

λ è il tasso di produzione di uova per parassita;

μ è il tasso di mortalità del parassita adulto;

γ è il tasso di mortalità dello stadio infettante.

b è il tasso di mortalità dell'ospite

α è la mortalità dell'ospite indotta dai parassiti

R_0 quindi non è altro che il contributo riproduttivo netto del parassita $\beta N \lambda$ moltiplicato per il prodotto dell'attesa di vita del parassita adulto all'interno dell'ospite $1/(\mu + b + \alpha)$ per l'attesa di vita dello stadio infettante all'esterno dell'ospite $1/(\gamma + \beta N)$ (Dobson *et al.*, 1992). L'equazione [38] esprime quindi il tasso di crescita della popolazione parassita quando è introdotta per la prima volta in una popolazione ospite di dimensione N .

Il tasso riproduttivo effettivo R_E di un parassita in una popolazione che ospita una popolazione di parassiti distribuiti tra i singoli ospiti, dipenderà dalla forza netta dei vincoli densità-dipendenti posti alla riproduzione e/o alla sopravvivenza dei parassiti, che si devono ai parassiti insediati o al sistema immunitario dell'ospite. Questa forza netta dipenderà dal tipo di distribuzione di frequenza dei parassiti negli ospiti (Anderson, 2000). Se l'intensità dell'infezione e la distribuzione di frequenza dei parassiti rimangono approssimativamente costanti nel tempo, la popolazione dei parassiti è all'equilibrio e $R_E = 1$. Quando nel ciclo biologico del parassita si verificano ritardi significativi nello sviluppo, ad esempio tra l'arrivo di uno stadio infettante nell'ospite e il raggiungimento della sua maturità sessuale o tra la produzione di uno stadio di trasmissione e il suo sviluppo fino a stadio infettante, ciò va considerato nel calcolo dell' R_0 , che si riduce secondo un fattore $f_1 f_2$ dove f_1 è la proporzione di elminti che raggiungono la maturità sessuale nell'ospite e f_2 è la proporzione di stadi di trasmissione che sopravvivono fino a diventare infettanti. Nel caso di elminti a sessi separati, la produzione di stadi di trasmissione viene effettuata soltanto da femmine che si sono accoppiate e R_0 si riduce di un fattore $r\phi$ dove r è la frequenza relativa di femmine nella popolazione di parassiti e ϕ è la probabilità che una femmina matura si accoppi (Anderson, 2000). La probabilità di accoppiamento

ha una certa importanza nella dinamica di infezione e dipende da vari fattori, in particolare dal fatto che il parassita sia monogamo oppure poligamo e dalla distribuzione dei parassiti nella popolazione ospite.

L'intensità dell'infezione è legata da una relazione lineare al valore di R_0 , mentre la prevalenza è determinata dalla media e dalla distribuzione di frequenza dei parassiti negli ospiti. Elevate cariche medie (dovute ad elevati valori di R_0) possono determinare basse prevalenze se la distribuzione dei parassiti è altamente aggregata. Il valore di R_0 determina inoltre la forma della curve prevalenza-età e intensità-età: valori elevati di R_0 determinano un rapido aumento di questi due parametri epidemiologici all'aumentare dell'età degli ospiti (Anderson, 2000), ovviamente a parità di fattori densità-dipendenti.

I provvedimenti di controllo, come la chemioterapia, fanno aumentare il tasso di mortalità dei parassiti adulti (il termine μ nell'equazione [38]) e quindi riducono la carica media di parassiti e l' R_0 . Se la chemioterapia cessa, il valore di R_0 è inversamente proporzionale all'intervallo di tempo impiegato dalla popolazione di parassiti per ritornare al livello pre-controllo (Anderson, 2000). Le infezioni da macroparassiti sono sempre difficili da eradicare con la chemioterapia, salvo che tali provvedimenti di controllo non siano applicati estesamente nella popolazione per molti anni e siano sufficienti a mantenere l' R_0 sotto l'unità.. Il numero preciso di anni durante i quali si deve applicare il mezzo di controllo dovrebbe essere superiore alla durata massima della vita dello stadio più longevo del ciclo biologico del parassita.

Si può ridurre la carica media di parassiti per ospite trattando selettivamente gli individui più infestati, ma elevati valori di R_0 genereranno un elevato grado di capacità di recupero della popolazione alla perturbazione. La cessazione della chemioterapia fa sempre sì, perciò, che la popolazione dei parassiti ritorni al suo livello pre-controllo, a meno che non si sia arrivati all'eradicazione della popolazione parassita (Anderson, 2000).

Perché si verifichi l'insediamento e la diffusione di elminti trasmessi per via diretta, la densità di ospiti deve essere maggiore di una densità soglia N_T , che può essere calcolata dall'equazione [38] ponendo $R_0 = 1$:

$$N_T = \frac{\gamma(\mu + b + \alpha)}{\beta(\lambda - \mu - b - \alpha)} \quad [39]$$

L'equazione [39] suggerisce che un incremento nell'efficienza di trasmissione e nel tasso di produzione di uova tende a ridurre la densità soglia, mentre una breve attesa di vita del parassita adulto e la mortalità degli ospiti indotta dai parassiti tendono ad aumentare le dimensioni della popolazione ospite richieste a sostenere l'infezione. Un'ulteriore riduzione della densità soglia può essere dovuta alla capacità delle larve di entrare in uno stato di ipobiosi immediatamente dopo l'ingresso nell'ospite definitivo (Dobson *et al.*, 1992).

Per la maggior parte degli elminti a trasmissione diretta, la densità degli ospiti non è un fattore limitante nella trasmissione dei parassiti a causa delle enormi capacità riproduttive di questi ultimi (λ è molto grande).

Molti parametri agiscono in modo da determinare il valore di R_0 . Stimare alcuni di questi parametri è semplice, mentre è più difficile determinare β . I dati relativi alle curve prevalenza-età e intensità-età ottenuti sia da studi longitudinali sia da studi orizzontali, forniscono spesso una base per determinare il coefficiente di trasmissione.

6.3 Calcolo dell' R_0

Il teorema della soglia (*threshold theorem*) di Kermack e McKendrick (1927) secondo cui un agente infettante può invadere e mantenere se stesso in una popolazione ospite solo se $R_0 > 1$, è stato introdotto, come abbiamo visto, anche per la infezioni da macroparassiti (Anderson e May, 1991).

Rispetto alle infezioni da microparassiti, dove gli individui ospiti sono classificati come infetti o non infetti, nel caso dei macroparassiti anche l'intensità dell'infezione è importante ed il teorema della soglia è stato quindi riformulato in termini di dinamica di popolazione del parassita. Anderson e May (1991), a questo proposito, definiscono l' R_0 per i macroparassiti come il numero medio di discendenti

(o di discendenti di sesso femminile nel caso di parassiti dioici) prodotti durante tutta la vita riproduttiva di una parassita, che sopravvivono fino a raggiungere la maturità in assenza di vincoli densità-dipendenti sulla dinamica di popolazione. È evidente come siano presenti, in questa definizione, le caratteristiche necessarie per adattare il concetto di R_0 alle infezioni da macroparassiti.

Diekmann *et al.* (1990) hanno esaminato il concetto da un punto di vista rigorosamente matematico.

Questi autori hanno definito l' R_0 come l'autovalore dominante⁸ di un operatore (tipicamente una matrice) che collega il numero di ospiti infetti in una generazione al numero di ospiti infetti nella generazione successiva.

L'autovalore dominante fornisce quindi una misura dell'aumento del numero di ospiti infetti da una generazione alla successiva, dopo che un certo numero di generazioni siano passate. Questo tipo di definizione fornisce un quadro all'interno del quale l' R_0 può essere definito e calcolato in molte situazioni complicate.

Utilizzando il modello elaborato da Roberts e Grenfell (1991) per i parassiti dei ruminanti, calcoleremo dapprima l' R_0 basandoci sulla sua stessa definizione, per poi applicare il sistema di calcolo proposto da Diekmann *et al.* (1990) basato sul calcolo degli autovalori. Il modello in questione consta delle seguenti equazioni:

$$\frac{dL}{dt} = -(\rho + \beta H)L + q\lambda(r)HP \quad [40]$$

$$\frac{dP}{dt} = \beta p(r)L - \mu(r)P \quad [41]$$

dove ρ è il tasso con cui la densità delle larve nell'ambiente diminuisce in assenza di ruminanti, β è il tasso con cui le larve vengono ingerite dai ruminanti, $\lambda(r)$ è il tasso medio con cui un singolo parassita adulto produce uova, q è la probabilità che un uovo si sviluppi fino allo stadio di larva infettante e H è il numero di ospiti

⁸ Data una matrice quadrata A , uno scalare Λ e un vettore x sono detti rispettivamente *autovalore* e *autovettore* di A se è verificata l'equazione $Ax = \Lambda x$. Nel caso ci siano più autovalori, l'autovalore dominante è l'autovalore massimo nel caso dei sistemi a tempo continuo e l'autovalore a massimo modulo nel caso dei sistemi a tempo discreto.

per unità di area. Per quanto riguarda la dinamica dei parassiti adulti, $p(r)$ è la probabilità che una larva, una volta ingerita, si sviluppi in parassita adulto, e $\mu(r)$ è il tasso di mortalità del parassita adulto.

I parametri λ , p e μ sono scritti in funzione di r , che è una misura del livello medio di immunità acquisita nella popolazione ospite. Considerando trascurabile l'immunità nella definizione di quantità soglia (la soglia infatti altro non è che la quantità limite da cui dipende la risposta di un sistema ospite-parassita in precedenza libero da parassiti), il numero di larve infettanti prodotte da un parassita adulto in un anno sarà $q\lambda(0)$, ciascuna con un'attesa di vita pari a $\frac{1}{(\rho+\beta H)}$ anni; in altre parole $\frac{q\lambda(0)}{(\rho+\beta H)}$ larve all'anno. Ragionando in modo analogo, il numero di parassiti adulti prodotti da una larva infettante sarà $\frac{\beta H p(0)}{\mu(0)}$ all'anno. Possiamo quindi definire l' R_0 come la quantità di parassiti adulti all'anno prodotti nella generazione successiva da un parassita adulto della generazione precedente (Roberts e Heesterbeek, 1995).

$$R_0 = \frac{q\lambda(0)}{(\rho + \beta H)} \frac{\beta H p(0)}{\mu(0)} \quad [42]$$

In alternativa, l' R_0 può essere ricavato moltiplicando il numero di larve infettanti prodotte da un parassita adulto nel corso della sua vita $\left(\frac{q\lambda(0)}{\mu(0)}\right)$ per il numero di parassiti adulti prodotti da una larva infettante $\left(\frac{\beta H p(0)}{\rho + \beta H}\right)$.

$$R_0 = \frac{q\lambda(0)}{\mu(0)} \frac{\beta H p(0)}{(\rho + \beta H)} \quad [43]$$

Entrambe le definizioni hanno naturalmente la stessa formula; questo è dovuto al fatto che le equazioni [40] e [41] formano un modello autonomo, cioè un modello in cui i tassi di transizione tra gli stadi nel ciclo di vita sono indipendenti dal tempo.

Quando il tempo (t) appare esplicitamente nelle equazioni che definiscono il modello, non è così semplice definire l' R_0 in termini di parametri di sistema. A

questo proposito la definizione data nella [42] è migliore perché definisce i parametri in funzione del tempo (Roberts e Heesterbeek, 1995). Tuttavia, questa espressione non è l'unica ad avere le proprietà di soglia richieste, poiché qualsiasi potenza di R_0 ha le stesse proprietà.

L'altro modo per definire e calcolare l' R_0 è introdurre una matrice K ricavata direttamente dalle equazioni del modello (Roberts e Heesterbeek, 1995).

Prima di procedere, consideriamo il caso generale di un parassita con un ciclo di vita a due stadi, descritti dal seguente sistema a due equazioni:

$$\frac{dx_1}{dt} = -l_1x_1(t) + m_2x_2(t) \quad [44]$$

$$\frac{dx_2}{dt} = m_1x_1(t) - l_2x_2(t) \quad [45]$$

dove x_1 e x_2 descrivono l'evoluzione nel tempo dei due stadi; l_1 e l_2 rappresentano i tassi di uscita rispettivamente dallo stadio x_1 e dallo stadio x_2 , mentre m_1 e m_2 rappresentano i tassi di ingresso negli stadi x_1 e x_2 provenienti rispettivamente da x_2 e x_1 .

La matrice di stato del sistema, ovvero la matrice composta dai suoi coefficienti, è:

$$A = \begin{pmatrix} -l_1 & m_2 \\ m_1 & -l_2 \end{pmatrix} \quad [46]$$

Questa matrice si può riscrivere come differenza di due matrici M e L :

$$A = M - L = \begin{pmatrix} 0 & m_2 \\ m_1 & 0 \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} l_1 & 0 \\ 0 & l_2 \end{pmatrix} \quad [47]$$

Da esse si può ricavare la matrice K come prodotto tra la matrice inversa⁹ di L e M :

$$K = L^{-1}M = \frac{1}{l_1 l_2} \begin{pmatrix} l_2 & 0 \\ 0 & l_1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 & m_2 \\ m_1 & 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & m_2/l_1 \\ m_1/l_2 & 0 \end{pmatrix} \quad [48]$$

Tornando, quindi, al modello di Roberts e Grenfell (1991), le matrici A e K valgono:

$$A = \begin{pmatrix} -(\rho + \beta H) & q\lambda(0)H \\ \beta p(0) & -\mu(0) \end{pmatrix} \quad [49]$$

$$K = \begin{pmatrix} 0 & \frac{q\lambda(0)H}{\rho + \beta H} \\ \frac{\beta p(0)}{\mu(0)} & 0 \end{pmatrix} \quad [50]$$

Poiché secondo Roberts e Heesterbeek (1995) l' R_0 corrisponde al quadrato dell'autovalore dominante¹⁰ della matrice K ($R_0 = \Lambda(K)^2$), possiamo calcolarlo nel seguente modo:

$$\det(K - \Lambda I) = \det \begin{pmatrix} -\Lambda & \frac{q\lambda(0)H}{\rho + \beta H} \\ \frac{\beta p(0)}{\mu(0)} & -\Lambda \end{pmatrix} = \Lambda^2 - \frac{q\lambda(0)H}{\rho + \beta H} \frac{\beta p(0)}{\mu(0)} = 0 \quad [51]$$

⁹ La matrice inversa di L è la matrice L^{-1} tale che $LL^{-1} = I$ dove I è la matrice identità. Un possibile metodo di calcolo è il seguente:

data $L = \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix}$ si ha $L^{-1} = \frac{1}{\det(L)} \begin{pmatrix} d & -b \\ -c & a \end{pmatrix}$, dove il determinante della matrice L è uguale a $\det(L) = ad - bc$. Fortunatamente, per le matrici diagonali l'inversa equivale alla matrice diagonale avente per elementi gli inversi della matrice di origine.

¹⁰ Gli autovalori di K sono le soluzioni dell'equazione $\det(K - \Lambda I) = 0$.

$$\Lambda^2 = \frac{q\lambda(0)H}{\rho + \beta H} \frac{\beta p(0)}{\mu(0)} \quad [52]$$

Più in generale si può dimostrare che, per un sistema a k equazioni, la matrice K è uguale a:

$$K = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & \dots & m_k/l_1 \\ m_1/l_2 & 0 & \dots & \dots & 0 \\ 0 & m_2/l_3 & \dots & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & m_{k-1}/l_k & 0 \end{pmatrix} \quad [53]$$

$$\text{e } R_0 = \Lambda(K)^k.$$

6.4 Punti critici di interruzione nella trasmissione dei parassiti

Quando è necessaria la fecondazione incrociata, la diminuzione dell'intensità di infezione al di sotto di un livello critico fa sì che l'accoppiamento diventi troppo infrequente per mantenere una produzione di stadi di trasmissione del parassita sufficiente per la perpetuazione dell'infezione (Anderson e May, 1991). L'esistenza di una carica critica di parassiti è analoga a un *effetto Allee*¹¹ (Deredec e Courchamp, 2003) e definisce un punto di interruzione o rottura (*breakpoint*) nella trasmissione del parassita, distinto dalla soglia di trasmissione ($R_0 = 1$). Questo concetto ha un'evidente importanza per la lotta ai parassiti. Il livello preciso di questo punto però dipende, oltre che dal fatto che il parassita sia monogamo o poligamo, in modo critico anche dal grado di aggregazione degli elminti nella popolazione degli ospiti

¹¹ Il modello di crescita logistica presuppone che perfino alle basse densità di popolazione ogni individuo eserciti il medesimo effetto negativo sul tasso di accrescimento dell'intera popolazione. Alcune popolazioni, tuttavia, manifestano il cosiddetto *effetto Allee* (dal nome dello studioso che per primo lo descrisse), in base al quale gli individui possono attraversare periodi di maggiore difficoltà per quanto riguarda la loro sopravvivenza o la riproduzione proprio quando la popolazione comprende pochi individui (Campbell e Reece, 2004). In un modello di simulazione Regoes *et al.* (2002) hanno mostrato che la popolazione parassita può insediarsi nella popolazione ospite solo se la dimensione della popolazione fondatrice (la dose infettante) supera una soglia di invasione che gli autori riferiscono come un *effetto Allee*.

(Anderson e May, 1991). Le distribuzioni altamente aggregate fanno sì che il punto di rottura sia situato vicino a zero vermi per ogni ospite; la spiegazione intuitiva è che le distribuzioni aggregate fanno aumentare la frequenza con cui i parassiti adulti si incontrano (Anderson, 2000).

6.5 Fattori climatici

I cambiamenti climatici hanno un'influenza importante sull'epidemiologia della maggior parte delle malattie parassitarie. Poiché l'azione del clima sull'ospite e sul parassita è indipendente dalla dimensione della popolazione, pur potendo causare cospicue variazioni di densità (influenzando il comportamento dell'ospite, l'abbondanza degli ospiti intermedi, la longevità degli stadi infettanti, lo sviluppo del parassita...) essa è di natura non regolatrice. I parametri climatici sono quindi detti fattori densità-indipendenti (Anderson, 2000). Dal momento che i cambiamenti climatici possono ridurre il numero riproduttivo di base, i provvedimenti di controllo avranno più successo applicati intensivamente durante i periodi dell'anno in cui il valore di R_0 è minimo.

7. Ancora sui modelli

“It will be acknowledged that a predictive mathematical model of the epidemiology of any disease is desirable, both from the standpoint of intellectual satisfaction and from the standpoint of the usefulness in planning measures to control the disease”

Hairston, 1965

Negli ultimi anni si è osservata una tendenza in crescita nel numero di pubblicazioni che utilizzano modelli matematici. Questa crescita è associata alla progressiva consapevolezza di ciò che i modelli possono offrire in termini di predizione e comprensione dei fenomeni. Ogni modello può essere tipicamente pensato come strumento concettuale che spiega come un oggetto o una sistema di oggetti si comporterà. Un modello matematico usa il raffinato linguaggio della matematica ed ha quindi, come componenti, concetti matematici (costanti, variabili, funzioni, equazioni...) per produrre una rappresentazione di un fenomeno che, pur essendo semplificata rispetto alla realtà, ne rivela il funzionamento intimo (Keeling e Rohani, 2008).

Ci sono due importanti questioni che necessitano di essere sollevate rispetto allo sviluppo e all'uso dei modelli matematici. Primo, un modello è valido solo se lo sono gli assunti necessari a generarlo, assunti che sono buoni solo se è buona la qualità dei dati alla loro base. Secondo, ogni modello, come strumento di ricerca, è un'ipotesi matematica. I modelli sono tentativi di predire la realtà in termini semplicistici e proprio per questo sono, per definizione, “imperfetti”. Uno dei più grandi problemi nella formulazione dei modelli matematici è associato alla complessità dei sistemi biologici (Bush *et al.*, 2001). La formulazione di un modello per la comprensione di

un determinato fenomeno è un compromesso tra tre importanti, e spesso in conflitto, elementi: accuratezza, trasparenza e flessibilità. L'accuratezza è la capacità di riprodurre i dati osservati e predire in modo affidabile le dinamiche future; generalmente aumenta al crescere della complessità del modello e con l'inclusione di dettagli biologici rilevanti. La trasparenza deriva dalla capacità di comprendere come le varie componenti del modello influenzano la genesi e l'evoluzione del fenomeno studiato e interagiscono. Essa è solitamente raggiunta aggiungendo e rimuovendo in fasi successive le componenti e costruendo il modello a partire da uno più semplice; all'aumentare del loro numero, diviene più difficile valutarne il ruolo e le interazioni nel complesso. La trasparenza è quindi l'opposto dell'accuratezza. La flessibilità misura la facilità con cui il modello può essere manipolato e adattato a nuove situazioni; questo è vitale se il modello serve a valutare strategie di controllo o predire l'andamento di una malattia in un ambiente in continuo cambiamento (Keeling e Rohani, 2008).

Una delle classificazioni più attuali dei modelli matematici, prevede l'inquadramento in due tipologie: modelli deterministici e modelli stocastici.

I modelli di Anderson e May (1978) e molte delle loro modificazioni sono modelli deterministici, ovvero modelli in cui le variabili di *input* assumono valori fissi. In effetti, la maggior parte delle attuali conoscenze sulle interazioni tra i macroparassiti e i loro ospiti è basata su modelli deterministici sviluppati a partire da quelli di Anderson e May (1978). In una sorta di visione Newtoniana della realtà, i modelli deterministici prevedono che, date le stesse condizioni di partenza, verranno sempre osservati esattamente gli stessi risultati, anche se è possibile tener conto, entro certi limiti, della variabilità e dell'effetto del caso (calcolando, ad esempio, gli intervalli di confidenza con appropriati metodi statistici). Pur catturando gran parte della fenomenologia delle interazioni tra popolazioni, tali modelli non permettono fluttuazioni aleatorie e sono quindi di difficile applicazione alla realtà dinamica dei parassiti (Keeling e Rohani, 2008). Abbiamo visto, ad esempio, come il fatto che il parametro k della distribuzione binomiale negativa sia un parametro fisso, costituisca un limite concettuale e matematico dei modelli di Anderson e May (Rosà e Pugliese,

2002). Questa approssimazione è stata superata per consentire al grado di aggregazione di evolvere dinamicamente (Kretzschmar, 1989; Pugliese *et al.*, 1998) e per tenere conto delle cause che generano aggregazione e degli effetti dell'aggregazione dal punto di vista epidemiologico (Cornell *et al.*, 2004).

In tempi recenti lo sviluppo di *software* e computer potenti ha permesso di elaborare modelli stocastici che permettono di prendere in considerazione le variazioni (casuali e non) delle variabili di *input*, e quindi forniscono risultati in termini di probabilità. Viene in questo caso sfruttata la capacità del modello di utilizzare stime della variabilità dei parametri, verificando l'effetto di questa variabilità nel comportamento del sistema. I modelli stocastici hanno così permesso di tener conto di complessità come la stocasticità demografica e la variabilità genetica (Cornell, 2005). Una tecnica ampiamente usata in questo tipo di modelli è il *Metodo Monte Carlo*, che consiste nel generare *set* di valori di una variabile aleatoria appartenente ad una popolazione di cui è nota la distribuzione di probabilità (Keeling e Rohani, 2008). In generale, un modello stocastico è molto più ricco di un modello deterministico perché, invece di descrivere un comportamento medio, tiene conto delle fluttuazioni dovute al caso, permettendo di fornire risultati più aderenti alla realtà. Ovviamente, la maggiore ricchezza di informazioni può presentare in certi casi, come contropartita, una minore trasparenza.

CAPITOLO 3

Epidemiologia e ciclo degli strongili gastrointestinali degli equidi

1. Ciclo biologico

Per strongilosi gastrointestinali si intendono le parassitosi causate negli equidi dalle specie di nematodi inclusi nella famiglia Strongylidae a cui appartengono le due sottofamiglie dei grandi strongili (Strongylinae) e dei piccoli strongili (Cyathostominae). Sia i grandi sia i piccoli strongili sono parassiti a ciclo diretto il cui sviluppo prevede cinque stadi larvali. L'infezione avviene per ingestione delle larve infettanti (L3) che si sviluppano nell'ambiente attraverso due mute dalle larve al primo stadio (L1) che sgusciano dalle uova.

Le uova, prodotte in uno stadio di morula precoce da femmine adulte localizzate nel grosso intestino, sono eliminate con le feci; la schiusa avviene nell'ambiente esterno ed è regolata da diversi fattori fra cui temperatura, umidità e motilità della stessa larva (Urquhart *et al.*, 1998). La temperatura è un fattore molto importante per quanto riguarda lo sviluppo dell'embrione nell'uovo. Esso infatti necessita di temperature superiori ai 3°C per svilupparsi; tuttavia, se la temperatura è inferiore ai 10°C, lo sviluppo dell'embrione è molto lento e irregolare. La schiusa dell'uovo invece non avviene a temperature inferiori ai 7,5°C (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Nella fase esogena del ciclo, si susseguono due mute (L1 → L2 → L3) con perdita della cuticola solo nella prima. I primi due stadi larvali si alimentano di batteri mentre nelle L3 la cuticola residua dalle L2 diventa impermeabile e non consente al nematode di alimentarsi; perciò gli stadi infettanti, benché non possano nutrirsi, sono meglio protetti dagli insulti esterni e mostrano maggiore resistenza ambientale (Urquhart *et al.*, 1998).

La rapidità dello sviluppo delle uova e delle larve fino allo stadio infettante è proporzionale alla temperatura e si realizza tra i 10 e 35°C. Lo sviluppo fino allo stadio infettante non può avvenire a temperature superiori ai 38°C poiché si ha la morte delle larve. Un altro fattore limitante è l'umidità, cui sono particolarmente sensibili le L1 e le L2 (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Quando le condizioni climatiche sono favorevoli (con un'umidità superiore all'80% e una temperatura tra i 18°-26°C), le uova si sviluppano in L3 in almeno 7 giorni per i grandi strongili (le L2 di *S. vulgaris* hanno tempi di sviluppo più lunghi rispetto agli altri strongili; Ogbourne e Duncan, 1977) e in circa 3-5 giorni per i piccoli strongili, e migrano dal materiale fecale alla superficie degli steli d'erba (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). I movimenti delle L3 sono possibili grazie alle riserve lipidiche accumulate nelle cellule intestinali durante gli stadi precedenti e sono influenzati da diversi fattori: temperatura (al crescere della temperatura aumenta la motilità); luce (fototropismo positivo a debole intensità e fototropismo negativo a forte intensità); umidità (igrotropismo positivo). La sopravvivenza delle larve dipende dalla loro attività e quindi dalla velocità con cui consumano le proprie riserve; poiché l'attività delle larve dipende dalla temperatura, la loro sopravvivenza aumenta alle basse temperature (Ogbourne e Duncan, 1977). L'entità delle riserve immagazzinate influenza la capacità infettante della larva.

La fase endogena del ciclo inizia con l'ingestione da parte dell'ospite delle L3 che perdono la cuticola delle L2 che le avvolgeva e si sviluppano ad adulto mediante due ulteriori mute e un destino che è diverso a seconda della specie. Diversa è anche la fase di prepatenza, ovvero del periodo che intercorre da L3 ad adulto.

Gli adulti si localizzano nei diversi tratti dell'intestino e, dopo l'accoppiamento, le femmine depongono le uova che vengono emesse con le feci dell'ospite. La produzione giornaliera di una femmina di grande strongilo è pari a circa 5000 uova, mentre quella di una femmina di piccolo strongilo è pari a circa 100-200 uova al giorno (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

1.1 *Strongylus vulgaris*

Le larve infettanti di *Strongylus vulgaris*, dopo essere state ingerite, penetrano nella parete del piccolo e del grosso intestino e, dopo una settimana, mutano nella sottomucosa a larve di quarto stadio (L4). Successivamente esse penetrano nelle piccole arterie per poi portarsi nell'endotelio dell'arteria mesenterica craniale, dei suoi rami principali e del tronco ileo-cieco-colico. Le larve vi permangono per molti mesi per poi mutare a lare di quinto stadio (L5) e ritornare nella parete intestinale attraverso il lume delle arteriole (Taylor *et al.*, 2010). Qui formano noduli circondati da cellule infiammatorie e tessuto fibroso. Uscendo dal nodulo, le L5 lasciano un cratere ulceroso sulla parete intestinale, cambiano la cuticola protettiva e si sviluppano ad adulti all'interno del lume; questi non sono attivi prima di sei mesi (periodo di prepatenza) dall'infezione (Taylor *et al.*, 2010). Pur con prevalenze inferiori rispetto al passato, *S. vulgaris* è ancora considerato il nematode, tra i parassiti dei cavalli, dotato di maggiore potere patogeno. Le forme larvali causano estesi quadri di endoarterite nel circolo mesenterico con fenomeni trombo-embolici ed infarti nei diversi tratti del grosso intestino e conseguenti coliche di gravità variabile (Taylor *et al.*, 2010).

1.2 Piccoli strongili

Le specie che appartengono al gruppo dei piccoli strongili hanno ciclo simile. Le L3, una volta persa la cuticola protettiva, penetrano nella parete intestinale e formano noduli nella mucosa o nella sottomucosa del cieco e del colon, all'interno dei quali continuano il loro sviluppo. Queste larve sono ancora in una primitiva fase di sviluppo e per questo vengono definite precoci (E13, *early* L3). Una parte delle EL3 può maturare fino a uno stadio di sviluppo più tardivo (DL3, *developing* L3) e successivamente mutare a L4. Raggiunto questo stadio si ha la fuoriuscita dal nodulo e la muta a L5 ed a parassiti adulti e maturi sessualmente (Taylor *et al.*, 2010). Il tempo necessario per lo sviluppo da L3 ad adulto sessualmente maturo è mediamente di 2-3 mesi, sebbene possa prolungarsi molto qualora sia presente una fase di ipobiosi, ovvero un periodo di arresto temporaneo dello sviluppo larvale allo stadio

EL3 che può durare da alcuni mesi fino a due anni (Corning, 2009). Sebbene si sia spesso sostenuta l'influenza di fattori ambientali o di fattori legati all'ospite, come l'immunità, nel fenomeno dell'ipobiosi, non ci sono dati sostanziali a sostegno di ciò (Love *et al.*, 1999). L'ipotesi proposta da Gibson (1953) secondo cui la presenza di parassiti adulti nel lume intestinale sia responsabile di un *feedback* negativo nei confronti degli stadi mucosali, contribuendo così all'innescare e alla persistenza dell'ipobiosi, è stata supportata dai risultati di uno studio successivo (Smith, 1976) e ulteriormente rafforzata dall'evidenza di una maggiore presenza di larve ipobiotiche nel corso di infezioni sperimentali in cui l'inoculo di larve era maggiore o queste venivano somministrate attraverso infezioni ripetute (*trickle infection*) nel corso di numerose settimane (Love e Duncan; 1992). Eysker *et al.* (1989) hanno osservato un incremento nell'emissione di uova in animali trattati, spiegabile con la ripresa dello sviluppo delle larve ipobiotiche dopo il trattamento. Anche la ciatostomosi larvale, patologia che si manifesta con dolore colico e diarrea profusa, può essere causata dalla riemersione massiva di larve ipobiotiche conseguente a un trattamento antelmintico (Love *et al.*, 1999).

Mughini Gras *et al.* (2011) hanno, inoltre, recentemente messo in evidenza il possibile ruolo delle interazioni ecologiche esistenti tra gli stadi mucosali e gli adulti nel regolare le popolazioni di piccoli strongili

2. Epidemiologia

Le strongilosi sono il più frequente problema parassitario nei giovani cavalli allevati al pascolo. I soggetti adulti possono ospitare cariche elevate e pertanto hanno una notevole importanza nell'epidemiologia di queste parassitosi. Le principali fonti di infezione nelle aree temperate sono rappresentate dalle larve che si sono sviluppate nel corso della precedente stagione di pascolo e hanno superato l'inverno; e dalle larve infettanti sviluppatasi dalle uova emesse con le feci durante la stessa stagione di pascolo, soprattutto dalle fattrici che condividono il pascolo con i puledri. La contaminazione larvale cresce rapidamente nei mesi tardo primaverili-estivi,

quando le condizioni ambientali sono favorevoli ad un rapido sviluppo delle L3 (Urquhart *et al.*, 1998).

L'aumento di emissione di uova attorno al parto non sembra significativo nel cavallo e l'aumento primaverile si verifica sia nelle fattrici sia negli altri animali indipendentemente dalla gravidanza (Urquhart *et al.*, 1998). Raramente vengono riportate differenze tra maschi e femmine nei livelli di infezione (Mughini Gras *et al.*, 2011) e se presenti sembrano piuttosto dovute al tipo di *management* piuttosto che al sesso stesso (Francisco *et al.*, 2009b). Differenze tra animali di diversa età nella carica di piccoli strongili vengono raramente rinvenute (Klei and Chapman, 1999; Collobert-Laugier *et al.*, 2002; Chapman *et al.*, 2003), sebbene in animali sottoposti agli stessi protocolli terapeutici, i giovani mostrino una maggiore emissione di uova. È probabile che questo sia dovuto a una presenza maggiore nei giovani di stadi mucosali, resistenti alla maggior parte dei farmaci, che riemergerebbero in gran numero in seguito al trattamento (Klei e Chapman, 1999). In animali non trattati o con scarsa esposizione agli antielmintici, è possibile riscontrare un aumento nell'emissione di uova con l'età (Eydal e Gunnarsson, 1994; Klei e Chapman, 1999; Francisco *et al.*, 2009a).

CAPITOLO 4

Materiali e metodi

1. Allevamento e animali

I dati sperimentali sono stati raccolti presso l'allevamento di asini "Montebaducco", situato a Salvarano di Quattro Castella (RE), che ha una estensione di circa 55 ettari di terreno in prevalenza collinare ed è strutturato come descritto nell'Allegato 1.

L'allevamento ospita una popolazione di 600 capi appartenenti a diverse razze asinine italiane, alcune razze di provenienza estera e relativi incroci. La rimonta è esclusivamente interna e la popolazione si mantiene stabile grazie alle nascite, costituite da circa 180 puledri l'anno, e alle uscite relative ad animali venduti a privati e soggetti macellati; la mortalità naturale è trascurabile.

Il rapporto maschi-femmine è di 1:4 e tutti i capi sono certificati biologicamente, venendo quindi alimentati con prodotti biologici coltivati nell'azienda stessa. Gli asini non sono sottoposti ad alcun trattamento antiparassitario e sono stabulati in paddock esterni parzialmente coperti da tettoie, alcuni su terra battuta, altri su lettiera permanente in paglia. La gestione dell'allevamento non prevede una suddivisione stabile e permanente degli animali; essi si spostano in vari settori dell'azienda a seconda del momento produttivo e solo durante la monta una parte di essi viene separata in base alla razza al fine di mantenere alcune linee genetiche pure. Nelle stalle 1 e 2 (allegato 1) sono stabulate asine gestanti, asine in lattazione, puledri in svezzamento e stalloni. Giornalmente le asine in lattazione vengono munte presso un'apposita sala mungitura (N° 6). Le madri e i rispettivi puledri rimangono nelle stalle 1 e 2 sino al completamento dello svezzamento, che avviene intorno ai 6 mesi. Terminata questa fase, i puledri vengono stabulati nei settori 4 e 9 in attesa del raggiungimento della pubertà, mentre le madri vengono portate nelle stalle esterne

N° 7 e 5, in cui sono già presenti stalloni adibiti alla riproduzione e asine già fecondate. In questi settori avviene la fecondazione per monta naturale e le asine vi permangono fino a 10 mesi dopo la copertura. Terminato questo periodo, le gestanti vengono riportate nella stalla 1 dove inizia un nuovo ciclo riproduttivo.

L'attività principale dell'azienda è la produzione lattea che ammonta a circa 13000 litri l'anno; ad essa si accompagnano la produzione di carni e prodotti derivati e la vendita di cosmetici ottenuti con latte d'asina, nonché la cessione di soggetti a terzi.

2. Raccolta dei campioni di feci in allevamento

Lo studio è stato realizzato su un totale di 72 asini. Sono stati effettuati due campionamenti di feci durante il mese di luglio 2009.

Il tipo di campionamento messo in atto per l'indagine era finalizzato ad ottenere un campione da animali con un *range* di età il più ampio possibile. I soggetti presenti in allevamento sono stati idealmente suddivisi in base alle fasce di età e da ciascuna di queste sono stati prelevati campioni individuali di feci. La raccolta non è quindi stata effettuata per ottenere un campione rappresentativo dell'allevamento, bensì per ottenere un certo numero di campioni fecali per ciascuna fascia di età. Inoltre, sono state raccolte informazioni circa sesso, categoria produttiva (puledri lattanti ancora insieme alla madre, madri insieme al puledro, femmine in lattazione, fattrici in gestazione) e settore d'allevamento degli animali campionati.

Non è stato possibile attuare il prelievo delle feci direttamente dall'ampolla rettale per la difficoltà ad eseguire tale manovra in animali di piccole dimensioni tenuti allo stato libero e spesso privi di feci nell'ampolla stessa. I campioni sono stati pertanto raccolti, mediante sacchetti di plastica numerati, dal suolo subito dopo la loro emissione evitando di prelevare feci non fresche o contaminate dal terreno. In concomitanza alla raccolta del campione fecale si procedeva all'identificazione dell'animale tramite lettura elettronica del microchip inserito nella regione del collo.

Tale operazione veniva praticata per tutti gli animali esclusi i puledri nei quali il dispositivo non era stato ancora impiantato. Le feci raccolte sono state refrigerate ad una temperatura di 4°C e conservate per un periodo non superiore a due giorni.

3. Esame coprologico quantitativo

Metodica McMaster modificata dalla FAO

Tutti i campioni fecali sono stati sottoposti ad esame quantitativo secondo una tecnica di McMaster modificata per permette di raggiungere la sensibilità di 20 uova per grammo di feci (Roepstorff e Nansen, 1998). Le diverse fasi sono riportate nel dettaglio di seguito:

- pesare 5 gr di feci all'interno di un becker graduato e aggiungere 70 ml di acqua di fonte;
- amalgamare con un pestello fino a sciogliere il materiale fecale nell'acqua;
- filtrare in un secondo *becker* la sospensione tramite due garze disposte a maglie incrociate, raccogliendo così il filtrato;
- mantenendo in sospensione il filtrato di acqua e feci, caricarne 10 ml in una provetta graduata;
- centrifugare la provetta (1200 rpm × 6 min);
- eliminare il surnatante e aggiungere un volume di soluzione flottante (1300 ps) sufficiente per raggiungere i 4 ml, quindi risospendere il sedimento;
- riempire le intercapedini del vetrino di McMaster (provvisto di una doppia camera per il caricamento del campione e di un griglia per la conta degli elementi parassitari) e lasciare riposare il preparato per 5 minuti per permettere agli elementi eventualmente presenti di portarsi in superficie;
- osservare al microscopio ottico (10x) e procedere alla conta di tutti gli elementi compresi nel perimetro e all'interno della griglia

disegnata sul vetrino; il numero va moltiplicato per 20 in modo da ottenere il numero di uova o di oocisti per grammo di feci (UPG o OPG).

4. Esame coprologico qualitativo

Il filtrato di acqua e feci non utilizzato nell'esame precedente, è stato adoperato nell'esame coprologico qualitativo che prevede le seguenti fasi:

- centrifugare a 1500 rpm × 5 min;
- eliminare il surnatante ottenuto dopo centrifugazione, e risospendere il sedimento con soluzione flottante (1300 ps);
- centrifugare nuovamente (1500 rpm × 5 min);
- aggiungere ulteriore soluzione flottante in modo da formare un menisco positivo e appoggiare sulla provetta un vetrino coprioggetti a cui aderiranno dopo pochi minuti le uova eventualmente presenti;
- porre il vetrino coprioggetti su un vetrino portaoggetti e leggere il preparato al microscopio ottico (10x e 40x).

5. Coprocoltura, estrazione e identificazione larvale

La coprocoltura per uova di strongili consente di ricreare le condizioni ottimali per la schiusa e lo sviluppo larvale sino al terzo stadio (L3) per il quale è possibile l'identificazione del genere.

Mescolando circa 20 gr di feci con vermiculite e acqua, è stato ottenuto un composto omogeneo raccolto in contenitori di plastica su cui è stata applicata una rete a maglie strette per consentire l'ossigenazione evitando la contaminazione da parte delle mosche. Per 10 giorni la coltura è stata mantenuta a temperatura ambiente e quotidianamente umidificata. Successivamente, l'estrazione delle L3 è stata eseguita mediante tecnica di Baermann. Prelevata un'aliquota di coltura fecale, essa è

stata inserita in un sacchetto di garza e immersa in acqua all'interno dell'imbuto dell'apparecchio di Baermann.

Dopo un'attesa di 12-24 ore per dar modo alle L3 di sedimentare sul fondo di una provetta collegata all'imbuto, con una pompa a vuoto si è proceduto all'eliminazione del liquido surnatante per il successivo recupero delle L3 situate sul fondo. Le larve sono state montate e osservate al microscopio ottico (10x e 40x), identificando, compatibilmente col numero di larve a disposizione, 100 larve per ciascun campione.

Le chiavi identificative utilizzate (Euzebby, 1981) non riconoscono alcuni generi indicati da Lichtenfels *et al.* (2008) riunendoli tutti sotto il genere *Cyathostomum*, che quindi va inteso in senso lato racchiudendo anche i generi *Cylicocyclus*, *Cylicostephanus*, *Coronocyclus* e *Cylicodondotophorus*. Per facilitare l'identificazione le larve sono state poste a temperatura di -20°C per un minuto o passate velocemente alla fiamma così da inibirne i movimenti.

Rapportando il numero di L3 di ciascun genere al totale di larve contate in ogni coprocoltura e moltiplicando per il numero di UPG di strongili, si ottiene una stima del numero di larve (o meglio di uova) per grammo di feci, indicate nei risultati come uova identificate per grammo di feci o IEPG (*Identified Eggs Per Gram*). È stato poi calcolato in numero medio di larve per grammo appartenenti ai diversi generi.

6. Campionamento e indagine parassitologica al macello

A partire dal mese di novembre 2009, si è proceduto al recupero di 10 pacchetti intestinali presso il macello equino “Zerbini e Ragazzi” di Correggio (RE). I pacchetti intestinali appartenevano a 4 femmine riformate e a 6 puledri maschi, dei quali sono stati raccolti i dati identificativi.

Il piccolo intestino è stato isolato dal tratto subito a valle del piloro sino alla valvola ileo-ciecale. Il cieco è stato prelevato con lo stesso metodo prendendo come riferimenti anatomici la valvola ileo-ciecale e l'ostio cieco-colico, che negli Equidi presenta una tonaca muscolare particolarmente ispessita a formare uno sfintere

ciecale. Il colon ventrale, isolato integralmente senza discriminare parte destra e sinistra, è stato tagliato a livello della flessura pelvica. Il mesocolon ascendente che lo unisce al colon dorsale è stato reciso lungo il suo piano mediano. Infine, si è potuto prelevare il colon dorsale procedendo semplicemente alla legatura delle estremità libere rimanenti; in esso sono stati inclusi i tratti corrispondenti al colon trasverso e al piccolo colon e sono stati eliminati i mezzi di fissità (mesocolon discendente, mesoretto). Dall'ampolla rettale è stato prelevato, quando presente, un campione di feci per l'esame coprologico.

Ogni tratto di intestino prelevato al macello è stato trattato separatamente per raccogliere contenuto intestinale e acqua di lavaggio della mucosa. A questo scopo, sono state utilizzate vasche in plastica graduate a 20, 30 e 50 litri in relazione alla quantità di materiale raccolto e al tratto intestinale di volta in volta considerato. Dopo aver svuotato il contenuto del viscere nel contenitore adatto tramite resezione longitudinale della sua parete, la mucosa dello stesso è stata delicatamente raschiata con vetrino portaoggetti e lavata con acqua di fonte. L'acqua di lavaggio è stata aggiunta al contenuto intestinale già raccolto nella vasca e, diluendo ancora con un volume d'acqua sufficiente, è stata raggiunta la tacca segna-livello della vasca. Per ogni tratto di intestino è stata prelevata un'aliquota del 10% calcolata sul volume di materiale presente in vasca. Per garantire l'omogeneità del campione il liquido in vasca veniva costantemente miscelato. Le aliquote sono state poi purificate mediante sedimentazione, eliminazione del surnatante e risospensione, fino ad ottenere un surnatante completamente limpido. A questo punto il sedimento è stato osservato allo stereomicroscopio (10-16x) per individuare i parassiti presenti che sono stati raccolti in provette contenenti una soluzione al 70% di alcool etilico glicerinato al 5%.

I parassiti raccolti dall'aliquota di ciascun tratto intestinale sono stati montati su vetrino portaoggetti e chiarificati in lattofenolo al 20%. L'identificazione degli strongili ha fatto riferimento alle chiavi di Lichtenfels *et al.* (2008).

I risultati relativi alle indagini sugli animali macellati sono disponibili nel dettaglio nella tesi di laurea di Pollio (A.A. 2009/10) e verranno in parte utilizzati per la specificazione dei modelli matematici.

7. Analisi dei dati

Analisi statistica esplorativa

A partire dai dati raccolti sono stati calcolati i seguenti parametri (Margolis *et al.*, 1982):

- prevalenza: rapporto percentuale tra il numero di positivi ed il numero degli esaminati;
- abbondanza: numero medio di parassiti sul totale degli animali esaminati.

Per verificare eventuali differenze di prevalenza nei diversi gruppi è stato utilizzato il test del χ^2 .

I dati relativi alle abbondanze sono stati analizzati utilizzando i Modelli Lineari Generalizzati (*Generalized Linear Models*, GLM).

Il software Quantitative Parasitology 3.0 (Reiczigel e Rózsa, 2005.) è stato utilizzato per il calcolo degli intervalli di confidenza, sia per le prevalenze sia per le abbondanze.

Per le ulteriori analisi statistiche, se non diversamente specificato, è stato utilizzato il software STATA 9.1.

GLM

Nei modelli presentati sono state usate le IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris* come variabili dipendenti e come covariate sono state utilizzate l'età degli animali (espressa in mesi), la categoria produttiva e il box di stabulazione.

Il test di Shapiro-Wilks è stato impiegato per valutare l'adattamento dei dati a una distribuzione Normale. Come atteso, nessuna variabile è risultata avere una distribuzione Normale e quindi l'uso dei GLM si è rivelato appropriato. I GLM sono generalizzazioni dei modelli lineari classici che permettono l'analisi di una ampio *range* di dati. Essi sono caratterizzati da una distribuzione degli errori anche non Normale (nei modelli lineari classici tale distribuzione è invece Normale) e da una *link-function* (*identity* nei modelli lineari classici) usata per mettere in relazione il valore atteso della variabile dipendente con una combinazione lineare delle

trasformate delle variabili esplicative. Essi sono particolarmente utili per modellizzare dati parassitologici a causa della distribuzione aggregata dei parassiti.

Per modellizzare le IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris* è stato utilizzato il seguente modello:

- *error density*: negative binomial
- *link-function*: log

Per l'analisi è stato utilizzato STATA 9.1.

Calcolo degli indici di aggregazione

Il *bootstrap* è una tecnica statistica di ricampionamento per approssimare la distribuzione campionaria di una statistica. Permette perciò di approssimare media e varianza di uno stimatore, costruire intervalli di confidenza e calcolare *p-values* di test quando, in particolare, non si conosce la distribuzione della statistica di interesse.

Questa tecnica è stata utilizzata sia per calcolare l'intervallo di confidenza del *Mean Crowding Index* sia per calcolare il *Taylor's Power Law Index* (*b*) (si veda il paragrafo 3 del capitolo 1). In questo caso è stato utilizzato il software Resampling Stats (per Microsoft Excel 2007) per effettuare un campionamento casuale con reinserimento di 50 conte di parassiti (UPG, IEPG, adulti di piccoli strongili e *S. vulgaris*). Il processo è stato ripetuto 30 volte ed è stato quindi calcolato il $\ln(\text{media}+1)$ e il $\ln(\text{varianza}+1)$ di ogni sottocampione stimando così il *b* come coefficiente angolare della retta di regressione $\ln(\text{varianza}+1)$ contro $\ln(\text{media}+1)$. Inoltre, usando il modulo *nbfit* di STATA è stata fatta una stima della massima verosimiglianza per adattare i dati ad una distribuzione binomiale negativa e stimarne il parametro *k*.

Per il calcolo degli altri indici di aggregazione è stato impiegato il software Quantitative Parasitology 3.0 (Reiczigel e Rózsa, 2005.).

Studio della dinamica di infezione

Per lo studio della dinamica di infezione, i dati relativi alle IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris* sono stati preliminarmente sottoposti a trasformazione

logaritmica secondo la formula $\ln IEPG = \ln(IEPG+1)$. Per valutare l'andamento delle infezioni nel tempo, l'età degli asini espressa in giorni è stata utilizzata come *proxy* del tempo di infezione stesso, procedendo alla ricerca del modello di regressione (lineare o meno) che meglio si adattasse ai dati osservati, così da spiegare la relazione tra l'età degli asini e il numero larve. Le stime ottenute dal modello sono poi state riportate al numero effettivo di IEPG tramite trasformazione inversa (antilogaritmo).

Per il calcolo delle derivate e lo studio delle funzioni stimate tramite regressione sono stati utilizzati i software Derive 6 e SpeQ Mathematics 3.4.

Modelli matematici

I modelli sviluppati nel presente lavoro sono modelli deterministici a variabili continue; ciò vuol dire che in un determinato istante di tempo t le variabili possono assumere anche valori non interi.

Per modellizzare la dinamica di popolazione dei piccoli strongili e di *S. vulgaris* sono stati rivisitati i modelli classici per macroparassiti a ciclo diretto introdotti da Anderson e May (1978) e Roberts e Grenfell (1991). Questi modelli permettono di descrivere i cambiamenti temporali della popolazione di parassiti adulti e larve nell'ambiente.

Nel modello per i piccoli strongili, inoltre, è stata introdotta un'equazione che descrive la dinamica delle larve ipobiotiche modificando i modelli di Dobson e Hudson (1992) e Hudson e Dobson (1997).

Analogamente al modello di Ferrari *et al.* (2010) sui tricostrongili di *Capra ibex*, poiché le specie che compongono il gruppo dei piccoli strongili hanno il medesimo ciclo regolato dai medesimi parametri, questi sono stati modellizzati insieme riferendo il modello a un generico ciatostomino.

I parametri sono stati impostati sulla base dei dati disponibili in letteratura o stimati sulla base dei dati sperimentali raccolti e sono riferiti alla scala temporale giornaliera. Il loro valore è inteso come valore medio ed è stato aggiustato tramite

analisi di sensibilità ai dati sperimentali. La validazione è stata fatta previa conversione dei dati calcolati dal modello nel $\ln(\text{IEPG}+1)$.

La simulazione dei trattamenti è stata fatta applicando al compartimento dei parassiti adulti e/o delle larve, con periodicità variabile, le seguenti funzioni periodiche:

$$P = P - \varepsilon P$$

$$L = L - \delta L$$

dove ε e δ sono i parametri che definiscono l'efficienza dei trattamenti.

Per l'elaborazione dei modelli matematici è stato utilizzato Model Maker 4.

CAPITOLO 5

Risultati

1. Analisi statistica esplorativa

1.1 Animali campionati

Complessivamente sono state campionate feci da 72 animali sulle cui caratteristiche è stata effettuata un'analisi statistica descrittiva al fine di evidenziare la distribuzione del campione per sesso, per categoria produttiva, per classi di età e per settori di allevamento. Tali caratteristiche sono riassunte nella tabella 1.

	Animali campionati	%
SESSO	maschi	14
	femmine	86
CLASSI DI ETÀ	da 0 a 6 mesi	22,7
	da 6 a 24 mesi	10,6
	da 2 a 5 anni	21,2
	da 5 a 10 anni	27,3
	oltre 10 anni	18,2
CATEGORIE PRODUTTIVE	gestanti	15,3
	femmine in lattazione	18,1
	femmine con puledro	16,7
	puledro sotto madre	5,6
	altri	44,4
SETTORE DI ALLEVAMENTO	box 1	37,5
	box 2	34,7
	box 3	4,2
	box 4	9,7
	box 5	13,9

Tabella 1. Descrizione degli animali campionati per sesso, classi di età, categorie produttive e settore di allevamento.

La disposizione dei paddock e delle stalle è illustrata nella pianta dell'allevamento riportata nell'allegato 1.

Come si vede, la maggior parte degli animali è di sesso femminile e si trova nella classe di età compresa tra i 5 e 10 anni.

1.2 Esami coprologici quali-quantitativi

In tutto sono stati rinvenuti 5 diversi gruppi tassonomici di parassiti: Strongili (Ordine Strongylida), Ascaridi (Famiglia Ascarididae), Ossiuri (Famiglia Oxyuridae), *Trichuris* (Genere), *Eimeria leukarti* (Specie).

Nella tabella 2 sono riportate prevalenze, abbondanze e *range* dei diversi gruppi di parassiti identificati all'esame coprologico quali-quantitativo.

	Prevalenza % (95% IC)	Abbondanza UPG/OPG (95% IC)	Range
<i>Strongili</i>	95,8 (88,4-98,85)	737,8 (603,06-914,72)	0-3360
<i>Ascaridi</i>	18,1 (10,53-29,03)	32,8 (10,83-91,4)	0-1040
<i>Ossiuri</i>	9,7 (4,66-19,24)	1,9 (0,28-6,94)	0-100
<i>Trichuris spp.</i>	1,4 (0,08-7,4)	0	
<i>Eimeria leukarti</i>	1,4 (0,08-7,4)	1,4 (0-4,17)	0-100

Tabella 2. Prevalenze, abbondanze e *range* dei parassiti rinvenuti all'esame coprologico qualitativo.

Si può osservare l'altissima prevalenza e abbondanza degli strongili, seguita dagli ascaridi e dagli ossiuri. Assai basse sono risultate essere le prevalenze di *Trichuris spp.* ed *Eimeria leukarti*, parassiti assai rari negli equidi. *Trichuris spp.* non è stato rilevato all'esame quantitativo.

Nei grafici 1, 2 e 3 è riportata la distribuzione di frequenza rispettivamente di strongili, ascaridi e ossiuri. In tutte le distribuzioni è possibile osservare come le classi meno numerose (minore abbondanza) abbiano frequenza maggiore, mentre le classi più numerose (maggiore abbondanza) abbiano una frequenza minore, riflettendo così la tipica distribuzione aggregata dei parassiti che si discosta nettamente da una distribuzione Normale (Shapiro-Wilk test, $p = 0,000$).

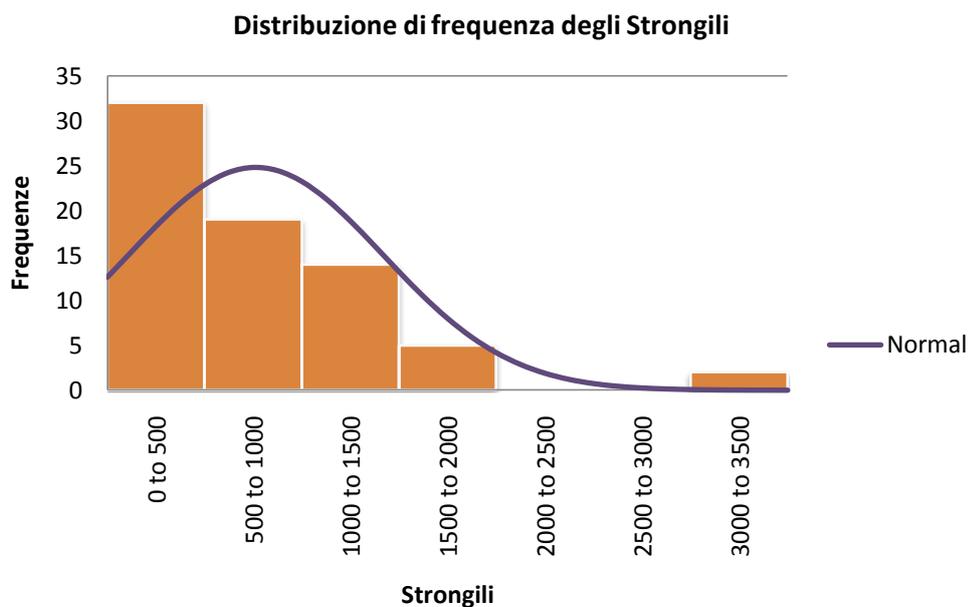


Grafico 1. Distribuzione di frequenza degli strongili negli animali campionati.

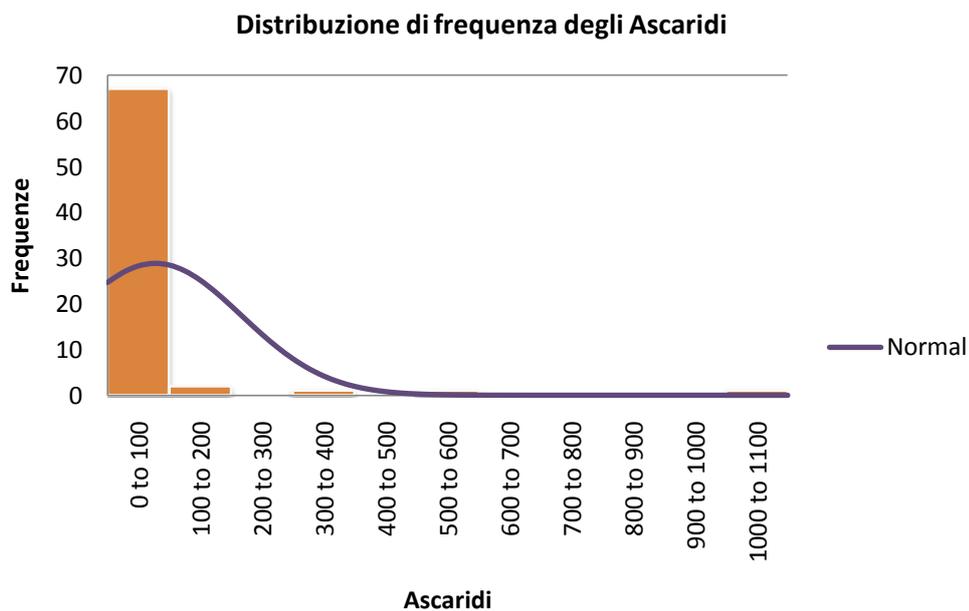


Grafico 2. Distribuzione di frequenza degli ascaridi negli animali campionati.

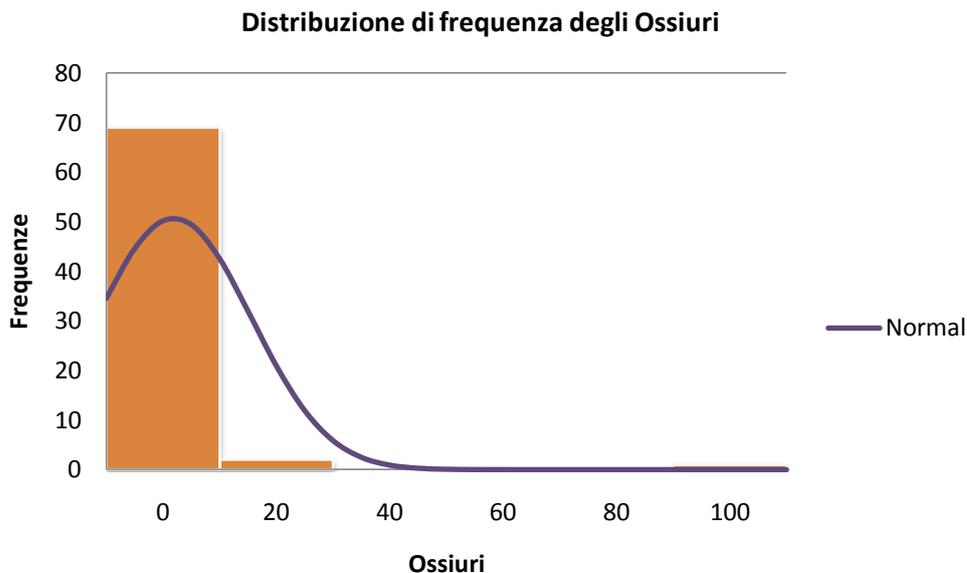


Grafico 3. Distribuzione di frequenza degli ossiuri negli animali campionati.

1.3 Identificazione delle larve di terzo stadio (L3)

Le L3 estratte dalle coproculture sono state ascritte a 7 diversi generi di strongili: *Cyathostomum* (ricordando, come specificato nei materiali e metodi, che le chiavi riuniscono sotto questa denominazione più generi diversi), *Poteriostomum*, *Triodontophorus*, *Gyalocephalus*, *Oesophagodontus*, *Trichostrongylus* e *Strongylus*.

Di quest'ultimo genere si è potuto arrivare all'identificazione della specie discriminando *Strongylus vulgaris* e *Strongylus edentatus*, per un totale di 8 gruppi morfologici larvali distinti. Le larve di *S. vulgaris*, pur morfologicamente identiche alle descrizioni di Euzebby (1981) differivano per dimensione, non raggiungendo mai la lunghezza di 1000 μm che secondo lo stesso autore viene sempre superata dalle L3 di questa specie. La presenza di *S. vulgaris* negli animali esaminati è stata comunque confermata dai risultati degli esami necroscopici.

Nella tabella 3 sono riportate prevalenze, abbondanze e *range* (calcolate come media del numero di L3 per grammo di feci o IEPG) di tutti i gruppi larvali identificati. Il test di Shapiro-Wilks per la verifica della Normalità è stato impiegato sulle IPEG di piccoli strongili e *S. vulgaris* mostrando come la loro distribuzione si discosti nettamente da una distribuzione Normale ($p = 0,000$).

	Prevalenza % (95% IC)	Abbondanza IEPG (95% IC)	Range
<i>Cyathostomum</i>	97,2% (90,48-99,50)	650,8 (526,47-817,63)	0-3207,6
<i>S. vulgaris</i>	79,2% (68,15-87,25)	74,4 (52,98-118,21)	0-840
<i>S. edentatus</i>	6,9% (2,78-15,13)	0,5 (0,19-1,41)	0-16,2
<i>Poteriostomum</i>	27,8% (18,63-39,52)	4,9 (2,93-8,11)	0-48,6
<i>Triodontophorus</i>	18,1% (10,43-29,03)	2,6 (1,27-6,15)	0-67,2
<i>Trichostrongylus</i>	12,5% (6,46-22,09)	1,1 (0,46-3,09)	0-35,3
<i>Gyalocephalus</i>	9,7% (4,66-19,24)	2,3 (0,64-6,33)	0-66,4
<i>Oesophagodontus</i>	5,6% (1,92-13,67)	1,1 (0,25-3,03)	0-38,4

Tabella 3. Prevalenze, abbondanze e *range* di tutti i gruppi larvali identificati.

La prevalenza e l'abbondanza più alta è presentata dal gruppo *Cyathostomum*, seguito da *S. vulgaris*.

1.4 Uova - differenze tra gruppi

La prevalenza dei diversi parassiti in relazione a sesso, classi di età e categorie produttive è riassunta nella tabella 4.

Nessuna differenza statisticamente significativa (χ^2 , $p > 0,05$) è stata osservata tra le prevalenze dei diversi parassiti nei 2 sessi, ovvero non è stata osservata nessuna associazione tra la presenza di parassiti ed il sesso dei diversi animali.

Differenze statisticamente significative sono state osservate per i soli strongili tra le diverse categorie produttive (χ^2 , $p = 0,000$).

Per quanto riguarda la prevalenza dei parassiti nelle diverse classi di età, abbiamo evidenziato differenze statisticamente significative sia per gli strongili (χ^2 , $p = 0,030$) sia per gli ascaridi (χ^2 , $p = 0,014$).

Infine, nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata tra le prevalenze nei diversi settori di allevamento.

		Prevalenze %				
		<i>Strongili</i>	<i>Ascaridi</i>	<i>Ossiuri</i>	<i>Trichuris</i>	<i>Eimeria leuckarti</i>
SESSO						
	maschi	100	22,2	11,1	0	0
	femmine	94,7	19,3	10,5	1,8	1,8
CLASSI DI ETÀ						
	da 0 a 6 mesi	80,0*	46,7*	20,0	0	0
	da 6 a 24 mesi	100*	0*	0	0	0
	da 2 a 5 anni	100*	28,6*	7,1	0	7,1
	da 5 a 10 anni	100*	5,6*	16,7	0	0
	oltre 10 anni	100*	8,3*	0	8,3	0
CATEGORIE PRODUTTIVE						
	gestanti	100**	18,2	9,1	0	0
	femmine in lattazione	100**	0	7,7	7,7	0
	femmine con puledro	100**	25,0	16,7	0	0
	puledri sotto madre	50,0**	25,0	25,0	0	0
	altri	96,9**	21,9	6,3	0	3,1
SETTORE DI ALLEVAMENTO						
	box 1	92,6	18,5	11,1	3,7	0
	box 2	96,0	28,0	16,0	0	0
	box 3	100	0	0	0	0
	box 4	100	0	0	0	0
	box 5	100	10,0	0	0	10,0

Tabella 4. Prevalenze dei parassiti nei due sessi, nelle diverse classi di età, categorie produttive e settori di allevamento (χ^2 , *p < 0,05; **p < 0,01).

La disposizione dei paddock e delle stalle è illustrata nella pianta dell'allevamento riportata nell'allegato 1.

1.5 L3 - differenze tra gruppi

Per le analisi che seguono sono state accorpate le L3 dei diversi gruppi di piccoli strongili. La prevalenza delle L3 in relazione a sesso, classi di età e categorie produttive è riassunta nella tabella 5.

Sono state osservate differenze statisticamente significative per i piccoli strongili tra le diverse categorie produttive (χ^2 , p = 0,000) e tra le diverse classi di età (χ^2 , p = 0,001); per *S. vulgaris* tra i due sessi (χ^2 , p = 0,003), tra categorie produttive

(χ^2 , $p = 0,009$) e tra classi di età (χ^2 , $p = 0,001$); mentre per *Triodontophorus* il livello di significatività tra categorie produttive è al limite di quello soglia (χ^2 , $p = 0,05$).

		Prevalenze %				
		<i>SS</i>	<i>SV</i>	<i>SE</i>	<i>TRIO</i>	<i>TRICH</i>
SESSO						
	maschi	88,9	33,3**	0	11,1	0
	femmine	92,9	80,7**	8,8	21,1	12,3
CLASSI DI ETÀ						
	da 0 a 6 mesi	66,6**	33,3**	0	0	0
	da 6 a 24 mesi	100**	71,4**	0	0	0
	da 2 a 5 anni	100**	92,9**	7,1	35,7	7,1
	da 5 a 10 anni	100**	83,3**	22,2	22,2	22,2
	oltre 10 anni	100**	91,7**	0	33,3	16,7
CATEGORIE PRODUTTIVE						
	gestanti	100**	81,8**	0	18,2	27,3
	femmine in lattazione	100**	92,3**	23,1	46,2	15,4
	femmine con puledro	100**	100**	8,3	16,7	16,7
	puledri sotto madre	25,0**	25,0**	0	0	0
	altri	93,8**	65,6**	3,1	9,4	6,3
SETTORE DI ALLEVAMENTO						
	box 1	88,8	70,4	14,8	25,9	7,4
	box 2	92,2	76,0	0	12,0	20,0
	box 3	100	66,7	33,3	33,3	0
	box 4	100	100	0	0	28,6
	box 5	100	80,0	0	20,0	0

Tabella 5. Prevalenze delle L3 di strongili nei due sessi, nelle diverse classi di età, categorie produttive e settori di allevamento (χ^2 , ** $p < 0,01$). SS: piccoli strongili; SV: *S. vulgaris*; SE: *S. edentatus*; TRI: *Triodontophorus* spp.; TRICH: *Trichostrongylus*.

La disposizione dei paddock e delle stalle è illustrata nella pianta dell'allevamento riportata nell'allegato 1.

2. Modelli Lineari Generalizzati

I Modelli Lineari Generalizzati (GLM) sono modelli multivariati che permettono di valutare l'effetto di tutte le covariate simultaneamente.

Conseguentemente, l'effetto di ogni covariata corrisponde al suo effetto al netto delle altre covariate. I modelli sono stati costruiti utilizzando come variabile dipendente le IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris*, aggiungendo e togliendo le covariate in passi successivi (*stepwise selection*) e utilizzando come criterio di selezione del modello, l'AIC¹² (*Akaike Information Criterion*): il modello migliore è quello con AIC più basso. I risultati sono riassunti nelle tabelle 6 e 7.

Nel primo modello costruito, sia per i piccoli strongili sia per *S. vulgaris*, sono stati inseriti i box di stabulazione come variabile categorica.

Nel caso dei piccoli strongili non sono emerse differenze statisticamente significative e quindi tale variabile è stata eliminata dai modelli successivi. Nel caso del modello includente *S. vulgaris* come variabile dipendente, invece, sono emerse differenze statisticamente significative tra i box 2 e 5 e il box 1 usato come riferimento; nello *step* successivo, quindi, la variabile box è stata inserita insieme alla covariata età in mesi degli animali. Poiché il modello con la sola età come variabile indipendente è risultato migliore (AIC inferiore) rispetto al modello con anche la variabile box come covariata, quest'ultima è stata eliminata dai modelli successivi.

Nel modello finale, infine, è stata inserita la variabile categorie produttive.

Sia nel modello per *S. vulgaris* sia in quello per i piccoli strongili la variabile sesso è stata testata insieme all'età e/o alle categorie produttive, non risultando mai statisticamente significativa.

¹² I criteri che consentono di selezionare modelli alternativi si basano sull'idea che esista un compromesso tra complessità del modello stimato e adattamento ai dati. L'*Akaike Information Criterion* (Akaike, 1973) è definito nel modo seguente:

$$AIC = -2\log L_k + 2k$$

dove L_k è il valore della funzione di verosimiglianza calcolata per il modello a k parametri. La quantità $2k$ nella definizione dell'AIC, agisce da fattore di penalizzazione in termini di numero di variabili esplicative; l'AIC può essere quindi interpretato come una log-verosimiglianza penalizzata. L'AIC aumenta quindi quando diminuisce la bontà del modello e viceversa; la regola è dunque quella di preferire il modello con AIC più basso.

Variabile dipendente	Covariate	Coefficiente	Errore Standard	z	p	95% IC	
IEPG piccoli strongili	box 2	0,2963	0,2813	1,05	0,292	-0,2551	0,8477
	box 3	-0,1910	0,6199	-0,31	0,758	-1,4059	1,0240
	box 4	-0,1716	0,4317	-0,40	0,691	-1,0178	0,6746
	box 5	-0,5428	0,3790	-1,43	0,152	-1,2856	0,1999
	costante	3,4575	0,1955	17,69	0,000	3,0744	3,8406
	AIC: 9,0919						
mesi	cost,	0,0061	0,0022	2,77	0,006	0,0018	0,0105
	cost,	3,0305	0,1961	15,46	0,000	2,6462	3,4147
AIC: 8,9842							
mesi	cat. prod. 2	0,0021	0,0032	0,64	0,520	-0,0042	0,0083
	cat. prod. 3	0,5013	0,4969	1,01	0,313	-0,4727	1,4752
	cat. prod. 4	-3,0051	0,7261	-4,14	0,000	-4,4283	-1,5819
	cat. prod. 5	0,3836	0,4176	0,92	0,358	-0,4348	1,2020
	cat. prod. 5	0,6087	0,4330	1,41	0,160	-0,2400	1,4573
	costante	3,0753	0,2125	14,47	0,000	2,6588	3,4919
AIC: 8,8597							
mesi	cat. prod. 2	0,6950	0,3333	2,08	0,037	0,0417	1,3483
	cat. prod. 3	-3,0911	0,7177	-4,31	0,000	-4,4978	-1,6844
	cat. prod. 4	0,4882	0,3436	1,42	0,155	-0,1852	1,1617
	cat. prod. 5	0,7201	0,3540	2,03	0,042	0,0262	1,4140
	costante	3,1634	0,1805	17,53	0,000	2,8097	3,5171
AIC: 8,8262							

Tabella 6. Risultati dei GLM costruiti utilizzando le IPEG di piccoli strongili come variabile dipendente. La disposizione dei paddock e delle stalle è illustrata nella pianta dell'allevamento riportata nell'allegato 1.

Legenda categorie produttive

1. Altri
2. Femmine in lattazione
3. Puledri sotto madre
4. Femmine con puledro
5. Gestanti

Variabile dipendente	Covariate	Coefficiente	Errore Standard	z	p	95% IC	
IPEG							
<i>S. vulgaris</i>							
	box 2	-1,1423	0,3215	-3,55	0,000	-1,7724	-0,5122
	box 3	-0,0111	0,6565	-0,02	0,987	-1,2978	1,2756
	box 4	-0,9397	0,4951	-1,90	0,058	-1,9101	0,0307
	box 5	-1,2864	0,4491	-2,86	0,004	-2,1666	-0,4062
	costante	1,8199	0,2075	8,77	0,000	1,4133	2,2265
	AIC: 4,7657						
	mesi	0,0135	0,0030	4,48	0,000	0,0076	0,0194
	box 2	-0,5398	0,3537	-1,53	0,127	-1,2331	0,1536
	box 3	0,5198	0,6644	0,78	0,434	-0,7825	1,8221
	box 4	0,9230	1,1737	0,79	0,432	-1,3774	3,2235
	box 5	-0,0301	0,5110	-0,06	0,953	-1,0316	0,9715
	costante	0,2202	0,3784	0,58	0,561	-0,5215	0,9618
	AIC: 4,5237						
	mesi	0,0138	0,0026	5,31	0,000	0,0087	0,0189
	costante	0,0834	0,2484	0,34	0,737	-0,4034	0,5701
	AIC: 4,4801						
	mesi	0,0082	0,0035	2,33	0,020	0,0013	0,0150
	cat. prod. 2	0,9922	0,5143	1,93	0,054	-0,0157	2,0001
	cat. prod. 3	-1,9471	1,3251	-1,47	0,142	-4,5443	0,6501
	cat. prod. 4	0,4034	0,4598	0,88	0,380	-0,4977	1,3046
	cat. prod. 5	0,0203	0,4663	0,04	0,965	-0,8937	0,9343
	costante	0,1960	0,2797	0,70	0,484	-0,3522	0,7441
	AIC: 4,4802						

Tabella 7. Risultati dei GLM costruiti utilizzando le IPEG di *S. vulgaris* come variabile dipendente. La disposizione dei paddock e delle stalle è illustrata nella pianta dell'allevamento riportata nell'allegato 1.

Legenda categorie produttive

1. Altri
2. Femmine in lattazione
3. Puledri sotto madre
4. Femmine con puledro
5. Gestanti

3. Calcolo degli indici di aggregazione

Nella tabella 8 sono riportati diversi indici di aggregazione calcolati per le UPG di strongili, per le IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris* e per gli adulti di piccoli strongili e *S. vulgaris* isolati dall'intestino dei 10 asini macellati.

Come spiegato nel capitolo 1, il rapporto varianza/media è maggiore di uno nel caso di una distribuzione aggregata, mentre è uguale a uno nel caso di una distribuzione *random*. Il valore $\frac{s^2}{m}(n-1)$ si distribuisce secondo una variabile aleatoria χ^2 con $n-1$ gradi di libertà nel caso di una popolazione di Poisson e come tale può essere statisticamente testata. Sulla base di ciò, la distribuzione di ciascuna variabile relativa agli strongili si discosta da una distribuzione *random* (di Poisson) con un $p = 0,000$. Analogamente, anche il *Mean Crowding Index*, l'*Indice di Discrepanza* e il *Taylor's Power Law Index (b)* sono coerenti con una distribuzione binomiale negativa.

Da ultimo, lo stesso parametro k della distribuzione binomiale negativa è risultato sempre inferiore a uno indicando una distribuzione aggregata. La stima del parametro k è stata fatta adattando una distribuzione binomiale negativa col metodo della massima verosimiglianza e in tutti i casi le frequenze osservate non differivano significativamente da quelle attese per la stessa distribuzione binomiale negativa ($p > 0,05$).

	UPG SGI	IEPG SS	IEPG SV	ADULTI SS	ADULTI SV
Varianza/Media	629,23	575,46	208,04	1078,76	8,99
Mean Crowding Index (95% IC)	1358,27 (1087,04- 1855,40)	1226,54 (1005,86- 1684,04)	281,24 (155,42 - 526,05)	1329,99 (360,82- 1836,24)	15,90 (8,21- 22,39)
Indice di Discrepanza (D)	0,47	0,48	0,64	0,37	0,49
k	0,65	0,60	0,34	0,37	0,45
Taylor's Power Law Index (b)	1,89	1,23	2,47	2,68	1,43

Tabella 8. Indici di aggregazione calcolati per le UPG di strongili, per le IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris* e per gli adulti di piccoli strongili e *S. vulgaris* isolati dall'intestino dei 10 animali macellati. SGI: strongili; SS: piccoli strongili; SV: *S. vulgaris*.

4. Studio della dinamica di infezione

4.1 Piccoli strongili

Come evidenziato dai GLM, esiste una relazione tra le abbondanze degli strongili e l'età degli ospiti. Per approfondire la natura di questa relazione è stato condotto uno studio della dinamica di infezione, ossia di come la carica parassitaria varia nel tempo, utilizzando l'età come misura indiretta del tempo.

Il grafico 4 è un grafico a dispersione che rappresenta la relazione tra l'età in giorni e le IEPG di piccoli strongili, su cui è stata preventivamente operata una trasformazione logaritmica per ridurre l'asimmetria della distribuzione.

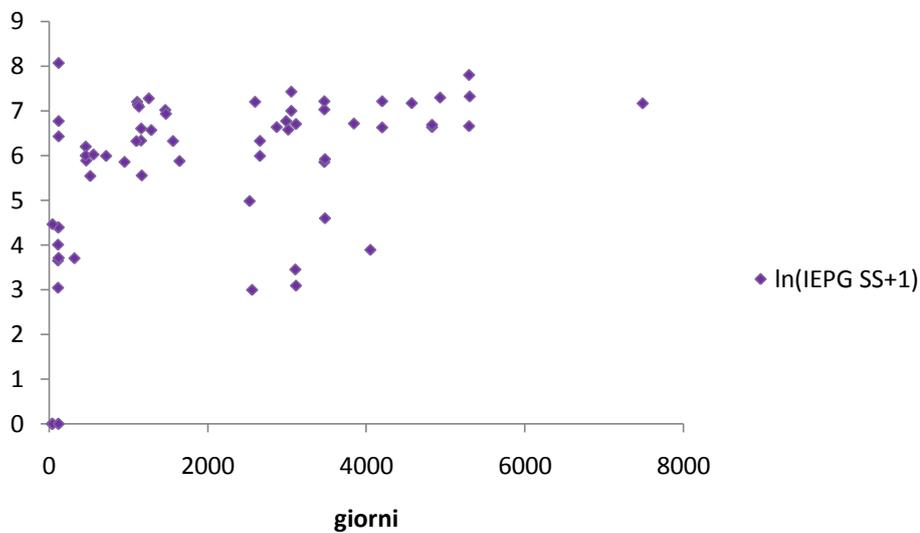


Grafico 4. Scatter-plot del ln delle IEPG di piccoli strongili (SS) in funzione dell'età in giorni.

Tramite un'analisi di regressione non lineare col metodo dei minimi quadrati si è cercata la funzione che meglio si adattasse ai dati e ne sono stati stimati i parametri.

La funzione che ha soddisfatto le aspettative fittando bene i dati è stata quella logistica riportata di seguito:

$$n(t) = \frac{b_1}{1 + e^{-b_2(t-b_3)}} \quad [54]$$

dove t è l'età degli animali in mesi e $n(t)$ è il numero di UPG di strongili espresso in unità logaritmiche in funzione del tempo.

La funzione logistica viene solitamente espressa dalla seguente equazione:

$$n(t) = \frac{e^{rt} n_0}{1 - \frac{n_0}{K} + \frac{e^{rt} n_0}{K}} \quad [55]$$

in cui n_0 è la popolazione al tempo 0, t è il tempo, r è il tasso di accrescimento e K è la capacità portante (Otto e Day, 2007). L'equazione [55] è la soluzione dell'equazione differenziale $\frac{dN}{dt} = r_{max} N \frac{(K-N)}{K}$ dove il termine a destra è il tasso effettivo di crescita e $r_{max} N$ è il tasso di accrescimento esponenziale.

Tale funzione è solo apparentemente diversa da quella calcolata mediante il modello statistico. Il passo successivo è stato, infatti, quello di ricondurre il modello all'equazione logistica in modo da poter attribuire un significato biologico ai diversi coefficienti b_1 , b_2 e b_3 stimati. Con pochi passaggi matematici (riportati nell'Appendice 2) eguagliando le due equazioni, si è ottenuto:

$$b_1 = K$$

$$b_2 = r$$

Il coefficiente b_3 è stato posto uguale a 0 per praticità di calcolo, perché quando $b_3 = 0$ la curva trasla a sinistra sull'asse orizzontale di una quantità pari a b_3 incontrando l'asse delle y in $b_1/2 = n_0$ (grafico 5).

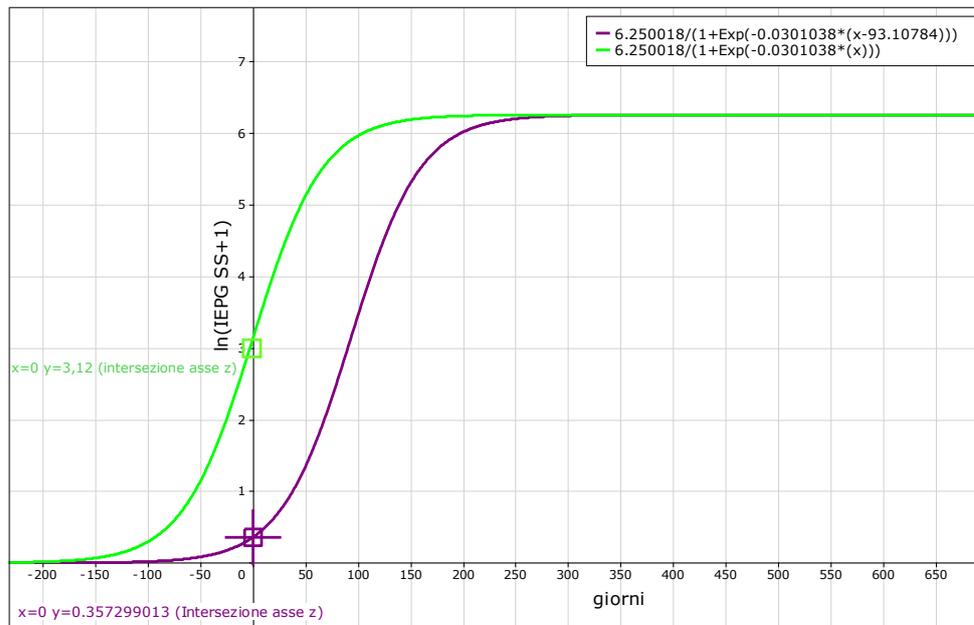


Grafico 5. Traslazione della curva di regressione per le IEPG di piccoli strongili (SS) ottenuta ponendo $b_3 = 0$.

Nella curva traslata, quando $t = 0$ si ottiene $n_0 = b_1/2 = K/2$.

Nella tabella 9 è riportato l'*output* dell'analisi di regressione con i valori dei coefficienti e le loro significatività. Come si può vedere sono tutti statisticamente significativi (b_1 e b_3 , $p < 0,01$; b_2 , $p < 0,05$).

lnIEPG SS	Coefficiente	Errore Standard	t	$p > t $	95% IC	
b_1 (K)	6,250018	0,2091	29,89	0,000	5,8321	6,6679
b_2 (r)	0,0301038	0,0124	2,42	0,018	0,0052	0,0550
b_3	93,10784	11,3385	8,21	0,000	70,4497	115,7660

Tabella 9. Analisi di regressione sulle IEPG di piccoli strongili.

Nel grafico 6 sono riportati, assieme ai dati osservati, i valori del lnUPG calcolati (*fitted*) grazie al modello. L' R^2 , o coefficiente di determinazione, è una misura della bontà del modello ed esprime in che misura la variabilità della variabile dipendente (ln delle IEPG di piccoli strongili) sia spiegata dalla variabilità di quella indipendente (giorni).

In questo caso, un R^2 pari a 0,94 significa che il 94% della variabilità della y è spiegata dalla sua dipendenza dalla x secondo una funzione logistica.

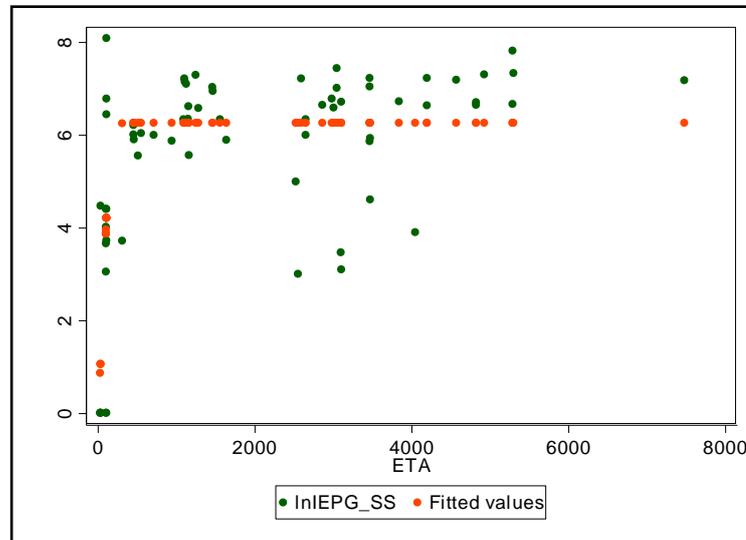


Grafico 6. Analisi di regressione per le IEPG di piccoli strongili.

Anche l'analisi dei residui, cioè delle differenze fra i valori osservati e i valori stimati dalla funzione (grafico 7), ha confermato l'adeguatezza del modello di regressione individuato.

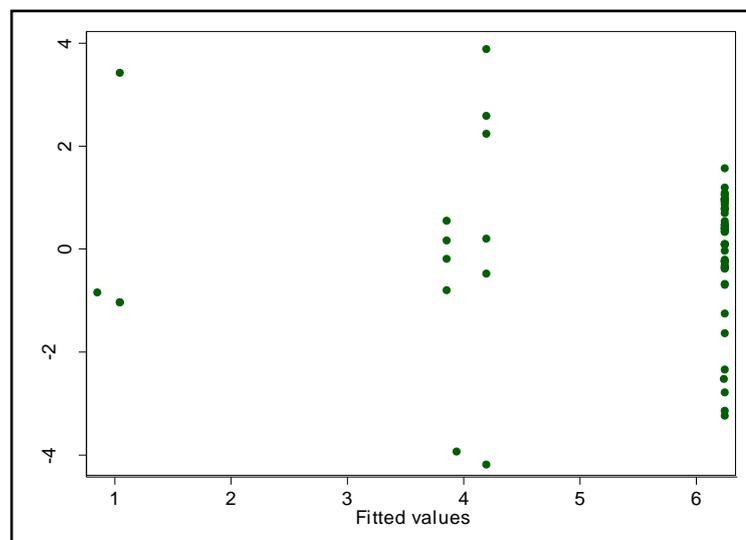


Grafico 7. Analisi dei residui per le IEPG di piccoli strongili.

L'analisi grafica dei residui consente di valutare, a posteriori, se il modello ipotizzato è affidabile; se la funzione interpolante approssima bene i dati, gli scarti residui sono dispersi in modo casuale intorno allo zero indicando che il modello non tende né a sovrastimare né a sottostimare i dati in relazione a particolari valori della variabile indipendente (età in giorni), cioè che l'errore di stima è indipendente dal valore assunto dalla x , come si conviene ad un modello ben specificato.

La forza d'infezione, definita come la velocità con la quale gli ospiti suscettibili acquisiscono l'infezione, è data dal coefficiente angolare della retta tangente alla curva in ogni suo punto, ovvero dalla derivata prima della funzione in esame. Tale derivata è ovviamente una funzione ed è rappresentata nel grafico 8, dove si osserva come la forza di infezione sia massima a $t = 93$ giorni quando la funzione assume il valore di 0,047. Considerato che in ordinata abbiamo il logaritmo naturale del numero di IEPG + 1, in corrispondenza di questo massimo la forza di infezione dei piccoli strongili sarà pari all'antilogaritmo di $0,047-1$, ovvero 0,386 IEPG/giorno.

Questo numero rappresenta la massima velocità di incremento delle IEPG nel tempo. L'andamento della funzione mostra come al passare dei giorni, la forza di infezione diminuisca diventando nulla per $t = 320$ giorni in corrispondenza della capacità portante K della popolazione (di IEPG) di piccoli strongili.

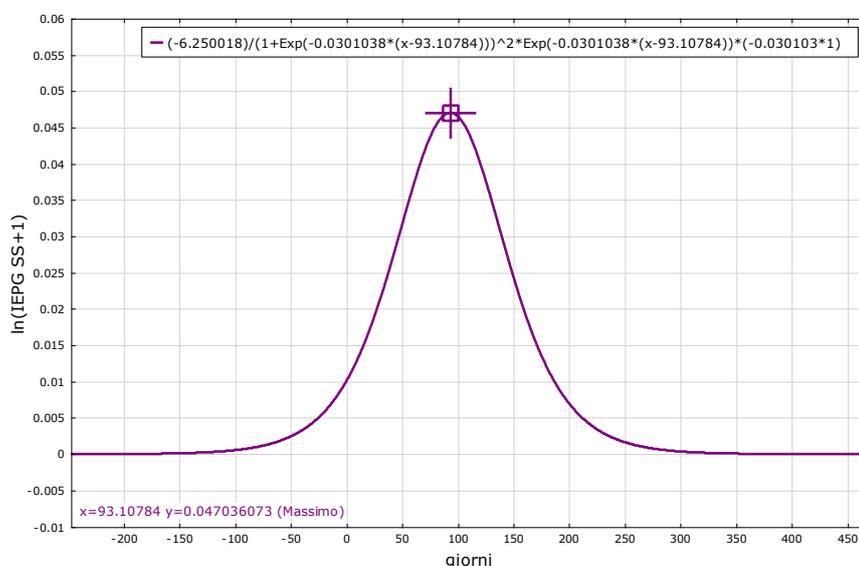


Grafico 8. Funzione che descrive l'andamento della forza di infezione per le IEPG di piccoli strongili.

4.2 *Strongylus vulgaris*

Lo stesso approccio è stato utilizzato per modellizzare il logaritmo delle IEPG di *S. vulgaris* in funzione dell'età in giorni (grafico 9).

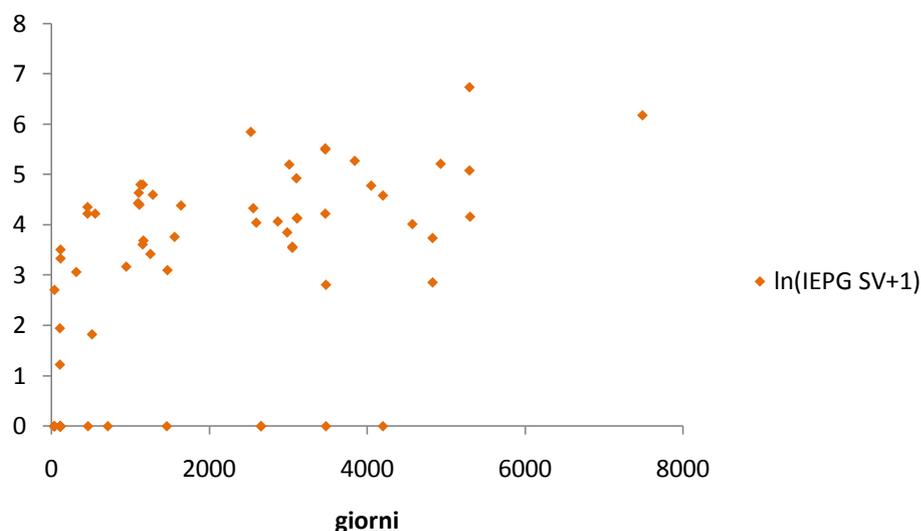


Grafico 9. Scatter-plot del ln delle IEPG di *S. vulgaris* in funzione dell'età in giorni.

I risultati relativamente alle IPEG di *S. vulgaris* sono elencati nella tabella 10 e nei grafici 10 e 11. Per fittare i dati è stata usata sempre una funzione logistica come per le IEPG di piccoli strongili.

lnIEPG SV	Coefficiente	Errore Standard	t	p> t	95% IC	
b_1	3.876562	0.2603	14.89	0.000	3.3564	4.3967
b_2	0.0046341	0.0024	1.95	0.055	-0.0001	0.0094
b_3	336.3885	118.2456	2.84	0.006	100.0935	572.6834

Tabella 10. Analisi di regressione sulle IEPG di *S. vulgaris*.

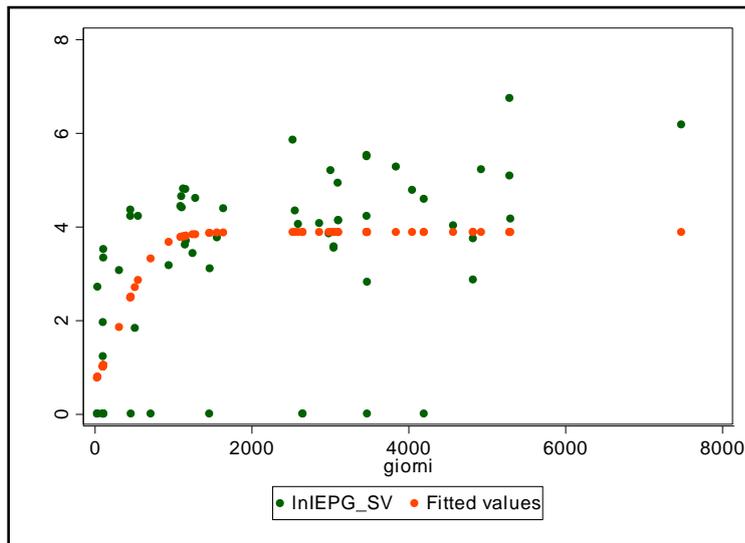


Grafico 10. Analisi di regressione per le IEPG di *S. vulgaris*.

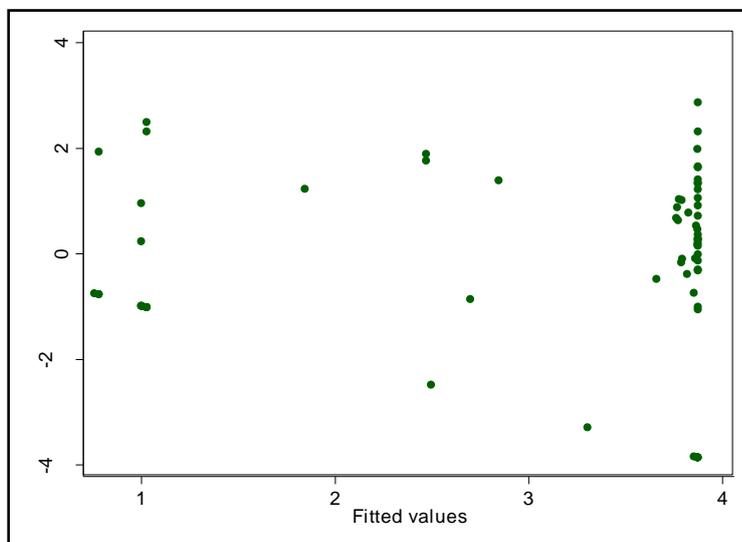


Grafico 11. Analisi dei residui per le IEPG di *S. vulgaris*.

L' R^2 in questo caso è uguale a 0,81 indicando la bontà di adattamento del modello di regressione. Tuttavia, il coefficiente b_2 , corrispondente al tasso di accrescimento r , è al limite della significatività statistica, suggerendo un certa cautela nell'interpretazione di questo risultato.

Il grafico 12 rappresenta la forza di infezione per le IEPG di *S. vulgaris*. Si può osservare come la funzione raggiunga il suo massimo a $t = 336$ giorni; in corrispondenza di questo valore, la forza di infezione è pari a all'antilogaritmo di

0,0045-1, ossia uguale a 0,369 IEPG/giorno. La forza di infezione diventa nulla quando $t = 1600$ giorni.

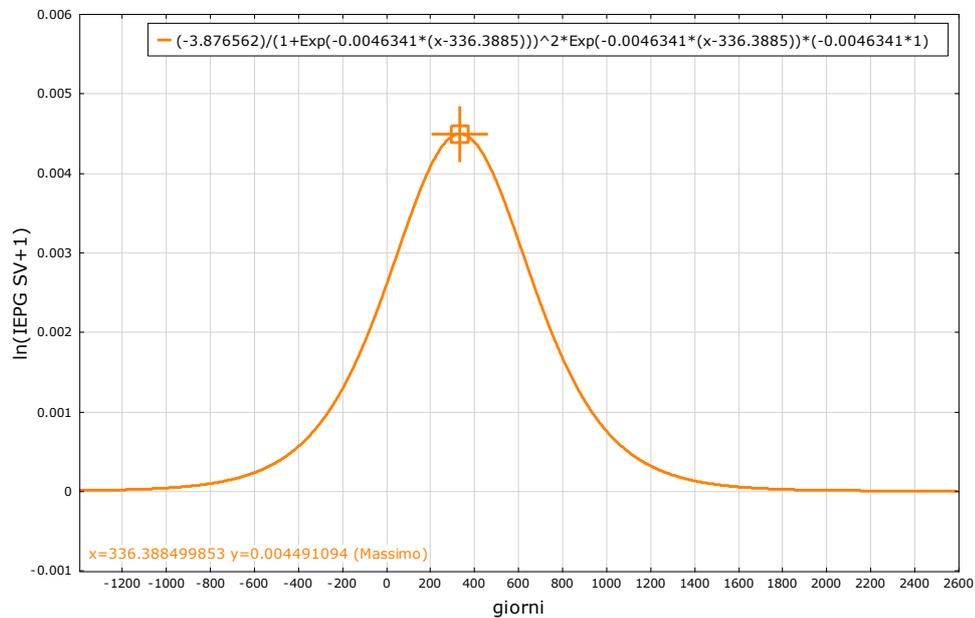


Grafico 12. Funzione che descrive l'andamento della forza di infezione per le IEPG di *S. vulgaris*.

I grafici 13 e 14 rappresentano, infine, le dinamiche di popolazione e di infezione dei piccoli strongili e di *S. vulgaris* messe a confronto. Come si vede, gli andamenti sono diversi. La diversa stima dei parametri b_1 , b_2 e b_3 fa assumere alle due funzioni una forma diversa, con quella di *S. vulgaris* più dispersa lungo l'asse delle x (pur essendo entrambe funzioni logistiche).

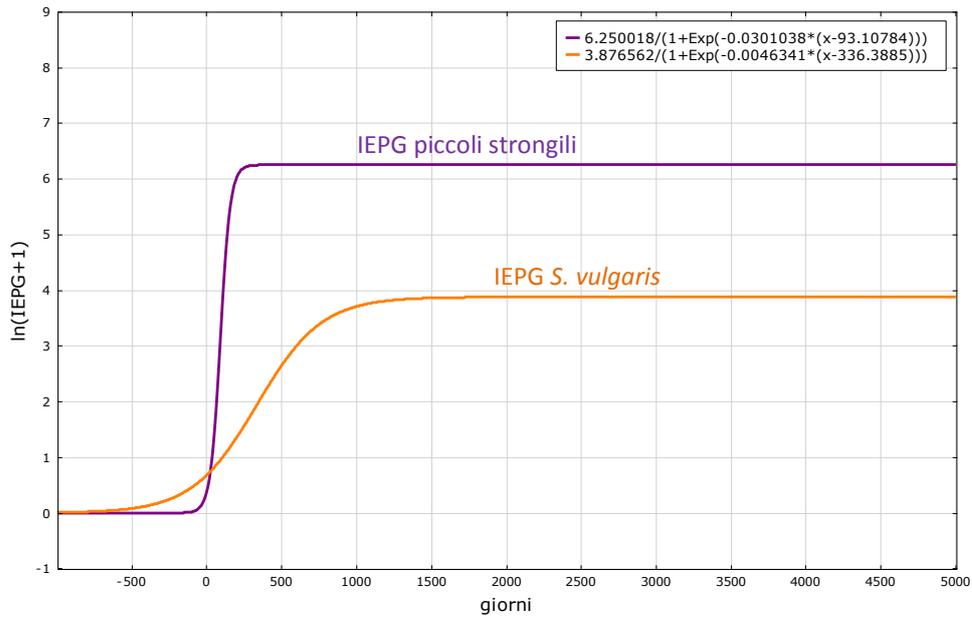


Grafico 13. Andamento nel tempo delle IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris*.

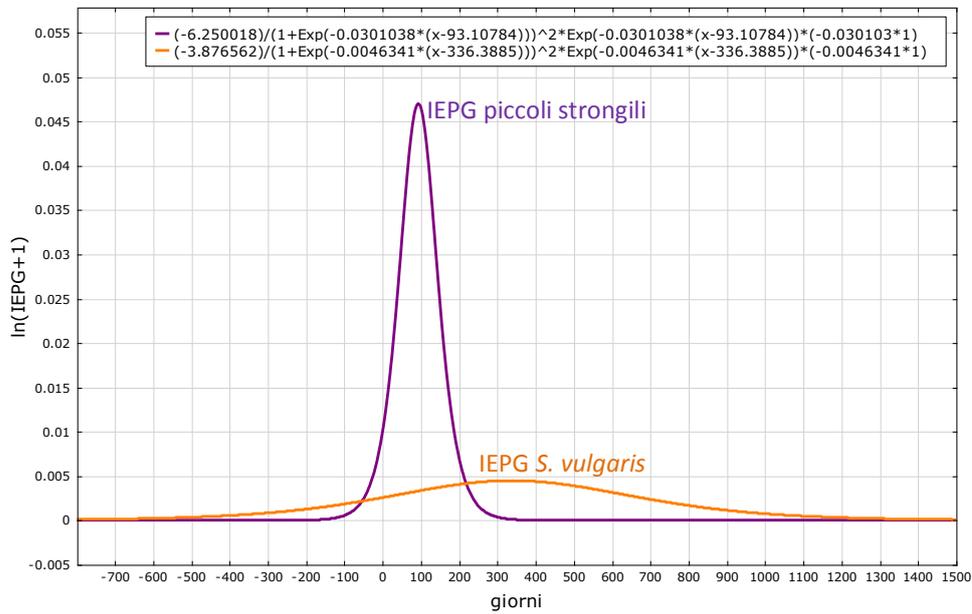


Grafico 14. Andamento della forza di infezione per le IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris*.

5. Modelli matematici

5.1 Modello base

Un modello molto semplice che descrive le dinamica di un nematode a ciclo diretto in un solo individuo ospite è descritto dal diagramma di flusso in figura 6 e dalle equazioni [56] e [57] (Smith, 1994).

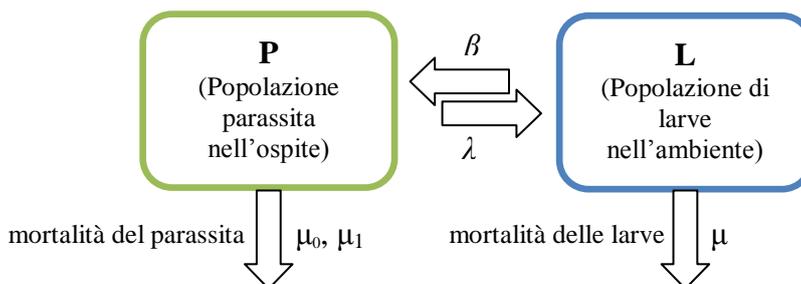


Figura 6. Diagramma di flusso del modello che descrive la dinamica di un nematode a ciclo diretto.

$$\frac{dP}{dt} = \beta L - (\mu_0 + \mu_1 P)P \quad [56]$$

$$\frac{dL}{dt} = \lambda P - \mu L - \beta L \quad [57]$$

La prima equazione descrive come varia il numero di parassiti adulti P nell'ospite ed equivale all'acquisizione delle larve infettanti (βL) meno la mortalità, densità-dipendente, dei parassiti adulti ($\mu_0 + \mu_1 P$). La seconda equazione descrive la variazione del numero di larve infettanti L nell'ambiente ed equivale alla fertilità dei parassiti adulti (λP) da cui vanno sottratte le larve che muoiono (μL) e quelle che vengono ingerite dall'ospite (βL). il parametro β indica quindi la frazione di larve infettanti che vengono ingerite dall'ospite nell'unità di tempo.

Il parametro λ può essere settato, ad esempio, uguale a uno intendendo che ogni parassita produce in media una forma larvale al giorno, oppure può essere

equivalentemente posto uguale a due nel caso di parassiti a sessi separati con *sex ratio* 1:1, intendendo che ogni femmina produce in media due larve al giorno. In questo caso, però, l'equazione che descrive la dinamica delle larve dovrà essere riscritta nel seguente modo:

$$\frac{dL}{dt} = \lambda \frac{P}{2} - \mu L - \beta L \quad [58]$$

Il termine $\mu_0 + \mu_1 P$ è il tasso di mortalità *pro capite* dei parassiti adulti e viene utilizzato per creare una dipendenza lineare della mortalità dalla densità dei parassiti presenti: μ_0 è quindi la mortalità dei parassiti quando ne è presente uno solo e μ_1 è l'incremento di mortalità causato dalla presenza aggiuntiva di ogni parassita.

È possibile simulare la variazione giornaliera di parassiti nell'ospite e di larve nell'ambiente settando i parametri come in tabella 11:

Parametri	Simbolo	Valore stimato	
Mortalità del parassita adulto	μ_0	0,005	equivalente a un'attesa di vita di 6 mesi (1/180)
Mortalità densità-dipendente	μ_1	0,001	incremento di mortalità causato dalla presenza aggiuntiva di ogni parassita
Tasso di mortalità delle larve a vita libera	μ	0,142	equivalente a un'attesa di vita media di una settimana (1/7)
Coefficiente di trasmissione	β	0,1	si assume che l'ospite acquisisca 1/10 delle larve presenti nell'ambiente e che tutte le larve acquisite diventino adulte
Tasso di fecondità	λ	1	ogni parassita produce in media una forma larvale al giorno; per un parassita a sessi separati con <i>sex ratio</i> 1:1, ogni femmina produce in media 2 larve al giorno

Tabella 11. Parametri di un modello che descrive la dinamica di un nematode a ciclo diretto in un unico ospite.

Assumiamo che il numero iniziale di adulti nell'ospite sia 2 e che non ci siano ritardi temporali né nello sviluppo delle larve fino allo stadio infettante, né nella trasmissione. Nel grafico 15 è riportato l'*output* della simulazione.

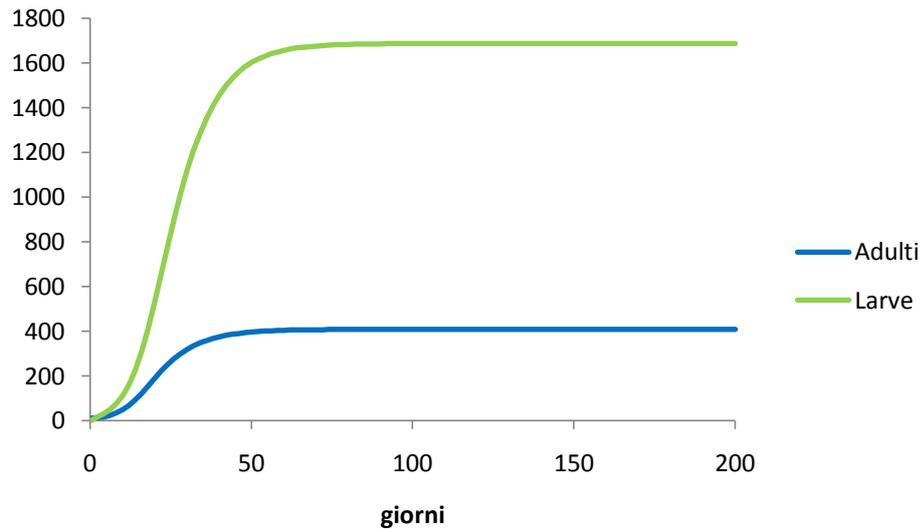


Grafico 15. Modello base: dinamica di un nematode a ciclo di retto in un singolo ospite.

Come si vede, pur nella sua semplicità, un modello di questo tipo mostra come l'introduzione di una mortalità densità-dipendente dia luogo a una curva sigmoide che raggiunge il *plateau* dopo circa 90 giorni; in questo periodo di tempo quindi i parassiti adulti e le larve nell'ambiente raggiungono l'equilibrio.

Un modello di questo tipo è naturalmente fin troppo elementare non tenendo conto, tra le altre cose, della popolazione ospite e della distribuzione aggregata dei parassiti.

Il passo successivo è stato quindi quello di implementare il modello base in modo che rappresentasse al meglio la dinamica di popolazione dei piccoli strongili e di *S. vulgaris* descritta nel paragrafo 4 dei Risultati.

5.2 Modello per *Strongylus vulgaris*

Il modello base è stato implementato riconsiderando il modello di Anderson e May per macroparassiti a trasmissione diretta in cui è presente una mortalità densità-dipendente che tiene conto della distribuzione aggregata dei parassiti (Anderson e May, 1978). Inoltre, è stata introdotta la popolazione ospite H , considerata costante come in tutti i modelli per animali domestici (Roberts e Grenfell, 1991; Roberts, 1995; Robert, 1999), in cui il tasso di mortalità degli asini b eguaglia quello di

natalità e non è presente una mortalità degli ospiti dovuta ai parassiti ($\alpha = 0$). Oltre alla mortalità densità-dipendente, la cui forza dipende dal parametro μ_1 , è stata inserita anche la mortalità naturale μ_0 del parassita, non densità-dipendente. Ancora, è stato introdotto un parametro q che esprime la probabilità che un uovo si sviluppi e diventi larva infettante.

Di seguito sono riportate le equazioni che descrivono il modello:

$$\frac{dP}{dt} = \beta HL - bP - \mu_0 P - (\mu_1 + \alpha)H \left(\frac{P^2}{H^2} \frac{k+1}{k} + \frac{P}{H} \right) \quad [59]$$

$$\frac{dL}{dt} = q\lambda \frac{P}{2} - \mu L - \beta HL \quad [60]$$

In tabella 12 sono riportati i parametri inseriti nel modello.

Parametri	Simbolo	Valore stimato	
Mortalità del parassita adulto	μ_0	0,005	equivalente a un'attesa di vita di 6 mesi (1/180)
Mortalità densità-dipendente dei parassiti adulti	μ_1	0,02	parametro che tiene conto della distribuzione aggregata dei parassiti
Mortalità delle larve a vita libera	μ	0,125	equivalente a un'attesa di vita di otto giorni (1/8)
Mortalità dell'ospite	b	0,0008	ogni anno vengono macellati e venduti 180 asini; il tasso di mortalità giornaliero <i>pro capite</i> è quindi $180/(600 \times 365)$
Coefficiente di trasmissione	β	3,2e-08	tasso <i>pro capite</i> di ingestione delle larve infettanti
Tasso di fecondità	λ	4000	ogni femmina di <i>S. vulgaris</i> produce in media 4000 larve al giorno
Probabilità che un uovo si sviluppi fino a L3	q	0,1	il 10% di uova si sviluppa fino a raggiungere lo stadio infettante
Mortalità dell'ospite dovuta al parassita	α	0	considerata trascurabile
Aggregazione dei parassiti negli ospiti	k	0,34	parametro calcolato sulle IEPG di <i>S. vulgaris</i>
Popolazione ospite	H	600	la popolazione ospite è considerata costante

Tabella 12. Parametri del modello elaborato per *S. vulgaris*.

La fecondità λ è stata posta uguale a 4000 uova al giorno per parassita femmina, dato plausibile con quanto riportato da Cordero del Campillo *et al.* (1999) secondo cui una femmina adulta appartenente al gruppo dei grandi strongili depone circa 5000 uova al giorno. Il tasso di mortalità dell'ospite è stato calcolato considerando che ogni anno vengono macellati e venduti 180 asini. Il valore utilizzato per il parametro k è quello calcolato per le IEPG di *S. vulgaris* (paragrafo 3 dei Risultati). Tramite un'analisi di sensibilità, inoltre, è stato possibile far variare i parametri in un certo *range* ottimizzandone i valori sulla base dei dati sperimentali e stimando β in modo che la dinamica temporale fosse vicina a quella osservata nello studio della dinamica di infezione. Tutti i parametri sono riferiti a una scala temporale giornaliera.

Il diagramma di flusso del modello è riportato in figura 7 e i risultati della simulazione nei grafici 16 e 17.

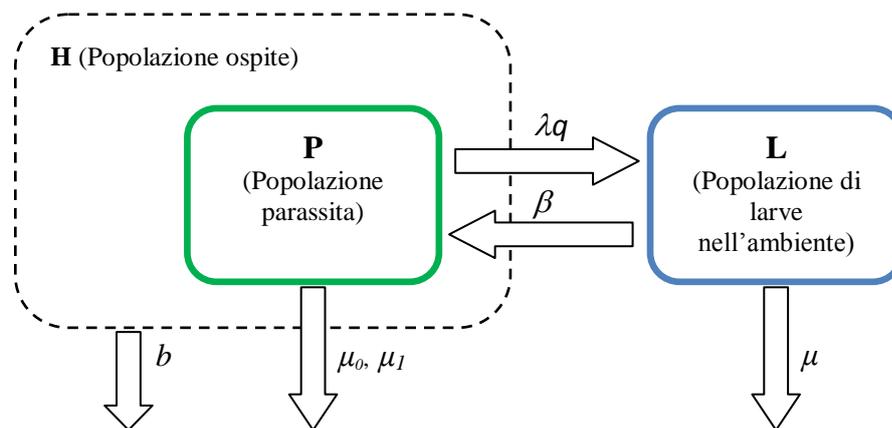


Figura 7. Diagramma di flusso del modello per *S. vulgaris*.

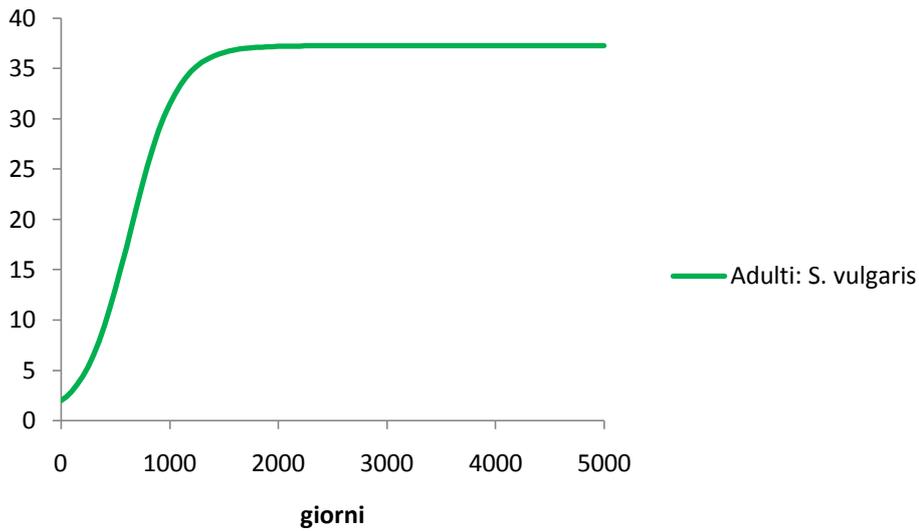


Grafico 16. Modello per la dinamica di popolazione di *S. vulgaris*: andamento degli adulti.

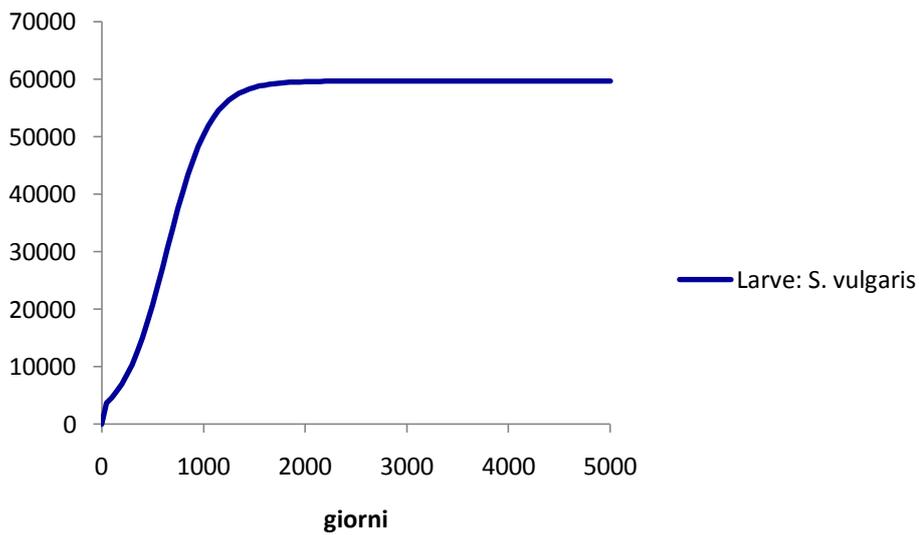


Grafico 17. Modello per la dinamica di popolazione di *S. vulgaris*: andamento della larve nell'ambiente.

L'analisi di sensibilità è estremamente interessante perché permette di vedere come varia la dinamica di popolazione al variare di parametri come k (grafico 18), β (grafico 19), λ (grafico 20) e μ_I (grafico 21).

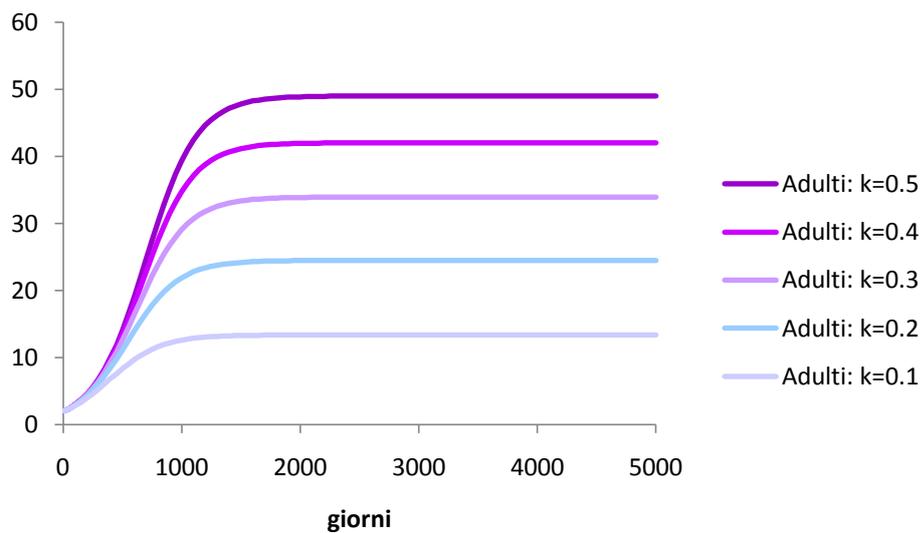


Grafico 18. Dinamica degli adulti di *S. vulgaris*: analisi di sensibilità sul parametro k .

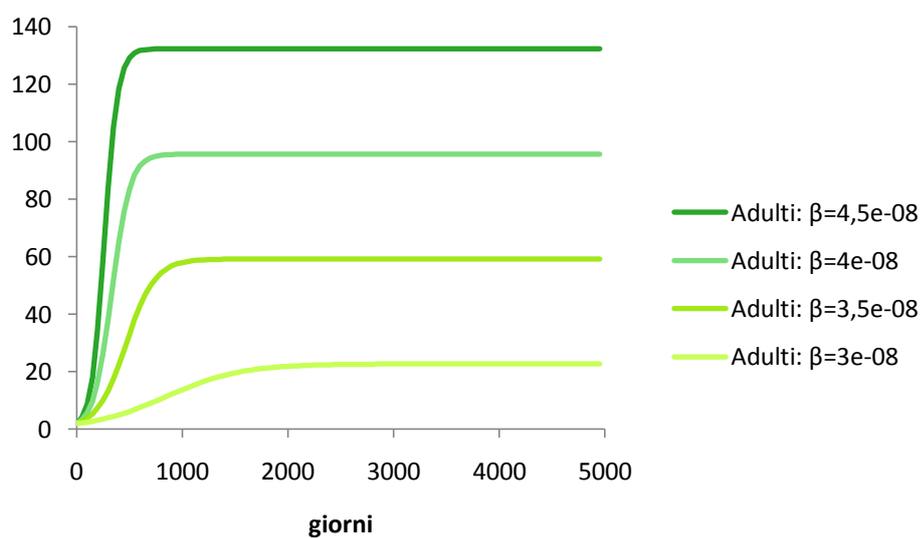


Grafico 19. Dinamica degli adulti di *S. vulgaris*: analisi di sensibilità sul parametro β .

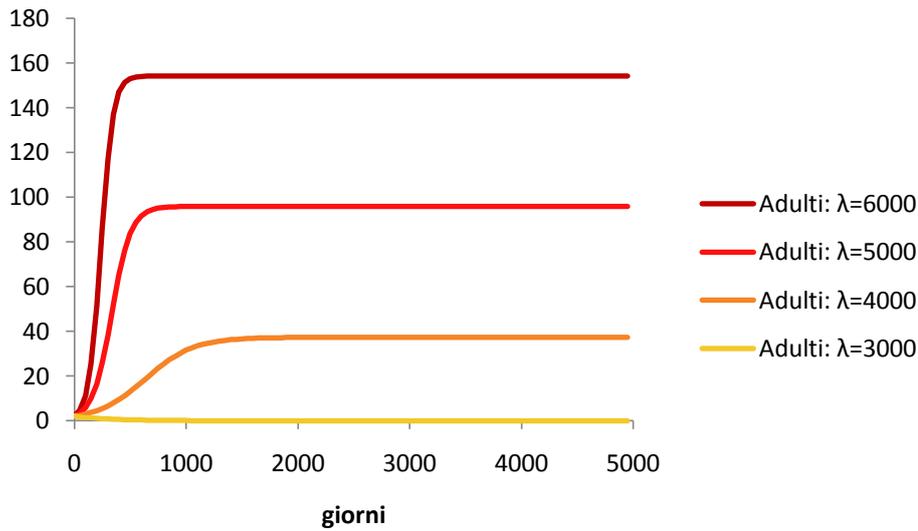


Grafico 20. Dinamica degli adulti di *S. vulgaris*: analisi di sensibilità sul parametro λ .

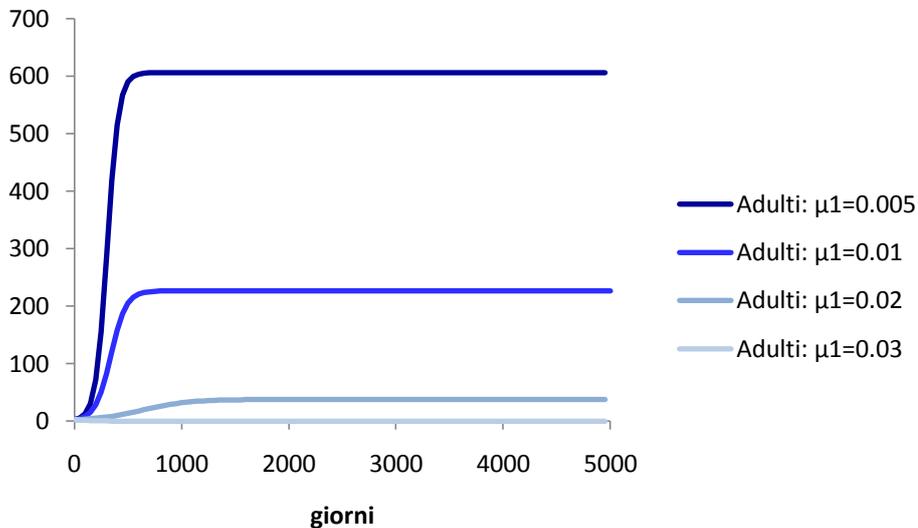


Grafico 21. Dinamica degli adulti di *S. vulgaris*: analisi di sensibilità sul parametro μ_1 .

5.2.1 Validazione del modello

La validazione consiste nel confrontare l'*output* del modello con i dati sperimentali verificando quanto buono sia l'adattamento. Per fare ciò è stato necessario introdurre una trasformazione nel modello matematico giacché esso descrive la dinamica di popolazione dei parassiti adulti negli ospiti e delle larve nell'ambiente; i nostri dati descrivono invece la dinamica delle IEPG nel tempo. Per

trasformare quindi la dinamica delle larve nell'ambiente in una dinamica di larve per grammo confrontabile con i dati sperimentali, sono stati usati i dati relativi ai dieci asini macellati. Nel grafico 22 sono riportate le IEPG di *S. vulgaris* in funzione degli adulti di *S. vulgaris* isolati dai dieci asini macellati. Una regressione lineare ha permesso di ottenere il valore del coefficiente angolare della retta che è stato usato come coefficiente di correzione nel modello.

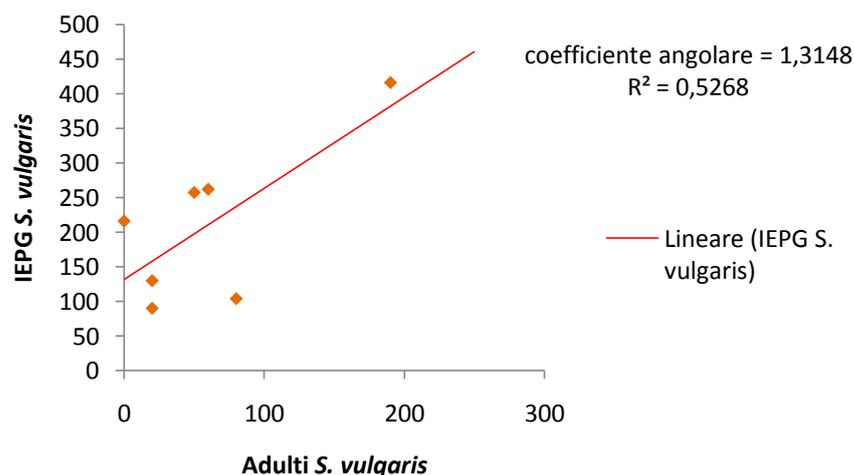


Grafico 22. IEPG di *S. vulgaris* in funzione degli adulti e retta di regressione.

Il risultato è mostrato nel grafico 23 insieme ai nostri dati.

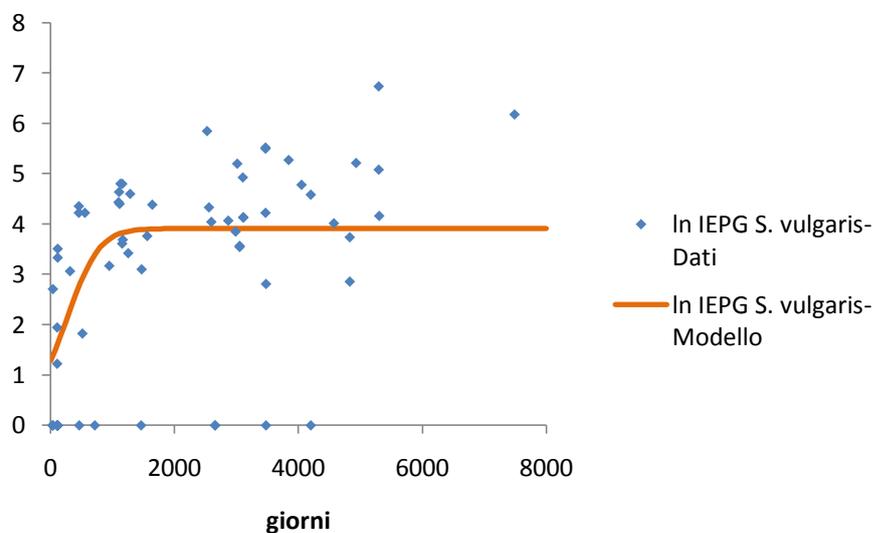


Grafico 23. Output del modello elaborato per *S. vulgaris* rappresentato insieme ai dati sperimentali relativi al lnIEPG di *S. vulgaris*.

Inoltre, nel grafico 24 è rappresentato il risultato dell'analisi di regressione sul lnIEPG di *S. vulgaris*, già visto nello studio sulla dinamica di infezione, insieme ai dati calcolati dal modello.

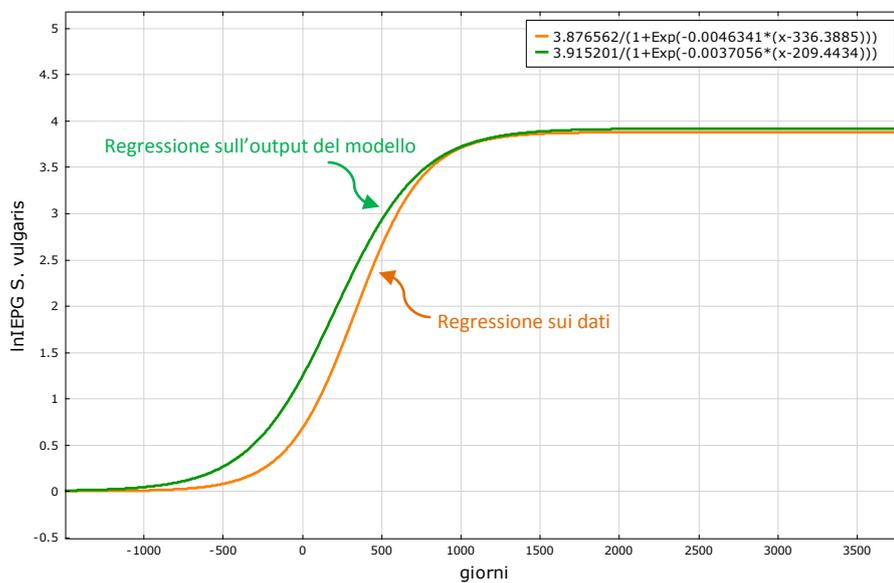


Grafico 24. Regressione sui dati sperimentali relativi al lnIEPG di *S. vulgaris* e sui dati calcolati dal modello elaborato per *S. vulgaris*.

5.2.2 Simulazione dell'effetto dei trattamenti

Nei grafici 25 e 26 vengono simulati gli effetti sugli adulti e sulle larve di *S. vulgaris* della somministrazione di un trattamento antielmintico adalticida all'anno con un'efficacia pari al 70, 80 e 90%. Nei grafici 28 e 29 vengono simulati gli effetti di due trattamenti all'anno. Come si vede, le popolazioni di parassiti adulti e larve giungono all'estinzione nella simulazione in cui vengono praticati due trattamenti all'anno, con una velocità tanto maggiore quanto maggiore è l'efficacia del trattamento.

Ricordando che i modelli sviluppati sono deterministici con variabili a valori continui, possiamo considerare la popolazione di *S. vulgaris* estinta quando nell'ambiente è presente meno di una larva. Nella nostra simulazione occorrono rispettivamente 5900, 2600 e 1350 giorni dal primo trattamento nel caso ne vengano praticati due all'anno con efficacia pari al 70, 80 e 90%. Naturalmente questi tempi,

così come il numero di trattamenti necessari, variano in funzione del momento in cui viene praticato il primo trattamento e del numero di parassiti presenti in quel momento nel sistema. In ogni caso, per *S. vulgaris* l'eradicazione è possibile.

Nella simulazione, invece, in cui viene praticato un solo trattamento all'anno, le due popolazioni, pur con forti oscillazioni, tendono a stabilizzarsi.

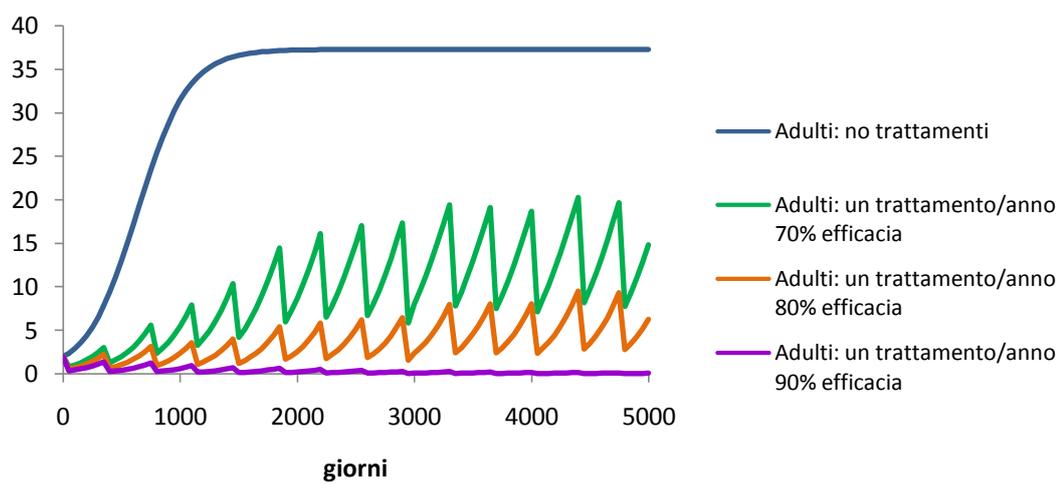


Grafico 25. Simulazione dell'effetto di un trattamento antielmintico adulticida all'anno, con efficacia pari al 70, 80 e 90%, sulla dinamica di popolazione degli adulti di *S. vulgaris*.

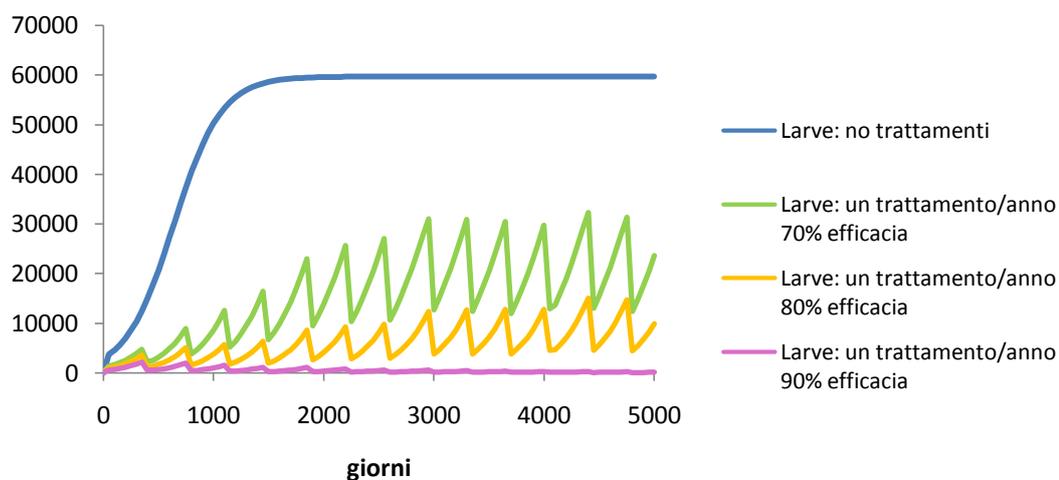


Grafico 26. Simulazione dell'effetto di un trattamento antielmintico adulticida all'anno, con efficacia pari al 70, 80 e 90%, sulla dinamica di popolazione delle larve di *S. vulgaris*.

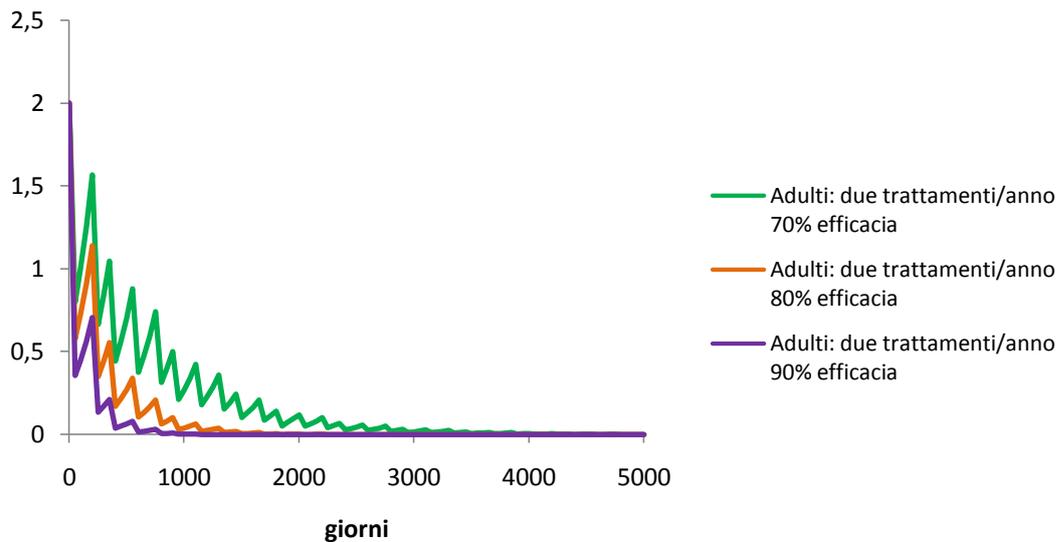


Grafico 27. Simulazione dell'effetto di due trattamenti antielmintici adulticidi all'anno, con efficacia pari al 70, 80 e 90%, sulla dinamica di popolazione degli adulti di *S. vulgaris*.

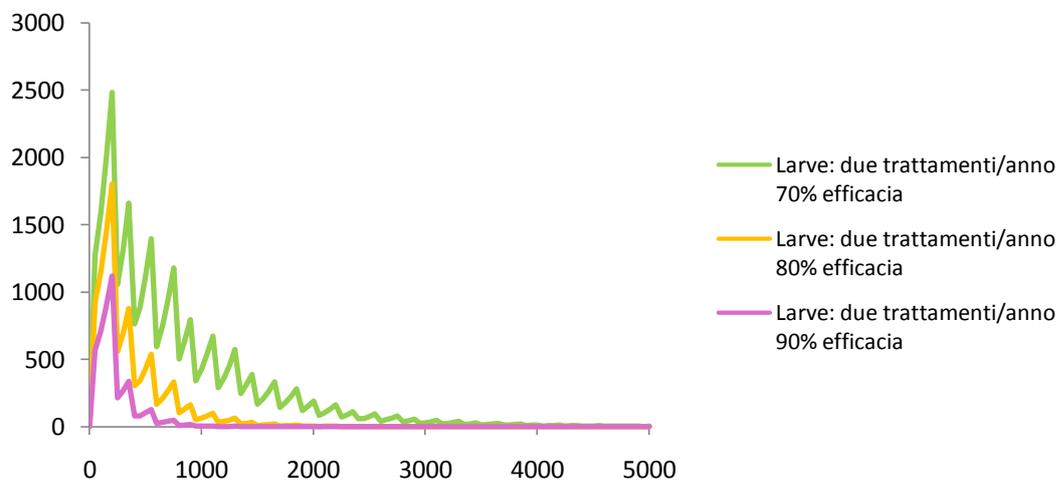


Grafico 28. Simulazione dell'effetto di due trattamenti antielmintici adulticidi all'anno, con efficacia pari al 70, 80 e 90%, sulla dinamica di popolazione delle larve di *S. vulgaris*.

Nei grafici 29 e 30 viene simulato, invece, l'effetto di interventi di pulizia ambientale settimanali, quindicinali e mensili, la cui efficacia sulla riduzione del numero di larve ambientali sia assume sia pari al 50%. Si osserva una diminuzione nel numero di adulti e larve con forti oscillazioni nella dinamica di queste ultime, senza però che si arrivi all'estinzione.

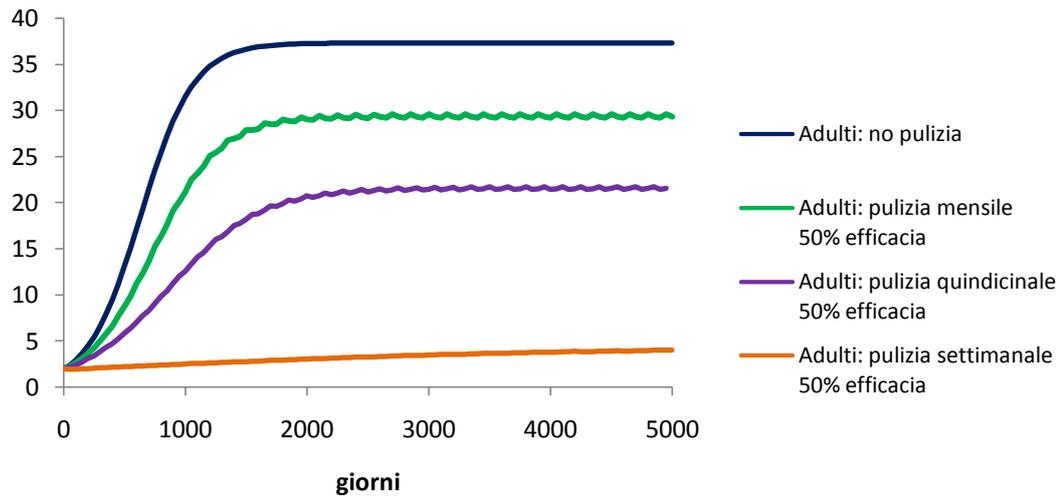


Grafico 29. Simulazione dell'effetto di interventi di pulizia ambientale settimanali, quindicinali e mensili, con efficacia pari al 50%, sulla dinamica di popolazione degli adulti di *S. vulgaris*.

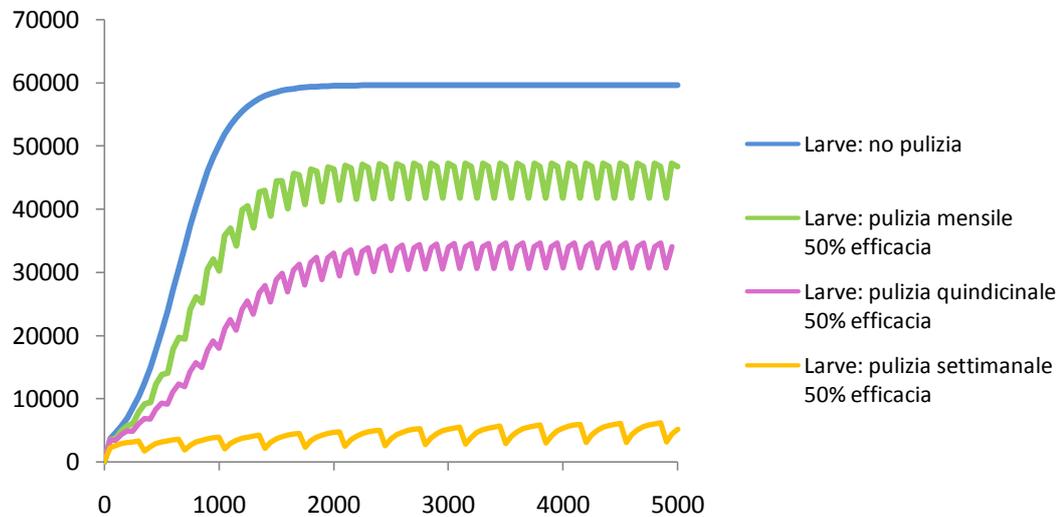


Grafico 30. Simulazione dell'effetto di interventi di pulizia ambientale settimanali, quindicinali e mensili, con efficacia pari al 50%, sulla dinamica di popolazione delle larve di *S. vulgaris*.

Infine, i grafici 31 e 32 mostrano gli effetti, sulla dinamica dei parassiti adulti e delle larve, dell'associazione di un trattamento all'anno con efficacia pari all'80% e di un intervento di pulizia settimanale con efficacia pari al 50%. La popolazione di *S. vulgaris* si estingue in circa 6600 giorni e questo tempo si riduce di quasi un terzo effettuando gli interventi di pulizia una volta alla settimana.

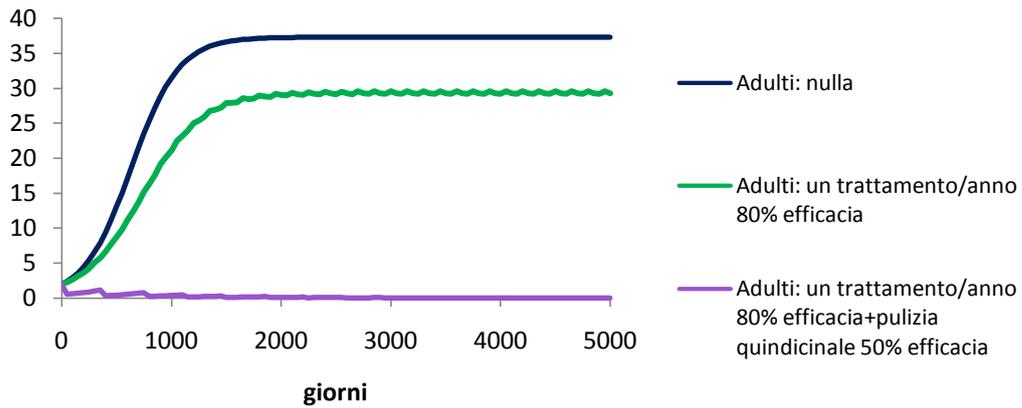


Grafico 31. Simulazione dell'effetto dell'associazione di un trattamento antielmintico aduicida all'anno con efficacia pari all'80% e di un intervento di pulizia settimanale con efficacia pari al 50%, sulla dinamica di popolazione degli adulti di *S. vulgaris*.

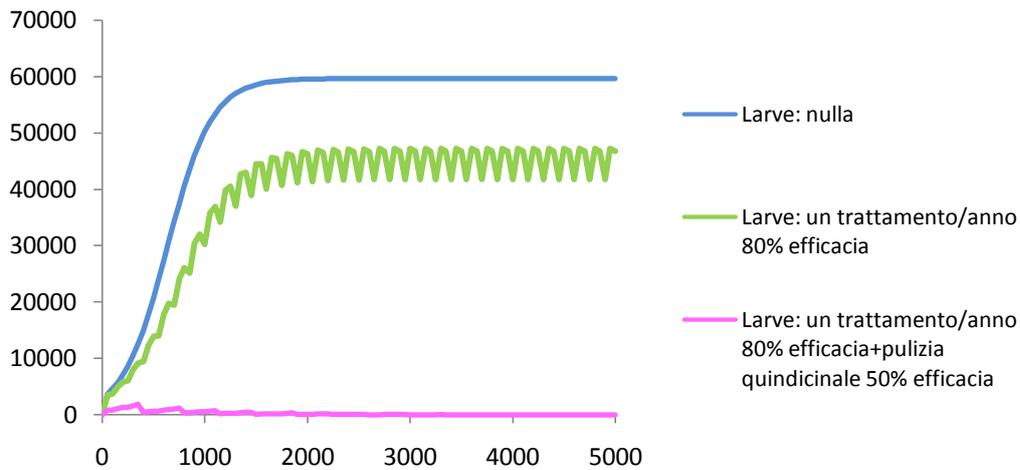


Grafico 32. Simulazione dell'effetto dell'associazione di un trattamento antielmintico aduicida all'anno con efficacia pari all'80% e di un intervento di pulizia settimanale con efficacia pari al 50%, sulla dinamica di popolazione delle larve di *S. vulgaris*.

5.3 Modello per piccoli strongili

Rispetto al modello per *S. vulgaris*, nel modello elaborato per i piccoli strongili è stata aggiunta una terza equazione che descrive la dinamica delle larve ipobiotiche *A*. Di seguito sono riportate le equazioni che descrivono il modello:

$$\frac{dP}{dt} = \theta A + \beta HL(1 - \sigma) - bP - \mu_0 P - (\mu_1 + \alpha)H \left(\frac{P^2}{H^2} \frac{k+1}{k} + \frac{P}{H} \right) \quad [61]$$

$$\frac{dA}{dt} = \sigma \beta HL - (\mu_A + b + \theta + \alpha P)A \quad [62]$$

$$\frac{dL}{dt} = q\lambda \frac{P}{2} - \mu L - \beta HL \quad [63]$$

dove σ è la proporzione di larve che entrano in ipobiosi, μ_A è la mortalità delle larve ipobiotiche e θ è il tasso al quale le larve ipobiotiche si sviluppano in parassiti adulti ($1/\theta$ è quindi la durata dell'ipobiosi). Rispetto ai modelli di Dobson e Hudson (1992) e Hudson e Dobson (1997), il parametro che definisce il tasso al quale le larve ipobiotiche si sviluppano in parassiti adulti è stato sostituito da una variabile θ posta uguale a:

$$\theta = \theta_0 \frac{P_{MAX} - P}{P_{MAX}} \quad [64]$$

Quando il numero di parassiti adulti è uguale a un valore soglia P_{MAX} , si ha $\theta = 0$; quando il numero di parassiti tende a zero, $\theta \rightarrow \theta_0$ che quindi è il tasso massimo di sviluppo delle larve ipobiotiche in parassiti adulti. L'introduzione della variabile θ permette, quindi, di tenere conto del *feedback* esistente tra la popolazione di larve ipobiotiche e la popolazione di parassiti adulti, secondo la funzione [64] rappresentata nel grafico 33, dove $P_{MAX} = 5000$ e $\theta_0 = 0,9$:

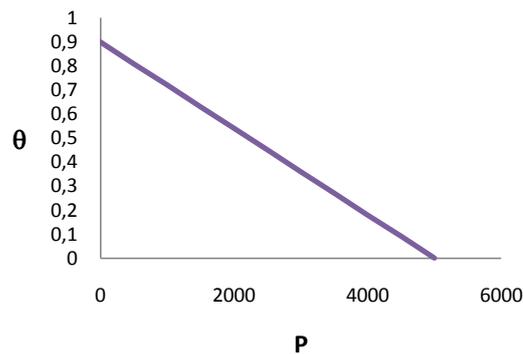


Grafico 33. Andamento di θ in funzione di P per $P_{MAX} = 5000$ e $\theta_0 = 0,9$.

In tabella 13 sono riportati i parametri inseriti nel modello.

Parametri	Simbolo	Valore stimato	
Mortalità del parassita adulto	μ_0	0,005	equivalente a un'attesa di vita di 6 mesi (1/180)
Mortalità densità-dipendente dei parassiti adulti	μ_1	0,005	parametro che tiene conto della distribuzione aggregata dei parassiti
Mortalità delle larve a vita libera	μ	0,125	equivalente a un'attesa di vita di otto giorni (1/8)
Mortalità dell'ospite	b	0,00082	ogni anno vengono macellati e venduti 180 asini; il tasso di mortalità giornaliero <i>pro capite</i> è quindi $180/(600 \times 365)$
Coefficiente di trasmissione	β	$2e-06$	tasso <i>pro capite</i> di ingestione delle larve infettanti
Tasso di fecondità	λ	200	ogni femmina produce in media 200 larve al giorno
Probabilità che un uovo si sviluppi fino a L3	q	0,1	il 10% di uova si sviluppa fino a raggiungere lo stadio infettante
Mortalità dell'ospite dovuta al parassita	α	0	considerata trascurabile
Aggregazione dei parassiti negli ospiti	k	0,60	parametro calcolato sulle IEPG dei piccoli strongili
Mortalità delle larve ipobiotiche	μ_A	0,001	equivalente a un'attesa di vita di due anni
Proporzione di larve che entrano in ipobiosi	σ	0,3	il 30% delle larve entra in ipobiosi
Tasso massimo di sviluppo delle larve ipobiotiche in adulti	θ_0	0,9	$\theta = \theta_0$ quando $P = P_{MAX}$
Soglia di parassiti adulti	P_{MAX}	5000	quando $P = P_{MAX}$, θ raggiunge il suo valore massimo θ_0 ed è massima la trasformazione di larve ipobiotiche in parassiti adulti
Popolazione ospite	H	600	la popolazione ospite è considerata costante

Tabella 13. Parametri del modello elaborato per i piccoli strongili.

Il diagramma di flusso del modello è riportato in figura 8 e i risultati della simulazione nei grafici 34 e 35.

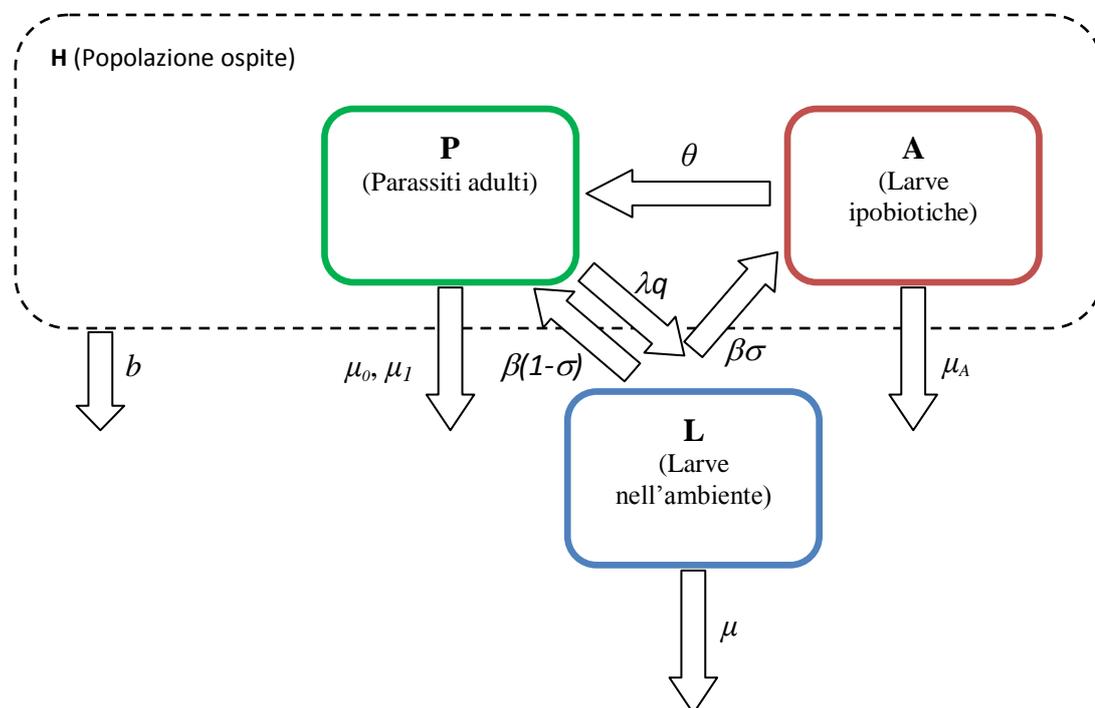


Figura 8. Diagramma di flusso del modello per i piccoli strongili.

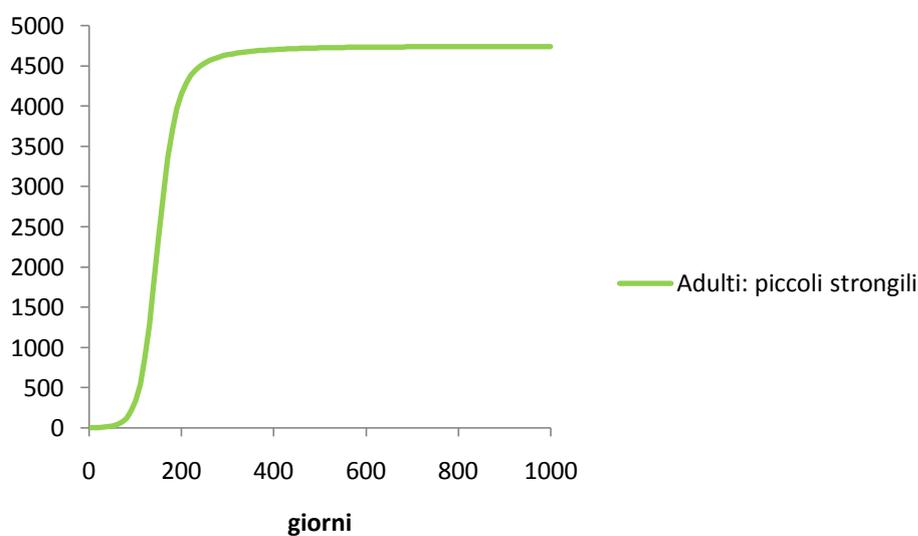


Grafico 34. Modello per la dinamica di popolazione dei piccoli strongili: andamento degli adulti.

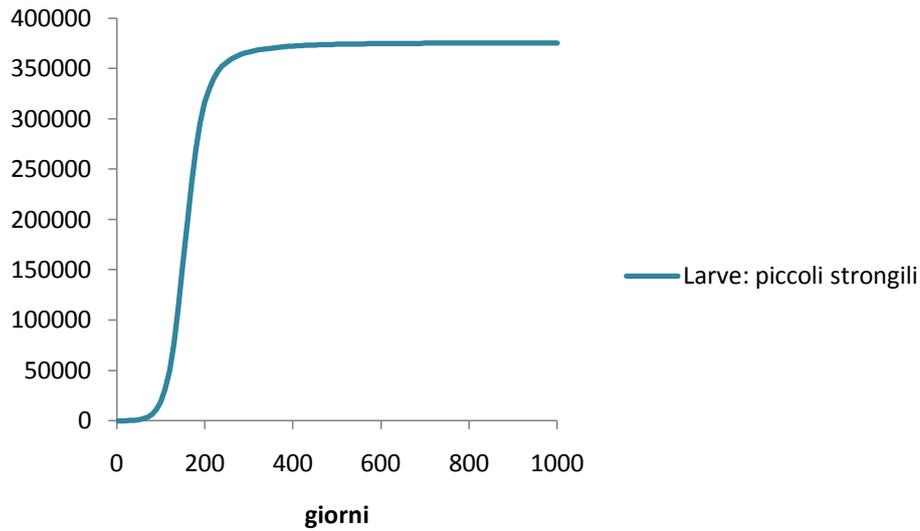


Grafico 35. Modello per la dinamica di popolazione dei piccoli strongili: andamento della larve nell'ambiente.

L'analisi di sensibilità in questo caso è stata fatta facendo variare i parametri che regolano l'ipobiosi: μ_A , σ , P_{MAX} , θ_0 . I risultati sono riportati nei grafici 36, 37, 38 e 39.

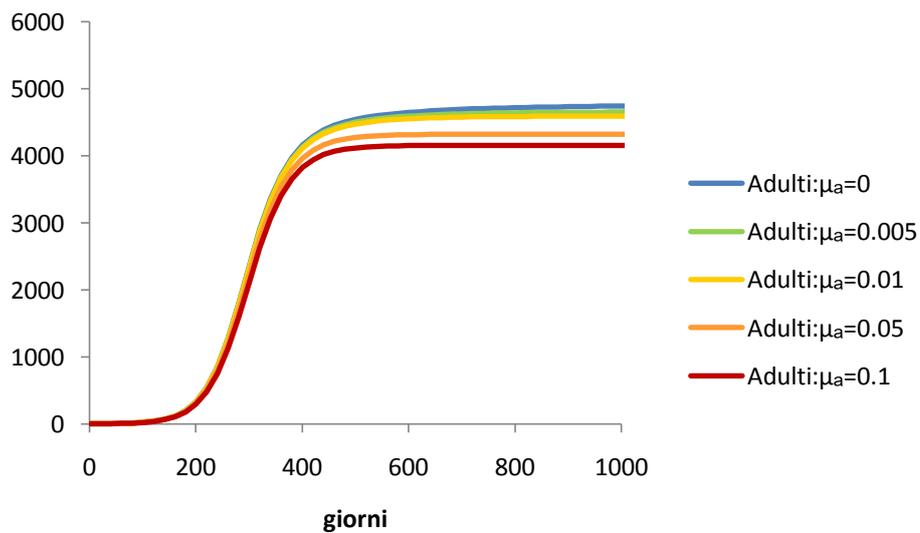


Grafico 36. Dinamica degli adulti dei piccoli strongili: analisi di sensibilità sul parametro μ_A .

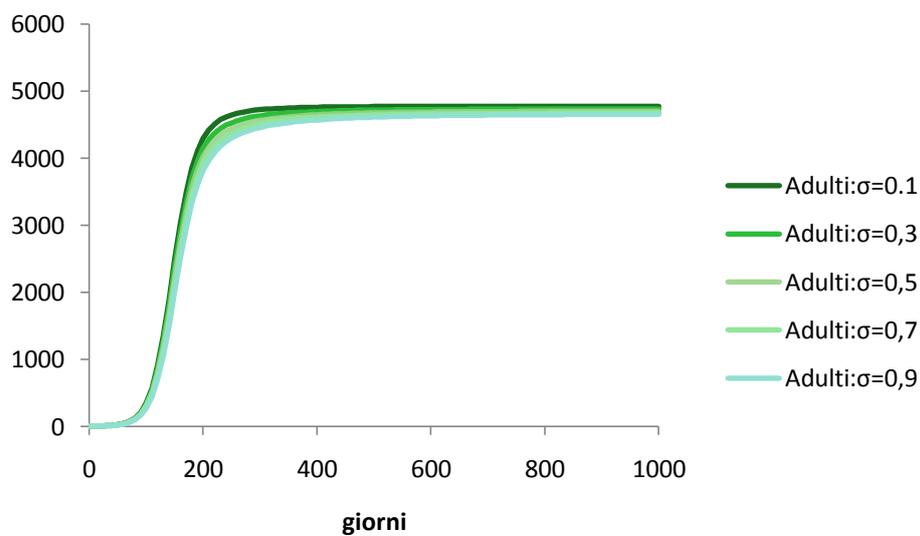


Grafico 37. Dinamica degli adulti dei piccoli strongili: analisi di sensibilità sul parametro σ .

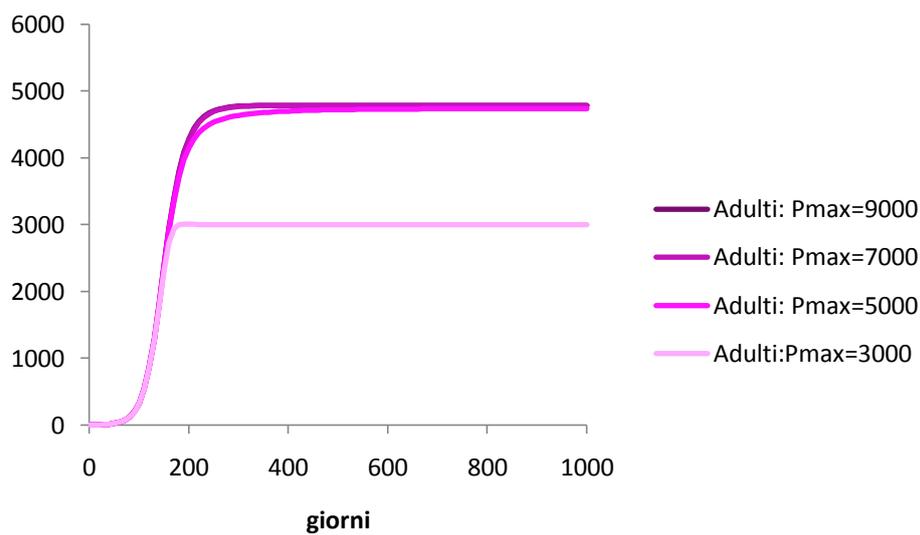


Grafico 38. Dinamica degli adulti dei piccoli strongili: analisi di sensibilità sul parametro P_{MAX} .

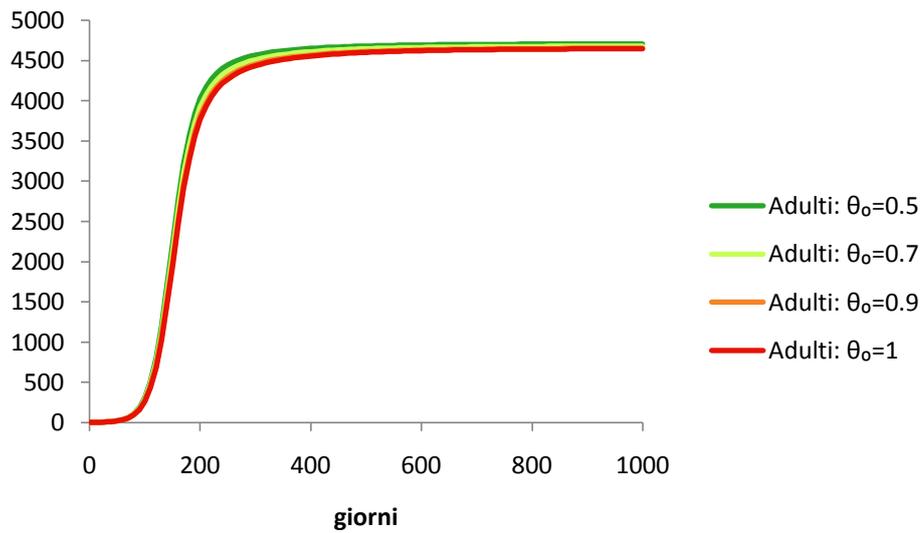


Grafico 39. Dinamica degli adulti dei piccoli strongili: analisi di sensibilità sul parametro θ_0 .

Nel grafico 40 viene messa a confronto la dinamica dei parassiti adulti in cui θ è variabile (densità-dipendente) con la dinamica in cui θ è un parametro fisso pari a $0,0166$ ($\frac{1}{\theta} = 60$ giorni).

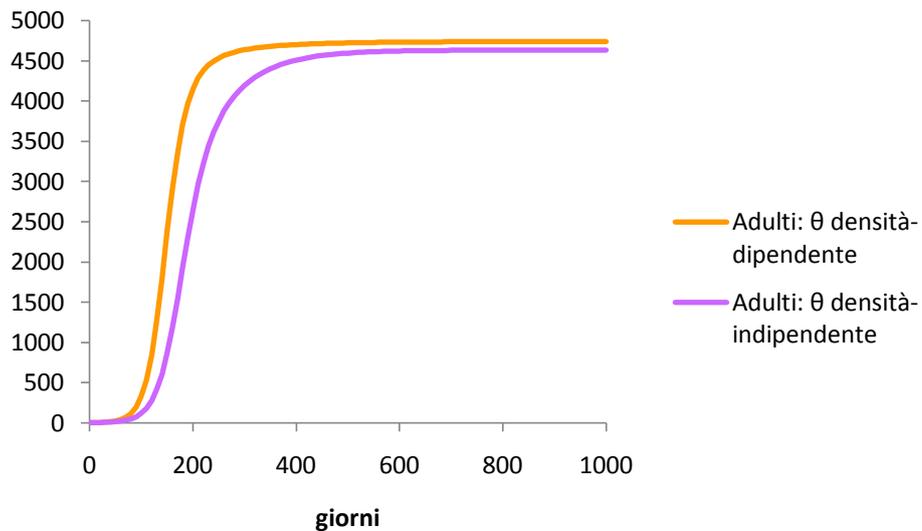


Grafico 40. Dinamica degli adulti di piccoli strongili: confronto tra un modello con θ variabile e uno con θ fisso ($=0,0166$).

Infine, nel grafico 41 è messo a confronto il modello con ipobiosi totale delle larve ($\sigma = 1$) non densità-dipendente con un modello senza ipobiosi. Come si vede, l'ipobiosi in questo caso comporta un netto rallentamento della dinamica degli adulti e il raggiungimento di numerosità più basse all'equilibrio.

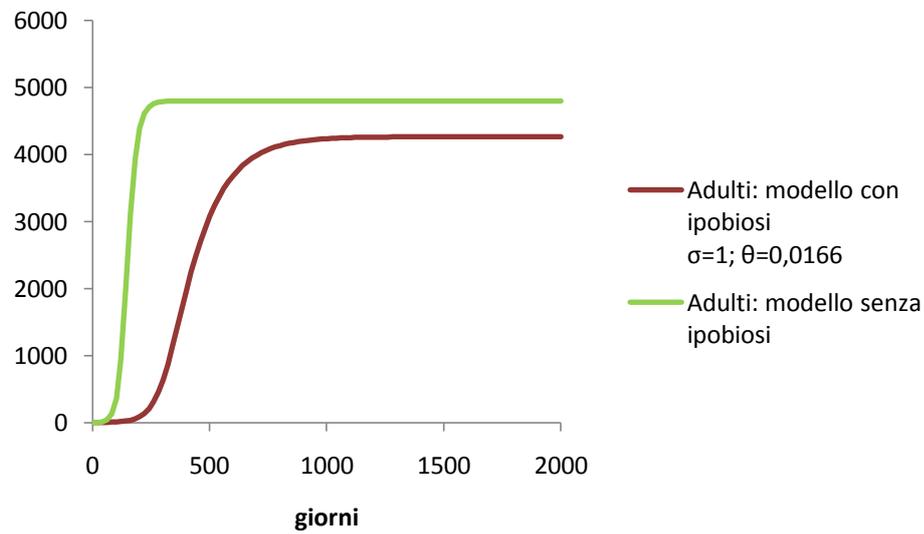


Grafico 41. Dinamica degli adulti di piccoli strongili: confronto tra un modello con ipobiosi ($\sigma = 1$; $\theta = 0,0166$) e uno senza ipobiosi.

5.3.1 Validazione del modello

Anche per i piccoli strongili, per validare il modello è stata introdotta una trasformazione così da ottenere la dinamica delle larve per grammo che poi è stata confrontata con i dati sperimentali. In questo caso la relazione tra le IEPG di piccoli strongili e gli adulti isolati dai 10 animali macellati non è lineare, ma è descritta da una funzione quadratica a concavità verso il basso che ha la forma $y = -ax^2 + bx + c$, descritta nel grafico 42.

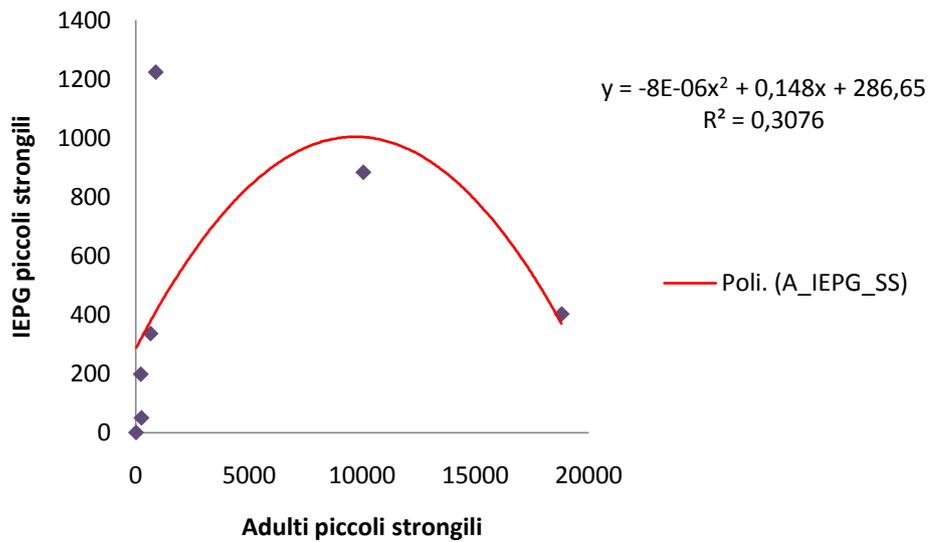


Grafico 42. Regressione quadratica delle IEPG di piccoli strongili sugli adulti.

In questo caso, una regressione quadratica ha permesso di fittare i dati nel miglior modo possibile, ottenendo così l'equazione della parabola i cui coefficienti sono stati usati nel modello. Il risultato è mostrato nel grafico 43 insieme ai nostri dati.

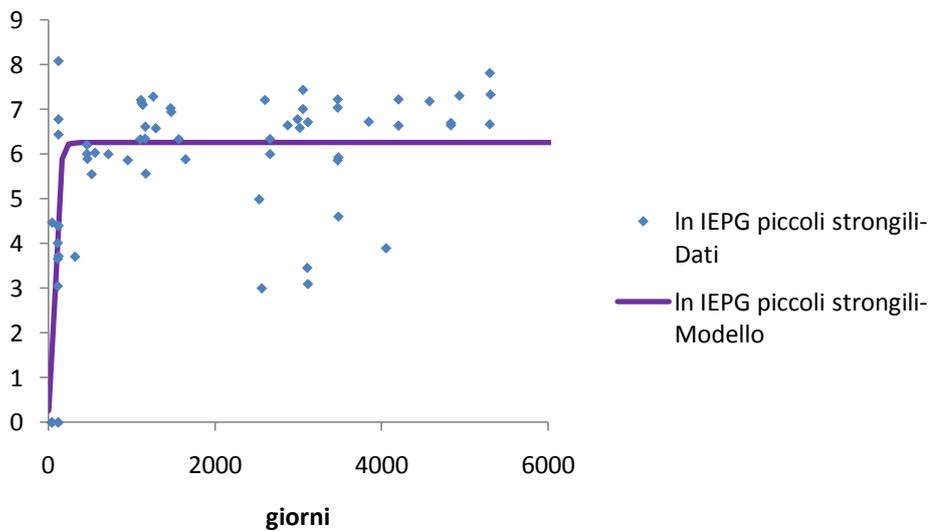


Grafico 43. Output del modello elaborato per i piccoli strongili rappresentato insieme ai dati sperimentali relativi al lnIEPG di piccoli strongili.

Nel grafico 44 è rappresentato il risultato dell'analisi di regressione sui dati sperimentali, già visto nello studio sulla dinamica di infezione, insieme ai dati calcolati dal modello.

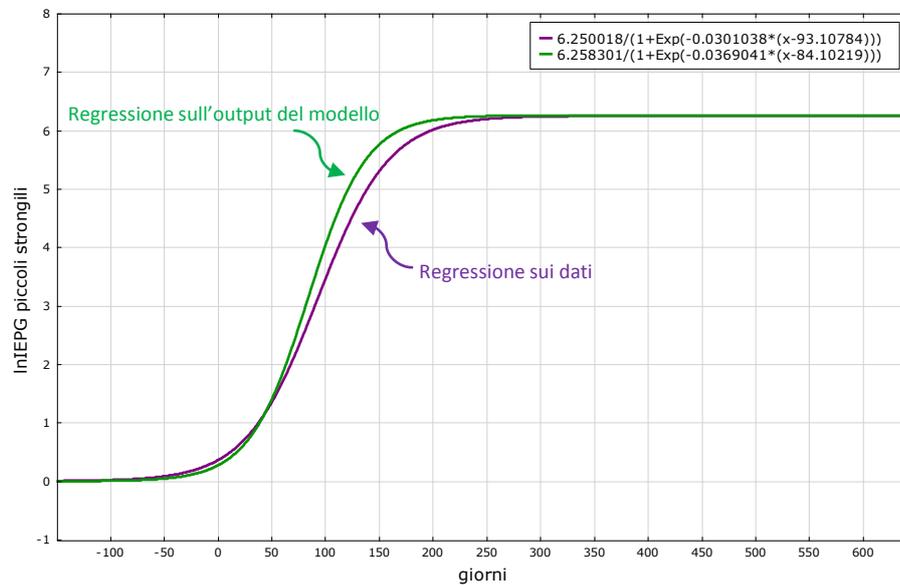


Grafico 44. Regressione sui dati sperimentali relativi al lnIEPG dei piccoli strongili e sui dati calcolati dal modello elaborato per i piccoli strongili.

5.3.2 Simulazione dell'effetto dei trattamenti

Nei grafici 45 e 46 viene simulato l'effetto di due trattamenti all'anno, con efficacia pari all'80%, sulla dinamica di popolazione dei parassiti adulti e delle larve; il modello in cui sono state incluse le larve ipobiotiche è messo a confronto con uno in cui queste non sono considerate. Diversamente dal modello per *S. vulgaris*, in questo caso non si arriva all'estinzione delle popolazioni di adulti e larve. Questo è dovuto al tasso di trasmissione, più elevato nel caso dei piccoli strongili, che fa sì che al crollo dei parassiti dovuto al trattamento, segua una velocissima ripresa fino alle numerosità preesistenti al trattamento. Dal confronto dei due modelli, con e senza ipobiosi, si può notare come nel modello con l'ipobiosi, il *feedback* esistente tra la popolazione di larve ipobiotiche e la popolazione di parassiti adulti, faccia sì che questi ultimi si mantengano sempre su livelli superiori rispetto al modello in cui le

larve ipobiotiche non vengono considerate. L'aumento della frequenza o dell'efficacia dei trattamenti, non cambia sostanzialmente questo risultato (grafici 47 e 48).

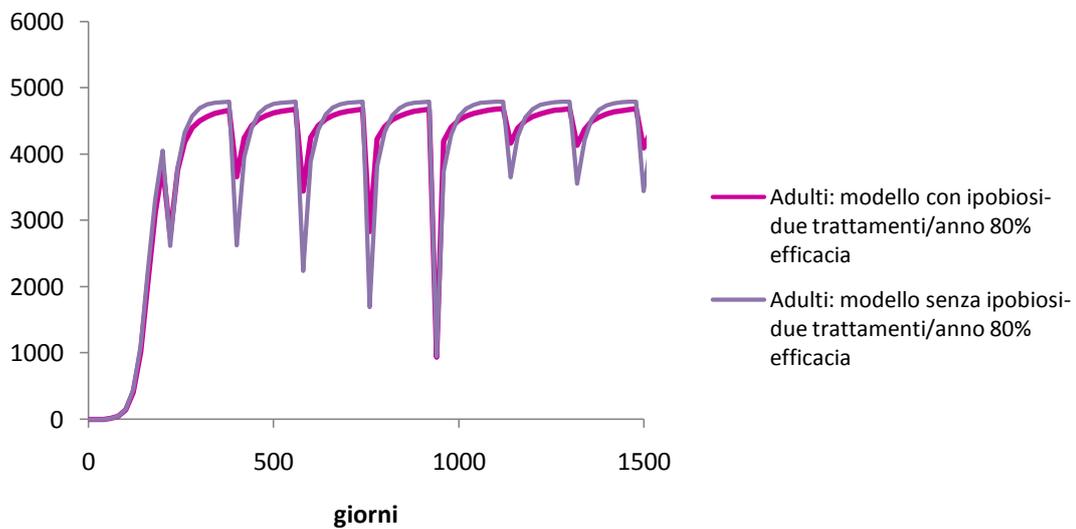


Grafico 45. Simulazione dell'effetto di due trattamenti antielmintici adulticidi all'anno, con efficacia pari all'80%, sulla dinamica di popolazione degli adulti di piccoli strongili con e senza ipobiosi.

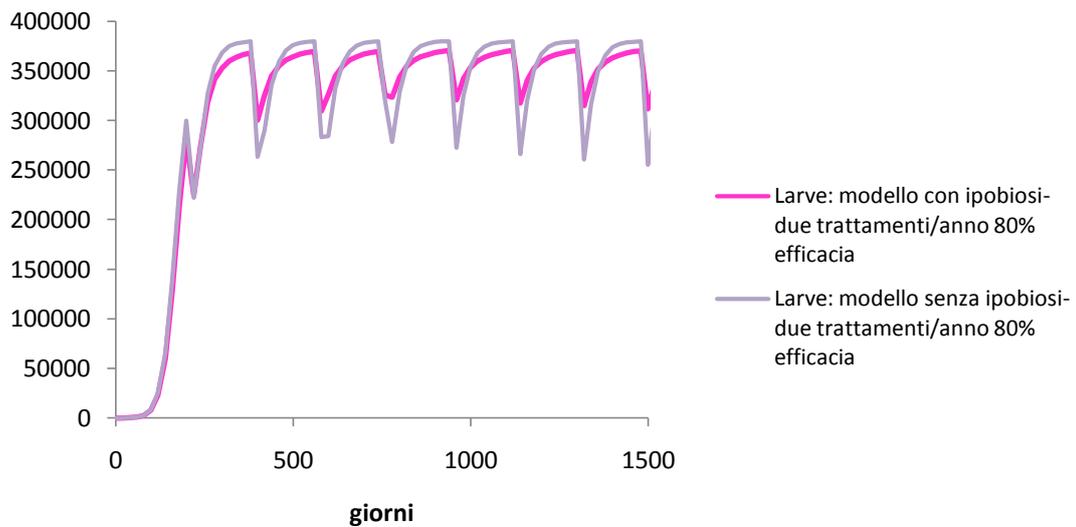


Grafico 46. Simulazione dell'effetto di due trattamenti antielmintici adulticidi all'anno, con efficacia pari all'80%, sulla dinamica di popolazione delle larve di piccoli strongili con e senza ipobiosi.

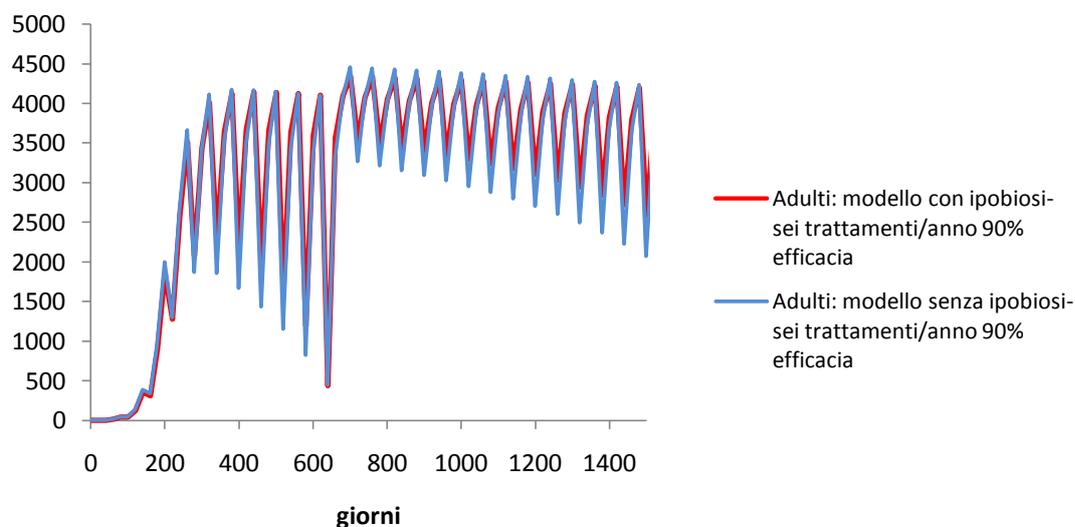


Grafico 47. Simulazione dell'effetto di sei trattamenti antielmintici adulticidi all'anno, con efficacia pari all'90%, sulla dinamica di popolazione degli adulti di piccoli strongili con e senza ipobiosi.

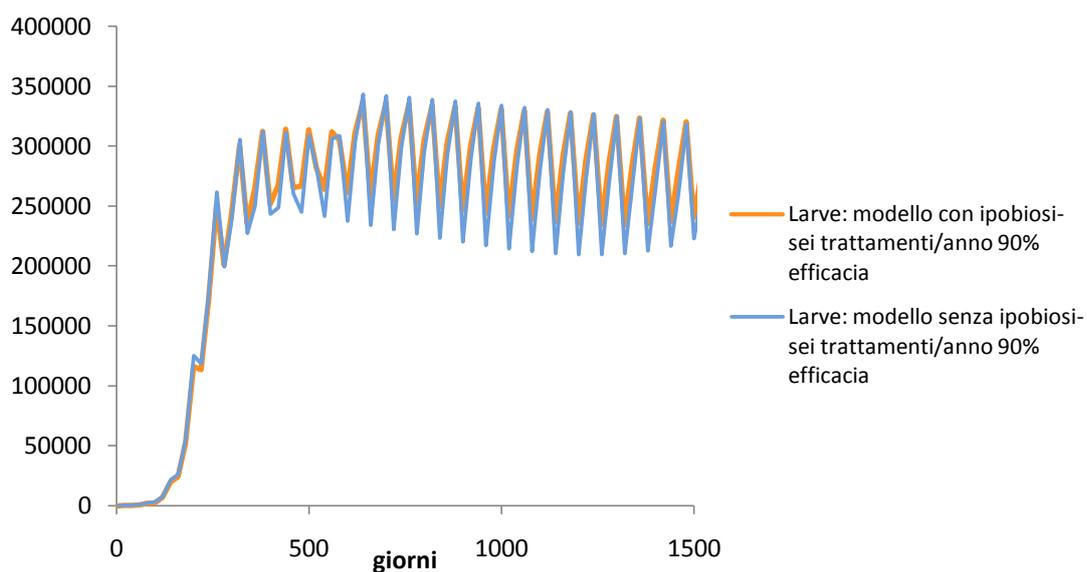


Grafico 48. Simulazione dell'effetto di due trattamenti antielmintici adulticidi all'anno, con efficacia pari all'80%, sulla dinamica di popolazione delle larve di piccoli strongili con e senza ipobiosi.

5.4 Calcolo dell' R_0

5.4.1 *Strongylus vulgaris*

Poiché l' R_0 è definito per un sistema in cui il parassita viene introdotto per la prima volta nella popolazione ospite, patogenicità e vincoli densità-dipendenti possono essere considerati trascurabili. Considerando inoltre la fecondità come fecondità media per parassita (quindi un mezzo delle fecondità per femmina, $\lambda' = \frac{1}{2}\lambda$), le equazioni [59] e [60] possono essere riscritte nel seguente modo:

$$\frac{dP}{dt} = -(b + \mu_0)P + \beta HL \quad [65]$$

$$\frac{dL}{dt} = q\lambda'P - (\mu + \beta H)L \quad [66]$$

Come spiegato nel Capitolo 2 (paragrafo 6.3), la matrice K per questo sistema è uguale a:

$$K = \begin{pmatrix} 0 & \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} \\ \frac{\beta H}{b + \mu_0} & 0 \end{pmatrix} \quad [67]$$

A questo punto, possiamo calcolarne gli autovalori:

$$\begin{aligned} \det(K - \Lambda I) &= \det \begin{pmatrix} -\Lambda & \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} \\ \frac{\beta H}{b + \mu_0} & -\Lambda \end{pmatrix} \\ &= \Lambda^2 - \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} \frac{\beta H}{(b + \mu_0)} = 0 \end{aligned} \quad [68]$$

$$\Lambda^2 = \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} \frac{\beta H}{(b + \mu_0)} \quad [69]$$

Per un sistema a due equazioni l' R_0 è definito come $\Lambda(K)^2$, cioè è uguale al quadrato dell'autovalore dominante. Sostituendo i parametri stimati col modello nella [69] si ottiene quindi:

$$R_0 = 5,28$$

Ponendo uguale a uno la [69] e risolvendo in H, è possibile calcolare la densità soglia di ospiti H_T , cioè il numero soglia di ospiti sufficiente a sostenere l'infezione:

$$H_T = \frac{\mu(b + \mu_0)}{\beta(q\lambda' - b - \mu_0)} \quad [70]$$

Sostituendo i parametri stimati col modello nella [70] si ottiene:

$$H_T = 113,7$$

I grafici 49e 50 mostrano come varia l' R_0 in funzione della fecondità λ' e del coefficiente di trasmissione β .

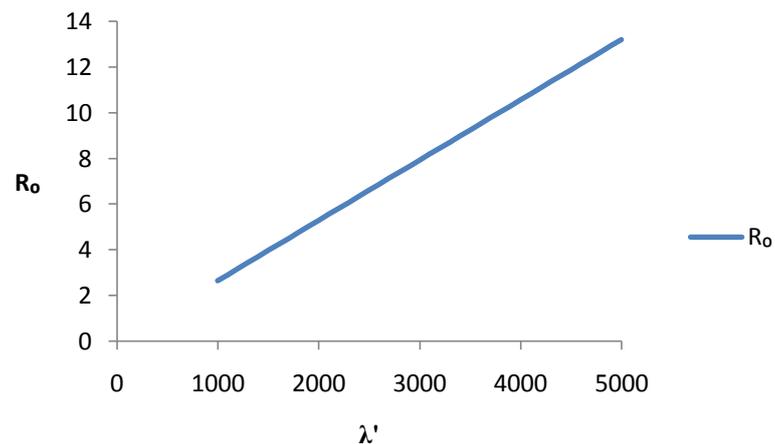


Grafico 49. Andamento di R_0 in funzione della fecondità.

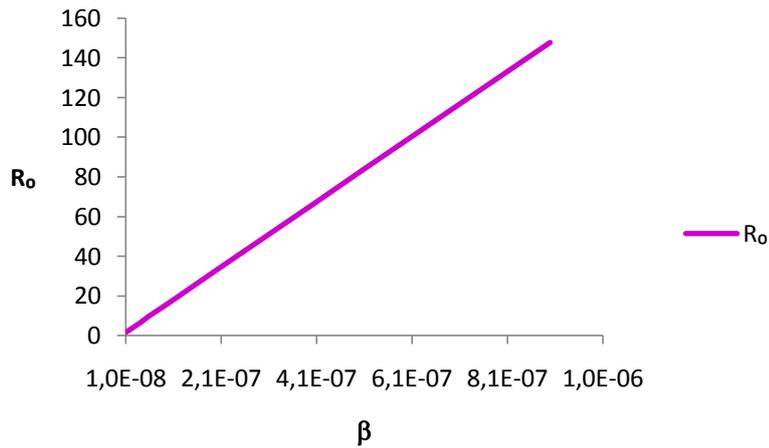


Grafico 50. Andamento di R_0 in funzione del coefficiente di trasmissione.

5.4.2 Piccoli strongili

Trascurando patogenicità e vincoli densità-dipendenti e assumendo che tutte le larve che vengono a contatto con l'ospite entrino in ipobiosi ($\sigma = 1$) e vi rimangano per un tempo $\frac{1}{\theta}$ dove $\theta = 0,0166$, le equazioni [61] [62] e [63] possono essere riscritte nel seguente modo:

$$\frac{dP}{dt} = -(b + \mu_0)P + \theta A \quad [71]$$

$$\frac{dL}{dt} = q\lambda'P - (\mu + \beta H)L \quad [72]$$

$$\frac{dA}{dt} = \beta HL - (\mu_A + b + \theta)A \quad [73]$$

Le matrici A e K per questo sistema a tre equazioni valgono:

$$A = \begin{pmatrix} -(b + \mu_0) & 0 & \theta \\ q\lambda' & -(\mu + \beta H) & 0 \\ 0 & \beta H & -(\mu_A + b + \theta) \end{pmatrix} \quad [74]$$

$$K = \begin{pmatrix} 0 & 0 & \frac{\theta}{b + \mu_0} \\ \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\beta H}{\mu_A + b + \theta} & 0 \end{pmatrix} \quad [75]$$

Possiamo ora calcolare gli autovalori della matrice K calcolando prima il determinante di una matrice 3x3¹³:

$$\det(K - \Lambda I) = \det \begin{pmatrix} -\Lambda & 0 & \frac{\theta}{b + \mu_0} \\ \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} & -\Lambda & 0 \\ 0 & \frac{\beta H}{\mu_A + b + \theta} & -\Lambda \end{pmatrix} \quad [76]$$

$$= -\Lambda^3 + \frac{\theta}{(b + \mu_0)} \frac{\beta H}{(\mu_A + b + \theta)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} = 0$$

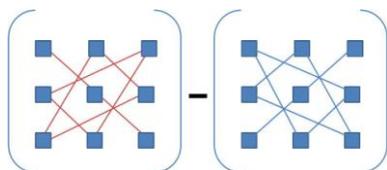
$$\Lambda^3 = \frac{\theta}{(b + \mu_0)} \frac{\beta H}{(\mu_A + b + \theta)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} \quad [77]$$

Sostituendo i parametri stimati col modello nella [77] si ottiene:

$$R_0 = 14,73$$

Il grafico 51 mostra come varia l' R_0 in funzione della durata dell'ipobiosi $1/\theta$.

¹³ Il determinante di una matrice quadrata d'ordine n è la somma degli n! prodotti associati ottenuti non considerando mai due prodotti equivalenti. Per il calcolo del determinate di una matrice 3x3, può essere impiegato il seguente metodo grafico:



Il determinante è la differenza tra la somma dei 3 prodotti degli elementi uniti dalle linee del disegno di sinistra e la somma dei 3 prodotti degli elementi uniti dalle linee del disegno di destra.

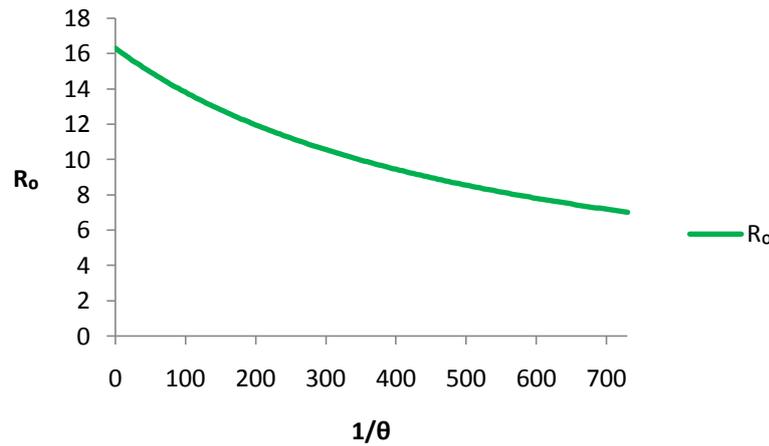


Grafico 51. Andamento di R_0 in funzione della durata dell'ipobiosi (in giorni).

A questo punto possiamo considerare il modello in cui una proporzione σ diversa da uno (pari a 0,3 nel modello elaborato per i piccoli strongili) entra in ipobiosi:

$$\frac{dP}{dt} = -(b + \mu_0)P\theta A + (1 - \sigma)\beta HL \quad [78]$$

$$\frac{dL}{dt} = q\lambda'P - (\mu + \beta H)L \quad [79]$$

$$\frac{dA}{dt} = \sigma\beta HL - (\mu_A + b + \theta)A \quad [80]$$

Poiché la [78] è in funzione sia di A sia di L , ricavando la matrice K da un sistema come questo e calcolandone gli autovalori, otterremmo un'equazione di terzo grado la cui soluzione è piuttosto complessa (si veda l'Appendice 3). Conviene quindi considerare separatamente il contributo di A ed L a P e applicare la sovrapposizione degli effetti. Consideriamo prima il contributo di A e riscriviamo il sistema nel modo seguente:

$$\frac{dP}{dt} = -(b + \mu_0)P + \theta A \quad [81]$$

$$\frac{dL}{dt} = q\lambda' P - (\mu + \beta H)L \quad [82]$$

$$\frac{dA}{dt} = \sigma\beta HL - (\mu_A + b + \theta)A \quad [83]$$

A questo punto, scriviamo le matrici A e K:

$$A = \begin{pmatrix} -(b + \mu_0) & 0 & \theta \\ q\lambda' & -(\mu + \beta H) & 0 \\ 0 & \beta H & -(\mu_A + b + \theta) \end{pmatrix} \quad [84]$$

$$K = \begin{pmatrix} 0 & 0 & \frac{\theta}{b + \mu_0} \\ \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\sigma\beta H}{\mu_A + b + \theta} & 0 \end{pmatrix} \quad [85]$$

e calcoliamo gli autovalori di K:

$$\begin{aligned} \det(K - \Lambda I) &= \det \begin{pmatrix} -\Lambda & 0 & \frac{\theta}{b + \mu_0} \\ \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} & -\Lambda & 0 \\ 0 & \frac{\sigma\beta H}{\mu_A + b + \theta} & -\Lambda \end{pmatrix} \\ &= -\Lambda^3 + \frac{\theta}{(b + \mu_0)} \frac{\sigma\beta H}{(\mu_A + b + \theta)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} = 0 \end{aligned} \quad [86]$$

$$\Lambda^3 = \frac{\theta}{(b + \mu_0)} \frac{\sigma\beta H}{(\mu_A + b + \theta)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} \quad [87]$$

Consideriamo ora il solo contributo di L . Si ottiene in questo caso un sistema a due equazioni:

$$\frac{dP}{dt} = -(b + \mu_0)P + (1 - \sigma)\beta HL \quad [88]$$

$$\frac{dL}{dt} = q\lambda'P - (\mu + \beta H)L \quad [89]$$

Scriviamo quindi le matrici A e K:

$$A = \begin{pmatrix} -(b + \mu_0) & (1 - \sigma)\beta H \\ q\lambda' & -(\mu + \beta H) \end{pmatrix} \quad [90]$$

$$K = \begin{pmatrix} 0 & \frac{(1 - \sigma)\beta H}{b + \mu_0} \\ \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} & 0 \end{pmatrix} \quad [91]$$

e calcoliamo gli autovalori di K:

$$\begin{aligned} \det(K - \Lambda I) &= \det \begin{pmatrix} -\Lambda & \frac{(1 - \sigma)\beta H}{b + \mu_0} \\ \frac{q\lambda'}{\mu + \beta H} & -\Lambda \end{pmatrix} \\ &= \Lambda^2 + \frac{(1 - \sigma)\beta H}{(b + \mu_0)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} = 0 \end{aligned} \quad [92]$$

$$\Lambda^2 = \frac{(1 - \sigma)\beta H}{(b + \mu_0)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} \quad [93]$$

È plausibile a questo punto sommare la [87] e la [93] per ottenere l' R_0 :

$$\begin{aligned} &\frac{\theta}{(b + \mu_0)} \frac{\sigma\beta H}{(\mu_A + b + \theta)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} + \frac{(1 - \sigma)\beta H}{(b + \mu_0)} \frac{q\lambda'}{(\mu + \beta H)} \\ &= \frac{\beta q\lambda' H}{(b + \mu_0)(\mu + \beta H)} \left[(1 - \sigma) + \frac{\sigma\theta}{(\mu_A + b + \theta)} \right] \end{aligned} \quad [94]$$

Sostituendo i parametri stimati col modello nella [94] si ottiene:

$$R_0 = 15,86$$

Ponendo uguale a uno la [94] e risolvendo in H, è possibile calcolare la densità soglia di ospiti H_T :

$$H_T = \frac{\mu(b + \mu_0)}{\beta q \lambda' \left[(1 - \sigma) + \frac{\sigma \theta}{(\mu_A + b + \theta)} \right] - \beta(b + \mu_0)} \quad [95]$$

Sostituendo i parametri stimati col modello nella [95] si ottiene:

$$H_T = 37,5$$

I grafici 52 e 53 mostrano come variano R_0 e H_T in funzione della proporzione di larve che entrano in ipobiosi σ e della durata dell'ipobiosi $1/\theta$. Come si vede, quando $\sigma = 1$ il modello è ricondotto al caso particolare trattato in precedenza.

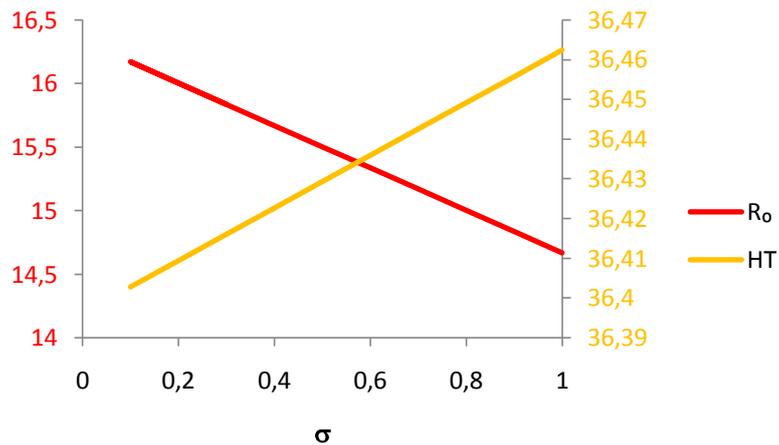


Grafico 52. Andamento di R_0 e H_T in funzione della proporzione di larve che entrano in ipobiosi.

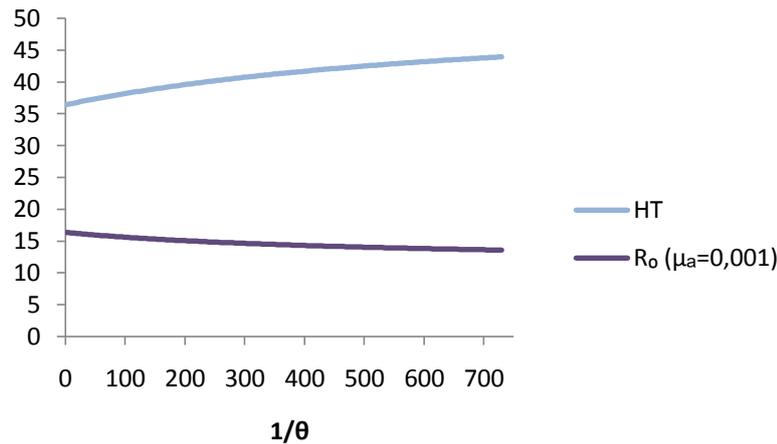


Grafico 53. Andamento di R_0 e H_T in funzione della durata dell'ipobiosi (in giorni).

Nei grafici 54 e 55 è rappresentato l'andamento di R_0 in funzione della mortalità delle larve ipobiotiche, e l'andamento di R_0 in funzione della durata dell'ipobiosi per $\mu_A = 0$ e $\mu_A = 0,001$. Si può notare come al diminuire della mortalità delle larve ipobiotiche, l' R_0 aumenti e, qualora tale mortalità venga trascurata, esso degradi all'aumentare della durata dell'ipobiosi in modo meno marcato rispetto al caso in cui $\mu_A = 0,001$. Tuttavia, quando oltre alla mortalità delle larve ipobiotiche viene trascurata anche quella dell'ospite, la durata dell'ipobiosi diviene ininfluente sull' R_0 .

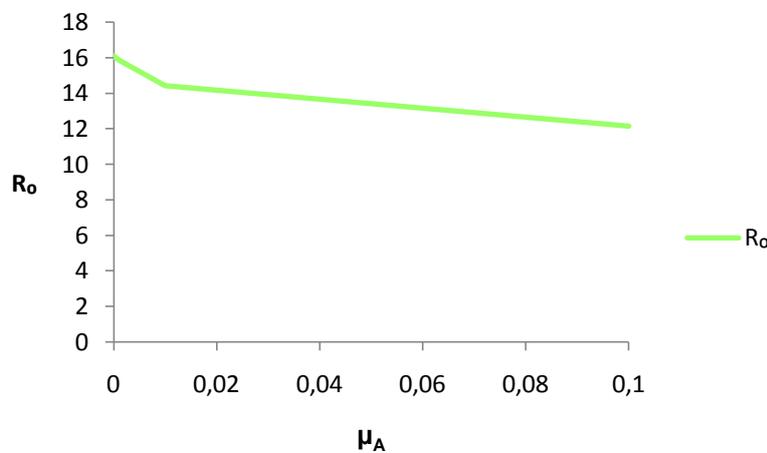


Grafico 54. Andamento di R_0 in funzione della mortalità delle larve ipobiotiche.

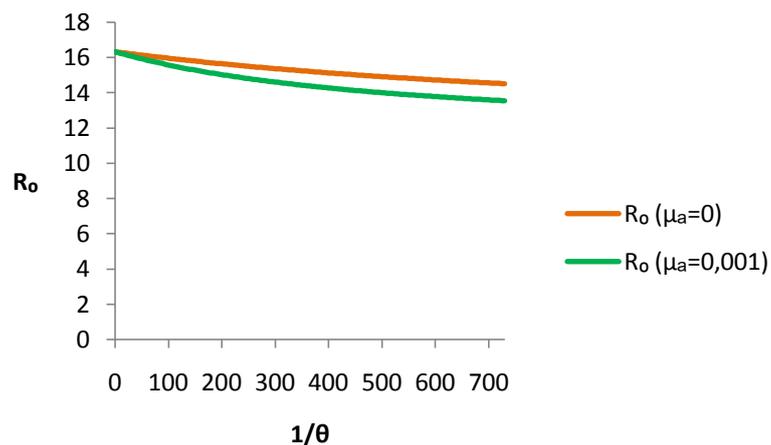


Grafico 55. Andamento di R_0 in funzione della durata dell'ipobiosi (in giorni) per $\mu_A = 0$ e $\mu_A = 0,001$.

Infine, nel grafico 56 è riportato l'andamento di R_0 e H_T in funzione del coefficiente di trasmissione β .

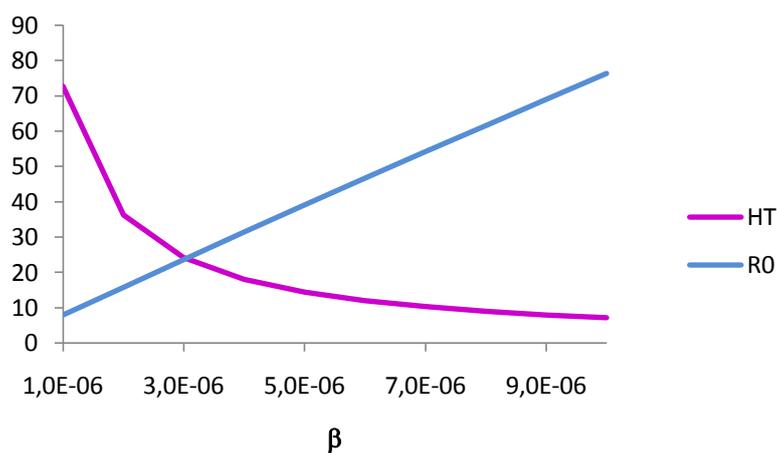


Grafico 56. Andamento di R_0 e H_T in funzione del coefficiente di trasmissione.

CAPITOLO 6

Discussione

1. Caratteristiche del campione

La distribuzione per sesso degli animali campionati (86 % di femmine e 14 % di maschi) è molto simile a quella in allevamento essendo la popolazione costituita dall'80% di femmine e dal 20% di maschi. Il nostro campione non risulta tuttavia rappresentativo per quanto riguarda le altre variabili considerate: suddivisione in fasce di età, settori di allevamento e categorie produttive non sono sovrapponibili con la reale distribuzione degli animali in allevamento. Questa mancanza di rappresentatività è voluta e determinata dal fatto che lo scopo del lavoro sia stato quello di studiare la dinamica delle infezioni da strongili (approfondendo quindi la natura della relazione esistente tra strongili ed età) in una popolazione di animali non sottoposta a controllo farmacologico, e non quello di stimare la situazione parassitologica nell'allevamento in esame. Per fare ciò si è fatto in modo che entrassero a fare parte del campione animali di tutte le età e categorie, in maniera quindi non proporzionale alla effettiva distribuzione per età e categorie in allevamento.

2. UPG

Dall'analisi preliminare dei risultati degli esami coprologici, è evidente l'altissima prevalenza degli strongili. Questo dato è confermato in letteratura da altri lavori simili svolti sull'asino, dei quali in particolare la ricerca di Scala *et al.* (2000) svolta in Italia, di Vercruyse *et al.* (1986) svolta in Burkina Faso, e di Wells *et al.* (1998) in Sud Africa, ed è stato rilevato anche in altri equidi, in particolare nel cavallo (Mughini Gras *et al.*, 2011).

Più della metà degli animali esaminati presentava un numero di UPG di strongili superiore a 500. Considerando che nel cavallo viene consigliato il trattamento dei giovani quando viene raggiunta la soglia delle 100 UPG e degli adulti oltre le 300 UPG (Uhlinger, 2007) e che gli animali campionati non erano in uno stato di salute precario, ciò potrebbe indicare una maggiore resilienza dell'asino rispetto al cavallo o una sopravvalutazione del ruolo patogeno degli strongili nel cavallo. I *cut-off* per la scelta degli animali da sottoporre ai trattamenti antelmintici sono, in effetti, spesso scelti arbitrariamente ed è anche vero che, generalmente, gli animali ben gestiti, in particolare cavalli adulti e ben nutriti, tollerano assai bene i parassiti senza apparenti effetti nocivi. In particolare per le coliche, fatta eccezione per pochi studi datati, esistono solo deboli evidenze in letteratura circa il ruolo dei parassiti come fattore di rischio (Uhlinger, 2007). In una *review* in cui vengono valutati i fattori di rischio per le coliche nei cavalli, il parassitismo è uno dei fattori meno citati (Gonçalves *et al.*, 2002). Queste osservazioni suggeriscono la necessità di rivalutare i protocolli antelmintici in animali in buono stato di salute, anche se molti veterinari, aderendo al principio “prevenire è meglio che curare”, vedono come eretica la messa in discussione della pratica di effettuare trattamenti antelmintici preventivi (Uhlinger, 2007).

E' da sottolineare come Wells *et al.* (1998) abbiano rilevato, in asini non trattati, una media di circa 2000 UPG di strongili, valore addirittura più elevato rispetto al nostro 737,78.

Analizzando la relazione tra prevalenza e sesso degli ospiti, i nostri risultati, come quelli riportati da Wells *et al.* (1998), rivelano l'assenza di differenze statisticamente significative nell'asino. È nota l'influenza del sesso sul parassitismo, dovuta in gran parte all'influenza degli ormoni ma anche a fattori comportamentali e gestionali. Tale influenza non viene in genere rilevata neppure nel cavallo (Mughini Gras *et al.*, 2011).

Per quanto riguarda l'età, le prevalenze di strongili sono significativamente più elevate negli adulti. Ricordiamo a questo proposito che gli ascaridi sono risultati più prevalenti nei giovani. Differenze per età vengono riportate in letteratura anche da

Wells (1998) in cui però ascaridi e strongili sembrano essere più abbondanti nelle classi di età intermedie (da 6 mesi a 3 anni). Per quanto riguarda il cavallo, la letteratura indica in genere una maggiore predisposizione dei puledri ad eliminare uova di strongili rispetto agli adulti (Klei e Chapman, 1999). Tale osservazione contrasta nettamente con i nostri risultati. Va evidenziato, tuttavia, che la maggior parte dei lavori sul cavallo sono condotti su un numero esiguo di animali e riguardano animali trattati sottoposti a infezioni sperimentali.

Condizioni come quelle presenti nell'allevamento oggetto del nostro studio, in cui sono presenti centinaia di animali appartenenti a tutte le categorie produttive, conviventi nello stesso ambiente e senza grosse influenze antropiche sulle infezioni parassitarie, sono estremamente rare. Quando infatti vengono presi in esame cavalli non trattati o con scarsa esposizione agli antelmintici, è possibile riscontrare un aumento nell'emissione di uova con l'età coerente con i nostri risultati (Eydal e Gunnarsson, 1994; Francisco *et al.*, 2009a). Gli stessi Klei e Chapman (1999) hanno osservato ciò analizzando la carica di piccoli strongili in pony non trattati utilizzati come controllo in prove di efficacia degli antelmintici.

Prevalenze significativamente diverse per gli strongili sono state anche osservate tra le diverse categorie produttive, con prevalenze inferiori nei puledri sotto madre e maggiori nelle gestanti, nelle femmine in lattazione e nelle femmine con puledro. L'influenza dello stato ormonale sui livelli di parassitismo è stata rilevata in molte specie, anche selvatiche, ma è un argomento molto dibattuto (Wilson *et al.*, 2001) e, in particolare negli equidi, sembra essere poco influente (Schwarzenberger *et al.*, 2004). Il risultato emerso preliminarmente dal nostro studio, sembrerebbe invece indicare un'influenza dello stato di gravidanza e lattazione sul livello parassitario.

Tuttavia, i risultati dei GLM sulle abbondanze di piccoli strongili e *S. vulgaris* suggeriscono un'interpretazione più cauta, evidenziando una sorta di interscambiabilità delle variabili categorie produttive ed età, praticamente equivalenti nello spiegare l'emissione di uova di piccoli e grossi strongili. Infatti, malgrado nel caso dei piccoli strongili il modello migliore, con AIC più basso, sia quello con le sole categorie produttive e nel caso di *S. vulgaris* l'abbondanza di questi parassiti sia

spiegata meglio dall'età, la bontà dei modelli con la sola età o con le sole categorie produttive è pressoché equivalente. Tanto più che tra queste ultime è presente la categoria dei puledri, evidentemente correlata con l'età.

3. IEPG

Dall'identificazione larvale sono stati rilevati 8 diversi generi o specie di strongili. Va ribadito che le chiavi da noi utilizzate (Euzeby 1981) raggruppano sotto il genere *Cyathostomum* anche altri generi comunque sempre appartenenti al gruppo dei piccoli strongili. Analizzando i risultati appare evidente come i gruppi più prevalenti ed abbondanti siano *Cyathostomum* che prevale nettamente, e *S. vulgaris*.

In letteratura l'unico lavoro parassitologico sugli asini in cui sono state identificate e contate le L3, mettendole anche in relazione al sesso e alle classi di età dell'ospite, è quello condotto da Wells *et al.* (1998). I dati da essi riscontrati, in accordo con i nostri risultati, mettono in evidenza prevalenze nettamente superiori dei piccoli strongili rispetto ai grandi strongili. Questo dato è in netta contrapposizione con i risultati ottenuti sui parassiti adulti (sempre nell'asino) da Ricci e Sabatini (1992) negli anni '50 e da Vercruyssen *et al.* (1986), che invece mostrano una netta predominanza di *S. vulgaris* sulle varie specie di ciatostomi. Tali differenze possono essere spiegate con un aumento dei ciatostomi, parallelamente al declino di *S. vulgaris*, osservato nel cavallo nel decennio 1980-90 da Herd (1990a) e che sarebbe da attribuirsi ai trattamenti antiparassitari diffusisi prima degli anni '80 e scarsamente efficaci sulle forme larvali incistate di ciatostomi, i quali inoltre svilupperebbero più facilmente antelminticoresistenza (Herd 1990b). In considerazione del fatto che gli asini da noi esaminati non vengono mai trattati con antelmintici, il trattamento stesso non può essere la causa diretta della dominanza dei ciatostomi su *S. vulgaris*. Possiamo quindi ipotizzare che i trattamenti abbiano prodotto una modificazione della biocenosi parassitaria su larga scala, con una diminuzione di *S. vulgaris* a livello di sovrappopolazione intesa nel senso più ampio, cioè in tutto l'ambiente in cui vive il parassita.

Nonostante la forte riduzione di *S. vulgaris* verificatasi negli equidi negli ultimi anni, è interessante osservare come nei nostri risultati la presenza di quest'ultimo sia comunque rilevante con una prevalenza del 79,2% e un numero medio di IEPG pari a 74,4. La nostra prevalenza è molto più elevata di quella rilevata circa 10 anni fa da Wells *et al.* (1998), pari a poco più del 20%, e non sarebbe da escludere una possibile ripresa di questo parassita.

Le differenze rilevate per le prevalenze di uova di strongili in animali di diversa età e categoria produttiva, sono emerse anche per le L3 di *S. vulgaris* e piccoli strongili. Relativamente a *S. vulgaris*, mentre l'analisi statistica esplorativa ha evidenziato una prevalenza significativamente più alta nelle femmine rispetto ai maschi, i GLM mostrano come il sesso sia ininfluente. Del resto, rispetto alle analisi bivariate, i GLM presentano l'indiscusso vantaggio di valutare l'effetto di tutte le covariate simultaneamente, interpretando l'effetto di ogni covariata al netto dell'effetto delle altre. In altre parole, a parità di età, il sesso non spiega le abbondanze di *S. vulgaris*.

4. Analisi della dinamica di infezione

Le dinamiche temporali con cui nuovi parassiti si stabiliscono nelle popolazioni degli ospiti sono legate a numerosi fattori e sono difficili da analizzare. La conoscenza di tali dinamiche e dei parametri che le descrivono costituisce la base per la costruzione di modelli matematici di dinamica di popolazione, è utile per individuare i momenti critici nell'andamento delle infezioni e per mettere a punto strategie di controllo davvero mirate.

La difficoltà operativa di seguire una coorte di animali nel tempo per decenni, ha portato i ricercatori ad utilizzare l'età degli animali come misura indiretta del tempo, utilizzo valido nell'ipotesi che le condizioni ambientali si siano mantenute nel passato sufficientemente costanti. Questo è il caso del nostro allevamento.

Essendo la relazione tra numero di parassiti ed età degli individui ospiti paragonabile all'andamento del numero dei parassiti nel tempo, non deve

meravigliare che la funzione che meglio ha descritto tale relazione sia stata una funzione logistica, che descrive la curva di accrescimento della maggior parte delle popolazioni. Poiché tale funzione è costruita sulla base di due parametri, il tasso di accrescimento r (potenziale, ovvero in assenza di fattori densità dipendenti) e la capacità portante K , abbiamo potuto stimare questi parametri per le popolazioni di parassiti in esame, ovvero per le IEPG di piccoli strongili e *S. vulgaris*. Il calcolo della derivata della funzione logistica individuata ha permesso inoltre di calcolare la forza di infezione.

Riguardo ai piccoli strongili, il momento di massima velocità di incremento si ha quando gli ospiti raggiungono i 93 giorni di età (circa 3 mesi), cioè dopo 93 giorni dalle prime infezioni. In questa fase quindi la forza di infezione è massima ed è pari a 0,386 IEPG/giorno, cioè in media ogni asino attorno ai 3 mesi aumenta la emissione di circa 1 IEPG in poco meno di 3 giorni. Se si pensa a quanti grammi di feci emette un asino al giorno, si può ben vedere che l'incremento di contaminazione ambientale non è trascurabile. La forza di infezione diventa pari a zero in 320 giorni, oltre i quali le abbondanze rimangono stabili. Resta, comunque, da conoscere l'incremento del numero di parassiti che corrisponde a tale incremento nel numero di uova, ovvero la forza di infezione in senso stretto.

L'andamento nel tempo di *S. vulgaris* è piuttosto diverso da quello dei piccoli strongili. La forza di infezione massima è 0,369 IEPG/giorno, picco che viene raggiunto a 336 giorni (circa 11 mesi); l'età in cui viene raggiunto il *plateau* è pari a 1600 giorni (poco più di 4 anni). La dinamica temporale di *S. vulgaris* è quindi più lenta rispetto a quella dei piccoli strongili, arrivando a capacità portante in un tempo cinque volte superiore; quando la forza di infezione è massima per *S. vulgaris*, i piccoli strongili hanno già raggiunto l'equilibrio.

5. Modelli matematici

Non sono presenti in letteratura lavori relativi alla modellizzazione della dinamica di popolazione degli strongili degli equidi e la ragione risiede

probabilmente nella rarità di allevamenti come quello oggetto del nostro studio e nell'approccio a queste parassitosi prevalentemente clinico sul singolo animale o su piccoli gruppi. Avere a disposizione un allevamento di asini a ciclo chiuso, in cui non vengono mai somministrati trattamenti antielmintici e di cui è nota la struttura di popolazione, ci ha permesso di spostare il punto di osservazione sulle popolazioni di parassiti e sul loro rapporto con la specie ospite, scegliendo un approccio squisitamente ecologico.

I pochi modelli elaborati per studiare la dinamica dei parassiti negli animali domestici (Roberts e Grenfell, 1991; Roberts, 1995; Roberts, 1999) partono generalmente dall'assunto che tale dinamica sia molto più semplice in una popolazione la cui gestione è affidata all'uomo rispetto a una popolazione selvatica in cui la densità dell'ospite è una variabile dinamica. In tali modelli, infatti, la popolazione ospite è generalmente costante, la distribuzione dei parassiti viene trascurata e viene introdotta un'equazione che descrive il livello di immunità acquisita, inteso come combinazione di vincoli all'insediamento, riproduzione o sopravvivenza dei parassiti adulti. Il limite di modelli di questo tipo sta nel fatto che l'immunità acquisita non ha un significato fisiologico diretto e non c'è un valore numerico di immunità che possa essere misurato e assegnato a un animale. L'introduzione dell'immunità è indispensabile in quanto elemento di regolazione densità-dipendente delle popolazioni parassite, mancando in questi modelli la mortalità dei parassiti dovuta alla mortalità degli ospiti da essi stessi indotta, tipica dei modelli storici da Crofton (1971b) e Anderson e May (1978) in poi.

Nella modellizzazione delle popolazioni di *S. vulgaris* e piccoli strongili abbiamo cercato di superare questo tipo di limite scrivendo un modello a popolazione ospite costante, come nei classici modelli per gli animali domestici, ma in cui viene considerata, oltre alla mortalità naturale dei parassiti adulti, una mortalità densità-dipendente la cui forza, dipendendo dalla densità delle singole infrapopolazioni, è tanto maggiore quanto maggiore è l'aggregazione dei parassiti. L'immunità non viene, quindi, modellizzata come variabile a se stante; ciò non toglie

che il meccanismo grazie al quale si concretizza una mortalità densità-dipendente non possa essere mediato dall'immunità.

Il nostro modello, così costruito, ha dimostrato di spiegare molto bene la dinamica temporale delle popolazioni sia dei piccoli strongili sia di *S. vulgaris* discussa nel paragrafo precedente.

5.1 *Strongylus vulgaris*

Un modello matematico, una volta costruito e validato sulla base dei dati sperimentali, consente di stimare i parametri che governano la dinamica di popolazione di un parassita, di studiare come varia tale dinamica al variare, anche minimo, dei parametri o di simulare l'effetto di perturbazioni quali, ad esempio, i trattamenti antielmintici adulticidi.

Nel modello per *S. vulgaris* è interessante osservare come al crescere dell'aggregazione diminuisca il numero di parassiti all'equilibrio, un effetto opposto rispetto a quello evidenziato da Crofton (1971b) nei suoi modelli, in cui però fenomeni densità-dipendenti che agiscono direttamente sui parassiti sono omessi. Nel nostro modello la diminuzione del numero di parassiti al crescere dell'aggregazione è dovuta all'inclusione di una mortalità densità-dipendente, la cui azione è tanto più intensa quanto maggiore è l'aggregazione. E' vero che anche la mortalità dei parassiti dovuta alla mortalità degli ospiti, presente nei modelli di Crofton (1971b), è tanto più evidente quanto maggiore è l'aggregazione, ma nei modelli classici ciò è in qualche modo controbilanciato da una minore mortalità degli ospiti; il maggior numero di ospiti all'equilibrio comporta anche un maggior numero di parassiti.

Tra gli aspetti interessanti dell'utilizzo dei modelli c'è appunto il fatto di riuscire a cogliere l'effetto complessivo di forze che, producendo azioni e contro-azioni di *feedback*, agiscono dando risultati altrimenti difficilmente prevedibili.

Il numero di parassiti all'equilibrio nei modelli classici dipende non solo dall'aggregazione k ma anche dal parametro α , cioè dalla mortalità dell'ospite indotta dal parassita, che nel nostro modello abbiamo considerato trascurabile. Nel modello base di Anderson e May (1978) al crescere di α aumenta il numero di ospiti che

muoiono a causa dei parassiti, ma poiché muoiono gli ospiti che albergano cariche parassitarie maggiori, il risultato controintuitivo del modello è che un aumento di α ha un effetto maggiore sulla popolazione parassita che sulla popolazione ospite, la cui densità all'equilibrio crescerà di conseguenza; questo effetto è tanto più pronunciato quanto più i parassiti sono aggregati.

La simulazione dell'effetto della somministrazione di trattamenti antielmintici adulticidi mostra come, trattando due volte all'anno, l'estinzione venga sempre raggiunta, dopo alcuni anni e con una velocità che cresce al crescere dell'efficacia del trattamento. Per *S. vulgaris*, un valore di R_0 relativamente basso, fa sì che la capacità di recupero della popolazione alla perturbazione sia piuttosto lenta rendendo quindi possibile l'eradicazione. Il nostro modello è quindi compatibile con l'ipotesi che la diminuzione di *S. vulgaris* osservata negli ultimi anni sia stata causata dall'uso regolare di antielmintici di buona efficacia.

L'attuazione di soli interventi di pulizia ambientale (assumendo un'efficacia del 50%) pur abbattendo notevolmente le abbondanze, specie se effettuati frequentemente, sono comunque insufficienti a portare *S. vulgaris* fino alla soglia di eradicazione. La combinazione di interventi ambientali quindicinali con un trattamento antielmintico all'anno, porta invece all'estinzione il parassita anche se in tempi veramente molto lunghi (circa 18 anni). Questo risultato dimostra comunque come, almeno per *S. vulgaris*, con interventi ambientali mediamente frequenti sia possibile controllare l'infezione riducendo la frequenza di somministrazione dei trattamenti adulticidi, cosa estremamente importante dal momento che tale frequenza è strettamente correlata all'insorgenza di resistenza agli antielmintici (Love, 2003).

L'adattamento del modello ai dati sperimentali ha permesso di stimare il coefficiente di trasmissione β , parametro molto influente sulla velocità della dinamica, cioè sulla pendenza della curva e sui tempi di raggiungimento della numerosità all'equilibrio. Come già detto, questo è il parametro più difficile da calcolare direttamente e proprio per questo viene di solito stimato sulla base

dell'adattamento degli *output* dei modelli matematici ai dati sperimentali, come nel nostro caso. Il coefficiente di trasmissione caratterizza in maniera molto netta la dinamica del modello ed in particolare, nelle varie simulazioni, si è rivelato essere l'unico in grado di influenzare pesantemente la dinamica temporale e i tempi di raggiungimento della capacità portante, mentre gli altri parametri influenzano la numerosità all'equilibrio più che i tempi in cui questa viene raggiunta.

Questo parametro β , insieme agli altri inseriti nel modello, è stato poi utilizzato per il calcolo dell' R_0 e della densità soglia di ospiti. Poiché la fecondità e il coefficiente di trasmissione compaiono al numeratore nell'espressione dell' R_0 , è naturale che esso cresca linearmente al crescere di questi due parametri; è interessante in particolare osservare quanto sia sensibile a variazioni anche minime di β .

Per quanto riguarda il valore di R_0 piuttosto basso, questo potrebbe sostenere l'ipotesi secondo cui sia stato l'uso diffuso di trattamenti ad avere prodotto una diminuzione di *S. vulgaris*, come discuteremo più avanti. Un R_0 basso comporta; tuttavia, una densità soglia di ospiti estremamente elevata (113,7), probabilmente sovrastimata, in quanto starebbe a significare che infezioni da *S. vulgaris* non sarebbero sostenute da popolazioni di asini con meno di 114 unità circa.

A tal proposito, non si può non riflettere criticamente sul fatto che in questo modello, come in tutti quelli reperibili in letteratura, la trasmissione sia sempre una funzione diretta della densità degli ospiti e delle larve (il termine βHL nelle equazioni). In realtà è probabile che la trasmissione non cresca linearmente con la densità delle larve, almeno quando queste sono molto numerose, e dovrebbe forse essere modellizzata in modo da tendere ad un *plateau* ad alti livelli di densità. Questo aspetto merita futuri ulteriori approfondimenti.

Un altro aspetto migliorabile del modello è legato alla possibilità futura di inserire un parametro relativo all'intervallo di tempo necessario allo sviluppo da L3 a parassita adulto, che simuli quindi la fase larvale endogena (L4, L5, adulto) del ciclo di *S. vulgaris*. Ritardi nello sviluppo durante la fase endogena sono comuni alla maggior parte dei parassiti e vengono solitamente trascurati nei modelli per i motivi

di semplificazione e trasparenza già discussi nella parte introduttiva. Tuttavia i risultati delle simulazioni per i piccoli strongili, in particolare il confronto tra dinamica senza ipobiosi e dinamica in cui la durata dell'ipobiosi è fissa (vedi discussione successiva) suggeriscono l'implementazione di un modello per *S. vulgaris* che tenga conto della fase di prepatenza, che, pur non essendo strettamente un'ipobiosi, è simulabile allo stesso modo nel modello. Tale inserimento, in analogia a quanto osservato nel modello per piccoli strongili, determinando un rallentamento della dinamica del parassita, comporterebbe la stima di un parametro β più elevato e più plausibile e di conseguenza un R_0 ed una soglia di trasmissione biologicamente più verosimili.

5.2 Piccoli strongili

Nel modello per i piccoli strongili è stata inserita un'equazione che descrive la dinamica delle larve ipobiotiche, in modo da tenere in considerazione questo importante aspetto della biologia di questo gruppo di parassiti.

Diversamente dai modelli di Dobson e Hudson (1992) e Hudson e Dobson (1997) che considerano la durata dell'ipobiosi come un parametro fisso, abbiamo modellizzato l'uscita dalla fase di arresto metabolico delle larve ipobiotiche come funzione della popolazione di parassiti adulti, simulando così il reciproco *feedback* esistente tra le due popolazioni. Tale fenomeno è supportato da numerosi dati empirici (Gibson, 1973; Smith, 1976; Love e Duncan; 1992; Mughini Gras *et al.*, 2011).

Sebbene la capacità delle larve di entrare in ipobiosi dovrebbe causare secondo Dobson *et al.* (1992) una riduzione della densità soglia, nel nostro modello essa tende ad aumentare le dimensioni della popolazione ospite richieste per il mantenimento dell'infezione riducendo l' R_0 . I "costi" dell'ipobiosi possono essere apprezzati analizzando, nel nostro modello, l'effetto sull' R_0 causato dall'aumento della durata dell'ipobiosi e della proporzione di larve che vi entrano. La riduzione osservata dell' R_0 riflette la mortalità addizionale delle larve ipobiotiche; annullando però sia tale mortalità sia la mortalità dell'ospite, la durata dell'ipobiosi diventa ininfluenza

dimostrando come un ritardo temporale, quale quello dell'ipobiosi, pur determinando una riduzione del tasso di crescita della popolazione, non determini in sé una riduzione dell' R_0 . Il numero riproduttivo di base, infatti, non è un tasso bensì una grandezza adimensionale definita non per unità di tempo ma per generazione. Ciò non toglie che, nel momento in cui l'ipobiosi, come è plausibile, determina una riduzione complessiva della mortalità densità-dipendente degli adulti, tipica delle infrapopolazioni molto dense, essa rappresenta una strategia evolutiva vincente (come ben sa anche l'orso andando in letargo per non morire di fame). Questo aspetto non viene colto dall' R_0 , che è un indice statico e, per definizione, non coglie gli aspetti densità-dipendenti e in quanto tale è forse più utile nello studio delle infezioni da microparassiti in cui i fenomeni densità-dipendenti sono pressoché trascurabili.

Va inoltre specificato che nel caso del modello per i piccoli strongili, il calcolo dell' R_0 , pur portando alla stessa espressione matematica già proposta da Dobson e Hudson (1992) nel loro modello con ipobiosi per *Trichostrongylus tenuis*, è stato eseguito con un procedimento semplificato plausibile da un punto di vista biologico, ma di cui non abbiamo trovato una giustificazione matematica rigorosa.

L'importanza dell'inserimento nel nostro modello di un elemento di assoluta originalità, ovvero di un tasso di sviluppo delle larve ipobiotiche in parassiti adulti densità-dipendente, emerge dall'andamento complessivo della dinamica rappresentata dal modello stesso che permette di cogliere, meglio dell' R_0 , il significato biologico dell'ipobiosi.

Rispetto a un modello in cui tale tasso è un parametro fisso, infatti, il nostro modello mostra come un'ipobiosi densità-dipendente, pur non influenzando l' R_0 , influenzi la dinamica dei parassiti adulti, che risulta più veloce e raggiunge valori più alti all'equilibrio (grafico 40), dimostrando l'effetto positivo sulla "fitness" della popolazione di piccoli strongili.

In assenza di un controllo dell'ipobiosi densità-dipendente, l'ipobiosi stessa comporta un netto rallentamento della dinamica degli adulti e il raggiungimento di numerosità più basse all'equilibrio (grafico 41). Alla base della maggiore fitness

legata all'ipobiosi sarebbe quindi non tanto l'ipobiosi in sé quanto la regolazione della durata dell'ipobiosi da parte della popolazione parassita adulta.

Diversamente da quanto visto per *S. vulgaris*, la simulazione dei trattamenti antielmintici adulticidi non porta mai all'estinzione della popolazione di piccoli strongili. In questo caso, l'elevato valore di R_0 fa sì che la popolazione abbia un elevato grado di capacità di recupero alla perturbazione, tornando al livello pre-controllo in un tempo tanto breve da rendere inefficaci i trattamenti ai fini dell'eradicazione.

Anche in questo caso, dal confronto tra il modello in cui è inclusa la popolazione di larve ipobiotiche e quello in cui questa è trascurata, emergono aspetti interessanti (grafici 45, 46, 47, 48). Nel primo modello, infatti, le popolazioni di parassiti adulti e larve rispondono al trattamento mantenendosi su numerosità più elevate rispetto al secondo modello, dimostrando ulteriormente l'importanza biologica dell'ipobiosi. La ragione risiede nell'aver simulato il *feedback* esistente tra la popolazione di larve ipobiotiche e la popolazione di parassiti adulti: quando per effetto del trattamento gli adulti muoiono, le larve ipobiotiche escono dallo stato di arresto metabolico reintegrando gli adulti eliminati dal trattamento. Una risposta ai trattamenti compatibile con un meccanismo di questo tipo è già stata osservata nel cavallo (Love *et al.*, 1999; Eysker *et al.*, 1989; Mughini Gras *et al.*, 2011) ed è probabilmente, assieme all'antielminticoresistenza, alla base della scarsa efficacia dei trattamenti per il controllo delle ciatostomosi negli equidi. Il nostro modello dimostra la plausibilità teorica di questo meccanismo.

CAPITOLO 7

Conclusioni

I principali risultati ottenuti possono essere sintetizzati come segue:

- Messa a punto di modelli matematici per la simulazione delle strongilosi negli equidi, trasparenti, flessibili e biologicamente plausibili; tali modelli sono applicabili anche allo studio di infezioni da elminti con ciclo simile in specie ospiti diverse.
- Stima dei principali parametri che regolano la dinamica di infezione di *S. vulgaris* e di piccoli strongili negli equidi.
- Uso dei modelli per la simulazione dell'efficacia di diversi tipi di trattamento farmacologico o ambientale per il controllo e l'eradicazione dei parassiti; le caratteristiche dei modelli implementati permettono il loro utilizzo per ulteriori simulazioni. E' evidente come la possibilità di simulare al computer varie tipologie di gestione prima della loro applicazione sul campo, sia estremamente vantaggiosa per la possibilità di testare preventivamente un numero molto elevato di combinazioni di tempi e strategie di controllo.
- Evidenza dell'importanza e dei limiti del calcolo di R_0 per le infezioni da macroparassiti, soprattutto nel caso di complessi cicli endogeni.
- Conseguenze della durata delle fasi endogene e in particolare dell'ipobiosi sulla dinamica di popolazione degli elminti, anche in specie, quali gli equidi, in cui la stagionalità e i parti non sembrano essere determinanti.
- Dimostrazione dell'importanza dei meccanismi densità-dipendenti intra-specifici per la regolazione delle popolazioni elmintiche, anche nelle specie ospiti allevate.

- Dimostrazione dell'efficacia dei fenomeni di *feedback* negativo sulle forme larvali ipobiotiche come strategia di sopravvivenza per le popolazioni di piccoli strongili.

APPENDICE 1

La distribuzione binomiale negativa

È noto che se campioni uguali, successivi e indipendenti vengono prelevati da un materiale omogeneo, il numero di individui osservato nei differenti campioni varierà in una maniera definita; infatti la distribuzione del numero osservato dipenderà da un solo parametro, il valore atteso m , secondo la distribuzione di Poisson (Fisher *et al.*, 1943; Bliss e Fisher, 1953):

$$P(n) = e^{-m} \frac{m^n}{n!} \quad [1]$$

dove n è la variabile che rappresenta il numero di individui osservato in ogni campione, $P(n)$ è la probabilità di osservare n individui nel campione, ed m è il valore medio di n . La varianza di questa distribuzione è uguale alla media. Ovviamente m sarà proporzionale alla dimensione del campione e alla densità degli organismi nel materiale campionato.

Supponiamo, per esempio, di avere una vasca contenente 100 litri di acqua in cui nuotano 1000 girini. Se ci dotiamo di un secchiello della capacità di un litro ed effettuiamo una pescata, il valore atteso del numero di girini catturati sarà uguale al numero di girini per litro d'acqua, ossia 10. In pescate successive, il numero di girini catturati potrà essere maggiore o minore di 10, ma comunque prossimo ad esso. Se consideriamo il numero di girini catturati come una variabile aleatoria, questa si distribuirà secondo una distribuzione di Poisson, in cui il parametro m è uguale a 10.

Questo discorso si basa sull'assunto che il campionamento avvenga a partire da un materiale omogeneo in cui, quindi, i girini sono distribuiti in modo casuale. Supponiamo adesso che i girini siano maggiormente concentrati in alcuni punti della vasca, in cui, magari, il nutrimento è più abbondante. In questo caso non sarà più possibile aspettarsi che il numero di girini nei diversi campioni prelevati sia prossimo

al numero medio di girini per litro d'acqua, in quanto tale numero dipende dal punto della vasca in cui viene prelevato il campione. Possiamo allora immaginare la vasca come suddivisa in sottozone, ovvero come un insieme di distribuzioni di Poisson, ognuna con la propria media di girini per litro d'acqua. Se consideriamo tale media come una variabile aleatoria, ha senso chiedersi quale sia la sua distribuzione.

Una possibilità è costituita dal modellizzare questa distribuzione come una distribuzione Gamma (Fisher *et al.*, 1943; Bliss e Fisher, 1953; Cook, 2009), ben conosciuta dalla distribuzione del χ^2 , che descrive la densità di probabilità di m nel seguente modo:

$$\Phi(m) = \frac{1}{\Gamma(k)} \left(\frac{1}{p}\right)^k m^{k-1} e^{-\frac{m}{p}} \quad [2]$$

dove $\Gamma(k)$ è detta funzione Gamma e le quantità $\frac{1}{p}$ e k sono conosciute rispettivamente come parametro di scala (*scale parameter*) e parametro di forma (*shape parameter*) e sono entrambe > 0 (Cicchitelli, 2004). La funzione Gamma è definita dall'integrale $\Gamma(k) = \int_0^\infty m^{k-1} e^{-m} dm$ e se k è un numero intero positivo, è uguale a $(k - 1)!$ (Cicchitelli, 2004). Quindi la [2] può essere riscritta nel seguente modo:

$$\Phi(m) = \frac{1}{(k - 1)!} p^{-k} m^{k-1} e^{-\frac{m}{p}} \quad [3]$$

Se moltiplichiamo l'equazione [3] per la [1] non facciamo altro che moltiplicare la probabilità che la media sia m (la distribuzione Gamma) per la probabilità di trovare n individui se la loro media è m (distribuzione di Poisson). Integrando poi su tutti i possibili valori di m da 0 ad infinito, con un'operazione detta marginalizzazione, otteniamo che la probabilità di osservare un numero n di individui quando campioniamo da una popolazione aggregata in cui la media varia con la distribuzione Gamma, è (Fisher *et al.*, 1943):

$$\int_0^{\infty} \frac{1}{(k-1)!} p^{-k} m^{k-1} e^{-\frac{m}{p}} e^{-m} \frac{m^n}{n!} dm \quad [4]$$

Portando fuori dall'integrale tutto ciò che non dipende da m e facendo alcune semplificazioni, si ottiene la seguente espressione:

$$\frac{1}{(k-1)! n!} p^{-k} \int_0^{\infty} m^{k+n-1} e^{-\frac{1+p}{p}m} dm \quad [5]$$

Applichiamo ora la seguente trasformazione di variabile:

$$t = \frac{1+p}{p} m$$

e calcoliamo m e dm in funzione della nuova variabile t :

$$m = \frac{p}{1+p} t$$

$$dm = \frac{p}{1+p} dt$$

Quindi sostituiamo i valori ottenuti nell'espressione [5] ottenendo:

$$\frac{1}{(k-1)! n!} p^{-k} \int_0^{\infty} \left(\frac{p}{1+p}\right)^{k+n-1} t^{k+n-1} e^{-t} \frac{p}{1+p} dt \quad [6]$$

Di nuovo portiamo fuori dal segno di integrale tutto ciò che non dipende da t :

$$\frac{1}{(k-1)! n!} \frac{1}{p^k} \frac{p}{1+p} \frac{p^{k+n-1}}{(1+p)^{k+n-1}} \int_0^{\infty} t^{k+n-1} e^{-t} dt \quad [7]$$

e con alcune semplificazioni otteniamo:

$$\frac{1}{(k-1)! n!} \frac{p^n}{(1+p)^{k+n}} \int_0^{\infty} t^{k+n-1} e^{-t} dt \quad [8]$$

Poiché la funzione Gamma è $\Gamma(z) = \int_0^{\infty} t^{z-1} e^{-t} dt$, ed è uguale a $(z-1)!$ se z è un intero positivo, sostituendo nella [8] si ottiene, per $z = k + n$, la seguente espressione:

$$\frac{1}{(k-1)! n!} \frac{p^n}{(1+p)^{k+n}} (k+n-1)! \quad [9]$$

Questa distribuzione è nota come *Distribuzione Binomiale Negativa* e deve il suo nome al fatto che l'espansione algebrica del binomio $(1 - \frac{p}{1+p})^{-k}$ è uguale a:

$$\left(1 - \frac{p}{1+p}\right)^{-k} = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(k-1)! n!} \left(\frac{p}{1+p}\right)^n (k+n-1)! \quad [10]$$

L'espressione [9] rappresenta, quindi, la probabilità di osservare un numero n di individui quando si campiona da una popolazione eterogenea. Tale distribuzione ha media e varianza pari a (Ross e Preece, 1985):

$$m = kp$$

$$s^2 = kp(1+p) = m \left(1 + \frac{m}{k}\right) = m + \frac{m^2}{k}$$

in cui il parametro p è un parametro proporzionale alla dimensione del campione e il parametro k è il ben noto indice di aggregazione.

La distribuzione binomiale negativa può essere considerata come la naturale estensione della distribuzione di Poisson. Per k che tende a infinito la varianza tende alla media come nella distribuzione di Poisson. Per k che tende a zero, è stato invece dimostrato da Fisher *et al.*, (1943), che la distribuzione tende a una serie logaritmica, ma solo nel caso in cui le classi di frequenza zero siano escluse dal campione.

Quando il numero di individui per unità di spazio o tempo, in campionamenti ripetuti, non ha lo stesso valore atteso, la loro distribuzione può essere rappresentata come un insieme di distribuzioni di Poisson, di cui il parametro k misura, in senso inverso, il grado di eterogeneità. Se questa eterogeneità è molto grande il valore di k

diminuisce ed approssima il suo valore limite zero. Se, invece, k è molto grande, i valori attesi delle singole “componenti di Poisson” che costituiscono “l’insieme popolazione”, saranno approssimativamente uguali e la distribuzione tenderà a quella di Poisson (Fisher *et al.*, 1943; Bliss e Fisher, 1953).

Nel grafico 1 viene mostrato come varia la distribuzione binomiale negativa al variare di k . Al crescere di k , la distribuzione binomiale negativa tende a una distribuzione di Poisson.

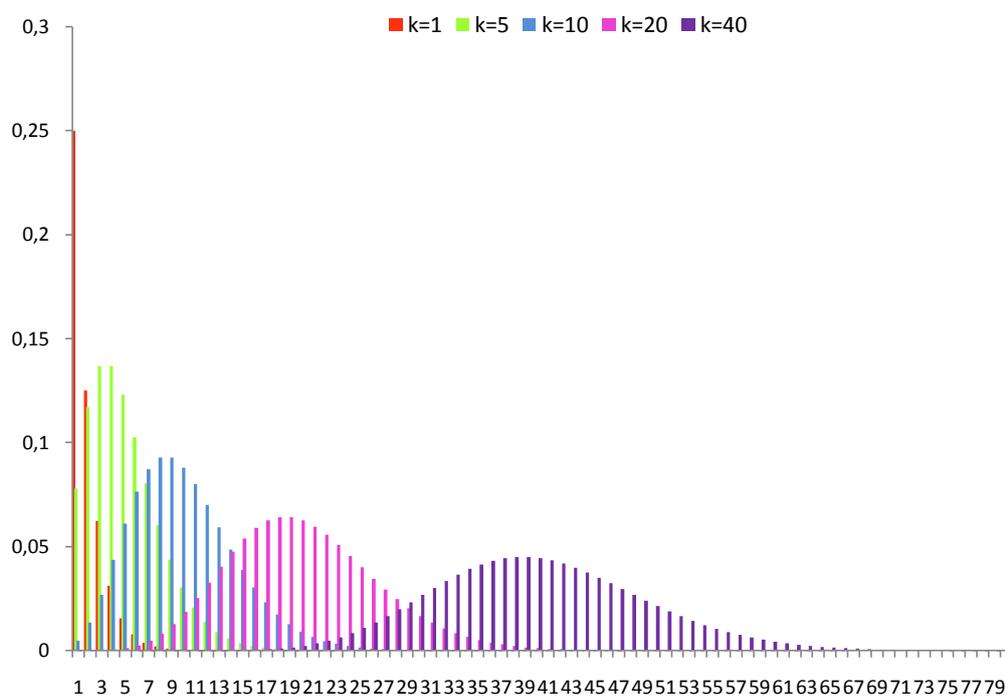


Grafico 1. Andamento delle distribuzione binomiale negativa al variare di k .

APPENDICE 2

Significato biologico dei parametri b_1 e b_2 nel modello di crescita logistica

Consideriamo le seguenti equazioni:

$$n(t) = \frac{b_1}{1 + e^{-b_2(t-b_3)}} \quad [1]$$

$$n(t) = \frac{e^{rt} n_0}{1 - \frac{n_0}{k} + \frac{e^{rt} n_0}{k}} \quad [2]$$

Nella [2] il termine n_0 va inteso come valore nello zero di $n(t)$, ossia $n(0)$. Proviamo a riscrivere la [2] in una forma equivalente. Per prima cosa, moltiplichiamo numeratore e denominatore della [2] per $\frac{k}{e^{rt} n_0}$, in modo da ottenere:

$$n(t) = \frac{k}{\frac{k}{e^{rt} n_0} - \frac{1}{e^{rt}} + 1} \quad [3]$$

Portando in evidenza al denominatore della [3] il termine e^{rt} , si ha:

$$n(t) = \frac{k}{1 + e^{-rt} \left(\frac{k}{n_0} - 1 \right)} \quad [4]$$

E' a questo punto evidente che, riscritta nella forma [4], l'equazione [2] è dello stesso tipo della [1]. Nell'ipotesi in cui nella [1] si possa trascurare il termine b_3 , è possibile dimostrare che la [4] è riconducibile alla [1] mediante opportune equivalenze fra i parametri che in esse compaiono. Basta infatti porre:

$$K = b_1$$

$$r = b_2$$

e sostituendo nella [4], si ottiene:

$$n(t) = \frac{b_1}{1 + e^{-b_2 t} \left(\frac{b_1}{n_0} - 1 \right)} \quad [5]$$

Calcoliamo ora il valore di $n(0)$ dalla [1] nell'ipotesi in cui si possa trascurare in essa il termine b_3 ; si ha:

$$n(0) = \frac{b_1}{2}$$

Sostituendo nella [5] il valore di $n(0)$ ricavato, si ottiene infine:

$$n(t) = \frac{b_1}{1 + e^{-b_2 t}} \quad [6]$$

Ricapitolando, la [6] non è altro che la [2] riscritta tenendo conto delle equivalenze $K = b_1$ e $r = b_2$. Essa coincide con la [1] per $b_3 = 0$.

APPENDICE 3

Criteri di stabilità di un sistema lineare tempo invariante

Sia dato un sistema a dimensioni finite, lineare e tempo invariante, descritto da un'equazione di stato nella forma:

$$\frac{dx}{dt}(t) = A x(t) \quad [1]$$

Il vettore $x(t)$ ha dimensione k e i suoi elementi sono le variabili di stato del sistema. Il vettore $\frac{dx}{dt}(t)$ ha anch'esso dimensione k e i suoi elementi sono le derivate delle variabili di stato.

La matrice A ha dimensioni $k \times k$ ed è chiamata matrice di stato; i suoi elementi sono scalari indipendenti dal tempo per l'ipotesi di tempo invarianza.

Si noti che non sono stati inclusi nell'equazione di stato termini dipendenti da eventuali ingressi esterni, per cui il sistema evolve solo in base alla sua cosiddetta *evoluzione libera* (o *evoluzione propria*).

La soluzione di questo sistema è data dalla formula di Lagrange:

$$x(t) = e^{At} x_0 \quad [2]$$

dove x_0 è il vettore i cui elementi costituiscono lo stato iniziale delle variabili di stato. La matrice e^{At} ha dimensioni $k \times k$ ed è chiamata matrice di transizione.

La [2] descrive come evolvono nel tempo le variabili di stato del sistema a partire dallo stato iniziale x_0 . Ha senso chiedersi se, al crescere di t , tali variabili crescano indefinitamente, tendano ad un valore costante di regime, o si smorzino fino ad annullarsi; ciò equivale a chiedersi se il sistema sia instabile, semplicemente stabile o asintoticamente stabile. In altri termini, ciò equivale a calcolare il seguente limite:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} x(t) = \lim_{t \rightarrow \infty} e^{At} x_0 \quad [3]$$

Un metodo per lo studio della stabilità di un sistema del tipo considerato è basato sul calcolo degli autovalori della matrice A. Si può infatti dimostrare che:

- 1) il sistema è stabile se gli autovalori di A hanno parte reale non positiva;
- 2) il sistema è asintoticamente stabile se gli autovalori di A hanno parte reale negativa.

Si supponga adesso che il sistema sia tale per cui la matrice A possa essere espressa come differenza fra due matrici M ed L. Ciò è tipico di un sistema che descriva una dinamica di popolazione; in tal caso, gli elementi della matrice M sono i coefficienti che contribuiscono all'incremento delle componenti del vettore $x(t)$, mentre quelli della matrice L sono i coefficienti che contribuiscono al suo decremento. Possiamo allora scrivere:

$$\frac{dx}{dt}(t) = Ax(t) = (M - L) x(t) \quad [4]$$

Definendo la matrice K come $K = L^{-1}M$, lo studio della stabilità del sistema si può condurre calcolando, in alternativa agli autovalori della matrice A, quelli della matrice K (Heesterbeek e Roberts, 1995).

Si consideri il seguente caso notevole:

$$\frac{dx}{dt}(t) = Ax(t) = \begin{pmatrix} -l_1 & \alpha & m_3 \\ m_1 & -l_2 & 0 \\ 0 & m_2 & -l_3 \end{pmatrix} x(t) \quad [5]$$

Si possono definire le matrici M ed L nel seguente modo:

$$M = \begin{pmatrix} 0 & \alpha & m_3 \\ m_1 & 0 & 0 \\ 0 & m_2 & 0 \end{pmatrix}; L = \begin{pmatrix} l_1 & 0 & 0 \\ 0 & l_2 & 0 \\ 0 & 0 & l_3 \end{pmatrix} \quad [6]$$

La matrice L è diagonale e quindi facilmente invertibile. La sua inversa vale:

$$L^{-1} = \begin{pmatrix} \frac{1}{l_1} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{l_2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{l_3} \end{pmatrix} \quad [7]$$

Di conseguenza, la matrice K vale:

$$\begin{aligned} K = L^{-1}M &= \begin{pmatrix} \frac{1}{l_1} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{l_2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{l_3} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 & \alpha & m_3 \\ m_1 & 0 & 0 \\ 0 & m_2 & 0 \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} 0 & \frac{\alpha}{l_1} & \frac{m_3}{l_1} \\ \frac{m_1}{l_2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{m_2}{l_3} & 0 \end{pmatrix} \end{aligned} \quad [8]$$

Gli autovalori di K sono dati dalle radici del suo polinomio caratteristico:

$$\begin{aligned} \det(K - \Lambda I) &= \begin{vmatrix} -\lambda & \frac{\alpha}{l_1} & \frac{m_3}{l_1} \\ \frac{m_1}{l_2} & -\lambda & 0 \\ 0 & \frac{m_2}{l_3} & -\lambda \end{vmatrix} \\ &= -\Lambda^3 + \frac{m_1 m_2 m_3}{l_1 l_2 l_3} + \frac{\alpha m_1}{l_1 l_2} \Lambda \end{aligned} \quad [9]$$

Nel caso in cui sia $\alpha = 0$, si ottiene:

$$\Lambda^3 = \frac{m_1 m_2 m_3}{l_1 l_2 l_3} \quad [10]$$

Nel caso in cui sia $m_3 = 0$, oltre alla soluzione banale $\Lambda=0$, si ha:

$$\Lambda^2 = \frac{\alpha m_1}{l_1 l_2} \quad [11]$$

Nel caso generale, per ricavare gli autovalori bisogna risolvere un'equazione di terzo grado.

BIBLIOGRAFIA

- [1] **Akaike H.** (1973). Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. *Proceedings of the Second International Symposium on Information Theory*, 1: 267-281.
- [2] **Altizer S., Dobson A., Hosseini P., Hudson P., Pascual M., Rohani P.** (2006). Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters*, 9: 467-484.
- [3] **Anderson R.M.** (1982). Parasite dispersion patterns: generative mechanisms and dynamic consequences. In: Meerovitch E. Aspects of Parasitology. A Festschrift dedicated to the fiftieth anniversary of the Institute of Parasitology of McGill University. McGill University Press, Montreal.
- [4] **Anderson R.M.** (2000). Epidemiologia. In: Cox F.E.G. Parassitologia. Zanichelli, Bologna.
- [5] **Anderson R.M., Gordon D.M.** (1982). Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology*, 85: 373-398.
- [6] **Anderson R.M., May R.M.** (1978). Regulation and stability of host-parasite population interactions: I. Regulatory processes. *Journal of Animal Ecology*, 47: 219-247.
- [7] **Anderson R.M., May R.M.** (1979). Population biology of infectious diseases: Part I. *Nature*, 280: 361-367.
- [8] **Anderson R.M., May R.M.** (1981). The population dynamics of microparasites and their invertebrate hosts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 291: 451-524.
- [9] **Anderson R.M., May R.M.** (1982). Population Biology of infectious diseases. Springer-Verlag, Berlin.
- [10] **Anderson R.M., May R.M.** (1991). Infectious diseases of humans: dynamics and control. Oxford University Press.

- [11] **Barger I.A.** (1986). Population regulation in trichostrongylids of ruminants. *International Journal for Parasitology*, 17: 531-540.
- [12] **Barnes E.H., Dobson R.J., Barger I.A.** (1995). Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. *Parasitology Today*, 11: 56-63.
- [13] **Begon M., Bowers R.G., Kadianakis N., Hodgkinson D.E.** (1992). Disease and community structure: the importance of host self-regulation in a host-pathogen model. *The American Naturalist*, 139: 1131-1150.
- [14] **Bliss C.I, Fisher R.A.** (1953). Fitting the negative binomial distribution to biological data. *Biometrics*, 9: 176-200.
- [15] **Blouin M.S., Dame J.B, Tarrant C.A., Courtney C.H.** (1992). Unusual population genetics of a parasitic nematode: mtDNA variation within and among populations. *Evolution*, 46: 470-476.
- [16] **Blouin M.S., Yowell C.A., Courtney C.H., Dame J.B.** (1995). Host movement and the genetic structure of populations of parasitic nematodes.
- [17] **Boag B., Hackett C.A., Topham P.B.** (1992). The use of Taylor's power law to describe the aggregated distribution of gastro-intestinal nematode of sheep. *International Journal for Parasitology*, 22: 267-270.
- [18] **Boag B., Lello J., Fenton A., Tompkins D.M., Hudson P.J.** (2001). Patterns of parasite aggregation in the wild European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *International Journal for Parasitology*, 31: 1421-1428.
- [19] **Breiman L., Friedman J., Olshen R.A., Stone C.J.** (1984). Classification and regression trees. Wadsworth International Group, Belmont, California.
- [20] **Brooker S., Jardim-Botelho A., Quinell R.J., Geiger S.M., Caldas I.R., Fleming F., Hotez P.J., Correa-Oliveira R., Rodrigues L.C., Bethony J.M.** (2007). Age-related changes in hookworm infection, anaemia and iron deficiency in an area of high *Necator americanus* hookworm transmission in south-eastern Brazil. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101: 146-154.

- [21] **Bundy D.A.P., Medley G.F.** (1992). Immuno-epidemiology of human geohelminthiasis: ecological and immunological determinants of worm burden. *Parasitology*, 104: S105-S119.
- [22] **Bush A.O., Fernández J.C., Esch G.W., Seed J.R.** (2001). Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites. Cambridge University Press.
- [23] **Campbell N.A., Reece J.B.** (2004). Biologia - Ecologia e comportamento. Zanichelli, Bologna.
- [24] **Chapman M.R., French D.D., Klei T.R.** (2003). Prevalence of strongyle nematodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in Louisiana. *The Journal of Parasitology*, 89: 309-314.
- [25] **Cicchitelli G.** (2004). Probabilità e statistica. Maggioli, Rimini.
- [26] **Cook, J.D.** (2009). Notes on the Negative Binomial Distribution. www.johndcook.com/negative_binomial.pdf (accesso al sito il 21/03/2011).
- [27] **Collobert-Laugier C., Hoste H., Sevin C., Chartier C., Dorchies P.** (2002). Mast cell and eosinophil mucosal responses in the large intestine of horses naturally infected with cyathostomes. *Veterinary Parasitology*, 107: 251-264.
- [28] **Cordero del Campillo M., Rojo Vazquez F.A., Martinez Fernandez A.R., Sanchez Acedo M.C., Hernandez Rodriguez S., Navarrete Lopez-Cozar I., Diez Baños P., Quiroz Romero H., Carvalho Varela M.** (1999). Parasitologia Veterinaria. McGraw-Hill-Interamericana.
- [29] **Cornell S.** (2005). Modelling nematode populations: 20 years of progress. *Trends in Parasitology*, 21: 542-545.
- [30] **Cornell S.J., Isham V.S., Grenfell B.T.** (2004). Stochastic and spatial dynamics of nematode parasites in farmed ruminants. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 271: 1243-1250.
- [31] **Cornell S.J., Isham V.S., Smith G., Grenfell B.T.** (2003). Spatial parasite transmission, drug resistance, and the spread of rare genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 100: 7401-7405.

- [32] **Corning S.** (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors*, 2: S1. doi: 10.1186/1756-3305-2-S2-S1.
- [33] **Cotgreave P., Forseth I.** (2004). Introduzione alla ecologia. Zanichelli, Bologna.
- [34] **Criscione C.D., Blouin M.S.** (2005). Effective sizes of macroparasite populations: a conceptual model. *Trends in Parasitology*, 21: 212-217.
- [35] **Crofton H.D.** (1971a). A quantitative approach to parasitism. *Parasitology*, 62: 179-193.
- [36] **Crofton H.D.** (1971b). A model for host-parasite relationships. *Parasitology*, 63: 343-364.
- [37] **Deredec A., Courchamp F.** (2003). Extinction thresholds in host-parasite dynamics. *Annales Zoologici Fennici*, 40: 115-130.
- [38] **Diekmann O., de Jong M.C.M., de Koeijer A.A., Reijnders P.** (1995). The force of infection in populations of varying size: a modelling problem. *Journal of Biological Systems*, 3:519-529.
- [39] **Diekmann O., Heesterbeek J.A.P., Metz J.A.J.** (1990). On the definition and the computation of the basic reproduction ratio R_0 in models for infectious diseases in heterogeneous populations. *Journal of Mathematical Biology*, 28: 365-382.
- [40] **Dobson A.** (2004). Population dynamics of pathogens with multiple host species. *The American Naturalist*, 164: S64-S78.
- [41] **Dobson A.P.** (1986). Inequalities in the individual reproductive success of parasites. *Parasitology*, 92: 675-682.
- [42] **Dobson A.P., Hudson P.J.** (1992). Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. II. Population models. *Journal of Animal Ecology*, 61: 487-498.
- [43] **Dobson A.P., Hudson P.J., Lyles, A.M.** (1992). Macroparasites: worms and others. In: Crawley M.J. Natural enemies - The population biology of predators, parasites and diseases. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- [44] **Esch G.W., Fernandez J.C.** (1993). A functional biology of parasitism. Chapman & Hall, London.
- [45] **Euzeby J.** (1981). Diagnostic Expérimental des Helminthoses animales. Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire. Livre 1 - Généralités. Diagnostic ante mortem. Informations Techniques des Services Vétérinaires, Paris.
- [46] **Eydal M., Gunnarsson E.** (1994). Helminth infections in a group of Icelandic horses with little exposure to anthelmintics. *Icelandic Agricultural Sciences*, 8: 85-91.
- [47] **Eysker M., Boersema J.H., Kooyman F.N.J.** (1989). Emergence from inhibited development of cyathostome larvae in ponies following failure to remove them by repeated treatments with benzimidazole compounds. *Veterinary Parasitology*, 34: 87-93.
- [48] **Ferrari N., Cattadori I.M., Nespereira J., Rizzoli A., Hudson P.J.** (2004). The role of host sex in parasite dynamics: field experiments on the yellow-necked mouse *Apodemus flavicollis*. *Ecology Letters*, 7: 88-94.
- [49] **Ferrari N., Rosà R., Lanfranchi P., Ruckstuhl K.E.** (2010). Effect of sexual segregation on host-parasite interaction: model simulation for abomasal parasite dynamics in alpine ibex (*Capra ibex*). *International Journal for Parasitology*, 40: 1285-1293.
- [50] **Ferrari N., Stancampiano L.** (2010). The contribute of parasitology to the ecopathology in Italy: a one-way collaboration? *Parassitologia*, 52: 151-153.
- [51] **Festa-Bianchet M.** (1989). Individual differences, parasites, and the costs of reproduction for bighorn ewes (*Ovis canadensis*). *Journal of Animal Ecology*, 58, 785-795.
- [52] **Fisher R.A.** (1941). The negative binomial distribution. *Annals of eugenics*, 11: 182-187.
- [53] **Fisher R.A., Steven Corbet A., Williams C.B.** (1943). The relation between the number of species and the number of individuals in a random sample of an animal population. *The Journal of Animal Ecology*, 12: 42-58.

- [54] **Folstad I., Karter A.J.** (1992). Parasites, bright males and the immunocompetence handicap. *American Naturalist*, 139: 603-622.
- [55] **Francisco I., Arias M., Cortiñas F.J., Francisco R., Mochales E., Sánchez J.A., Uriarte J., Suárez J.L., Morrondo P., Sánchez-Andrade R., Díez-Baños P., Paz-Silva A.** (2009a). Silvopastoralism and autochthonous equine livestock: analysis of the infection by endoparasites. *Veterinary Parasitology*, 164: 357-362.
- [56] **Francisco I., Arias M., Cortiñas F.J., Francisco R., Mochales E., Dacal V., Suárez J.L., Uriarte J., Morrondo P., Sánchez-Andrade R., Díez-Baños P., Paz-Silva A.** (2009b). Intrinsic factors influencing the infection by helminth parasites in horses under an oceanic climate area (NW Spain). *Journal of Parasitology Research*, doi:10.1155/2009/616173.
- [57] **Gaba S., Ginot V., Cabaret J.** (2005). Modelling macroparasite aggregation using a nematode-sheep system: the Weibull distribution as an alternative to the Negative Binomial distribution? *Parasitology*, 131: 393–401.
- [58] **Gibson T.E.** (1953). The effect of repeated anthelmintic treatment with phenothiazine on the faecal egg counts of housed horses, with some observations on the life cycle of *Trichonema* spp. in the horse. *Journal of Helminthology*, 27: 29-40.
- [59] **Gonçalves S., Julliand V., Lablond A.** (2002). Risk factors associated with colic in horses. *Veterinary Research*, 33: 641-652.
- [60] **Gregory R.D., Blackburn T.M.** (1991). Parasite prevalence and host sample size. *Parasitology Today*, 7: 316-318.
- [61] **Gregory R.D., Woolhouse M.E.** (1993). Quantification of parasite aggregation: a simulation study. *Acta Tropica*, 54: 131-139.
- [62] **Grenfell B.T., Anderson R.M.** (1985). The estimation of age-related rates of infection from case notifications and serological data. *The Journal of Hygiene*, 95: 419-436.
- [63] **Grenfell B.T., Dobson A.P.** (1995). Ecology of Infectious Disease in Natural Populations. Cambridge University Press.

- [64] **Grenfell B.T., Smith G., Anderson R.M.** (1987). A mathematical model of the population biology of *Ostertagia ostertagi* in calves and yearlings. *Parasitology*, 95: 389-406.
- [65] **Grossman C.J.** (1985). Interactions between the gonadal-steroids and the immune system. *Science*, 227: 257-261.
- [66] **Hairston N.G.** (1965). On the mathematical analysis of schistosome populations. *Bulletin of the World Health Organization* , 33: 45-62.
- [67] **Hamilton W.D., Zuk M.** (1982). Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science*, 218: 384-387.
- [68] **Hart B.L.** (1994). Behavioural defense against parasites: interaction with parasite invasiveness. *Parasitology*, 109: S139-S151.
- [69] **Herd R.P.** (1990a). The changing world of worms: the rise of the Cyathostomes and the decline of *Stongylus vulgaris*. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 12:732-736.
- [70] **Herd R.P.** (1990b). Equine parasite control - Problems associated with intensive anthelmintic therapy. *Equine Veterinary Education*, 2: 41-47.
- [71] **Holmes J.C.** (1961). Effects of concurrent infections on *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) and *Moniliformis dubius* (Acanthocephala). I. General effects and comparison with crowding. *Journal of Parasitology*, 47: 209-216.
- [72] **Holmes J.C.** (1962a). Effects of concurrent infections on *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) and *Moniliformis dubius* (Acanthocephala). II. Effects on growth. *Journal of Parasitology*, 48: 87-96.
- [73] **Holmes J.C.** (1962b). Effects of concurrent infections on *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) and *Moniliformis dubius* (Acanthocephala). III. Effects in hamsters. *Journal of Parasitology*, 48: 97-100.
- [74] **Hudson P.J., Dobson A.P.** (1995). Macroparasites: observed patterns in naturally fluctuating animal populations. In: Grenfell B.T., Dobson A.P. Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations. Cambridge University Press.

- [75] **Hudson P.J., Dobson A.P.** (1997). Transmission dynamics and host-parasite interactions of *Trichostrongylus tenuis* in red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*). *The Journal of Parasitology*, 83: 194-202.
- [76] **Hudson P.J., Newborn D., Dobson A.P.** (1992). Regulation and stability of a free-living host parasite system - *Trichostrongylus tenuis* in red grouse 1. Monitoring and parasite reduction experiments. *Journal of animal ecology*, 61: 477-486.
- [77] **Jones J.T., Breeze P., Kusel J.R.** (1989). Schistosome fecundity : influence of host genotype and intensity of infection. *International Journal for Parasitology*, 19: 769-777.
- [78] **Keeling M.J, Rohani P.** (2008). Modeling infectious diseases in humans and animals. Princeton University Press.
- [79] **Keeling M.J., Woolhouse M.E.J., May R.M, Davies G., Grenfell B.T.** (2003). Modelling vaccination strategies against foot-and-mouth disease. *Nature*, 421: 136-142.
- [80] **Kermack W.O, McKendrick A.G.** (1927). A Contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A*, 115: 700-721. Ristampato in *Bulletin of Mathematical Biology*, 53: 33-55 (1991).
- [81] **Keymer A.E., Anderson R.M.** (1979). The dynamics of infection of *Tribolium confusum* by *Hymenolepis diminuta*: the influence of infective-stage density and spatial distribution. *Parasitology*, 79:195-207.
- [82] **Keymer A., Crompton D.W.T., Singhvi A.** (1983). Mannose and the “crowding effect” of *Hymenolepis* in rats. *International Journal for Parasitology*, 13: 561-570.
- [83] **Keymer A.E., Slater A.F.G.** (1987). Helminth fecundity: density dependence or statistical illusion? *Parasitology Today*, 3: 56-58.
- [84] **Klei T.R., Chapman M.R.** (1999). Immunity in equine cyathostome infections. *Veterinary Parasitology*, 85: 123-136.

- [85] **Kretzschmar M.** (1989). Persistent solutions in a model for parasitic infections. *Journal of Mathematical Biology*, 27:549-573.
- [86] **Lack D.** (1954). The natural regulation of animal number. Clarendon Press, Oxford.
- [87] **Leathwick D.M., Barlow N.D., Vlassoff A.** (1992). A model for nematodiasis in New Zealand in lambs. *International Journal for Parasitology*, 22: 789-799.
- [88] **Lichtenfels J.R., Kharchenko V.A., Dvojnok G.M.** (2008). Illustrated identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Veterinary Parasitology*, 156: 4-161.
- [89] **Lloyd M.** (1967). Mean crowding. *Journal of Animal Ecology*, 36: 1-30.
- [90] **Love S.** (2003). Treatment and prevention of intestinal parasite-associated disease. *The Veterinary Clinics: Equine Practice*, 19: 791-806.
- [91] **Love S., Duncan J.L.** (1992). Development of cyathostome infection of helminth-naïve foals. *Equine Veterinary Journal*, 24: 93-98.
- [92] **Love S., Murphy D., Mellor D.** (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Veterinary Parasitology*, 85: 113-122.
- [93] **Margolis L., Esch G.W., Holmes J.C., Kuris A.M., Schad G.A.** (1982). The use of ecological terms in parasitology (report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *The Journal of Parasitology*, 68: 131-133.
- [94] **May R.M., Anderson R.C.** (1978). Regulation and stability of host-parasite population interactions: II. Destabilizing processes. *Journal of Animal Ecology*, 47: 249-267.
- [95] **May R.M., Anderson R.C.** (1979). Population biology of infectious diseases: Part II. *Nature*, 280: 455-461.
- [96] **May R.M., Anderson R.M.** (1983). Epidemiology and genetics in the coevolution of parasites and hosts. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences*, 219: 281-313.

- [97] **Morand S., Krasnov B.** (2008). Why apply ecological laws to epidemiology? *Trends in Parasitology*, 24: 304-309.
- [98] **Mughini Gras L., Usai F., Stancampiano L.** (2011). Strongylosis in horses slaughtered in Italy for meat production: epidemiology, influence of the horse origin and evidence of parasite self-regulation. *Veterinary Parasitology*, 179: 167-174.
- [99] **Nadler S.A.** (1990). Molecular approaches to studying helminth population genetics and phylogeny. *International Journal for Parasitology*, 20: 11-29.
- [100] **Nadler S.A.** (1995). Microevolution and the genetic structure of parasite populations. *Journal of Parasitology*, 81: 395-403.
- [101] **Ogbourne C.P., Duncan J.L.** (1977). *Strongylus vulgaris* in the horse: its biology and veterinary importance. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Buckinghamshire, England.
- [102] **Pacala S.W., Dobson A.P.** (1988). The relation between the number of parasites/host and host age: population dynamic causes and maximum likelihood estimation. *Parasitology*, 96:197-210.
- [103] **Perkins S.E., Cattadori I.M., Tagliapietra V., Rizzoli A.P., Hudson P.J.** (2003). Empirical evidence for key hosts in persistence of a tick-borne disease. *International Journal for Parasitology*, 33: 909-917.
- [104] **Pollio G.** (A.A. 2009/10). Biocenosi elmintica nell'asino - biodiversità e competizione. *Tesi di laurea dell'Università di Bologna*.
- [105] **Poulin R.** (1993). The disparity between observed and uniform distributions: a new look at parasite aggregation. *International Journal for Parasitology*, 23: 937-944.
- [106] **Poulin R.** (1996). Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *American Naturalist*, 147: 287-295.
- [107] **Poulin R.** (2007). *Evolutionary Ecology of Parasites*. Princeton University Press.

- [108] **Poulin R., Latham A.D.M.** (2002). Inequalities in size and intensity-dependent growth in a mermithid nematode parasitic in beach hoppers. *Journal of Helminthology*, 76: 65-70.
- [109] **Pugliese A., Rosà R., Damaggio M.L.** (1998). Analysis of a model for macroparasitic infection with variable aggregation and clumped infection. *Journal of Mathematical Biology*, 36: 419-447.
- [110] **Quinnell R.J., Medley G.F., Keymer A.E.** (1990). The Regulation of gastrointestinal helminth populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 330:191-201.
- [111] **Read C.P.** (1951). The “crowding effect” in tapeworm infections. *The Journal of Parasitology*, 37: 174-178.
- [112] **Regoes R.R., Ebert D., Bonhoeffer S.** (2002). Dose-dependent infection rates of parasites produce the Allee effect in epidemiology. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences*, 269: 271-279.
- [113] **Reiczigel J., Rózsa L.** (2005). *Quantitative Parasitology 3.0*. Budapest. Distributed by the authors.
- [114] **Ricci M., Sabatini A.** (1992). Notizie sugli elminti parassiti del cieco e del colon degli equidi in Italia. *Parassitologia*, 34: 53-60.
- [115] **Roberts M.G.** (1995). A pocket guide to host-parasite models. *Parasitology Today*, 11: 172-177.
- [116] **Roberts M.G.** (1999). The immunoepidemiology of nematode parasites of farmed animals: a mathematical approach. *Parasitology Today*, 15: 246-251.
- [117] **Roberts M.G., Dobson A.P.** (1995). The population dynamics of communities of parasitic helminths. *Mathematical Biosciences*, 126: 191-214.
- [118] **Roberts M.G., Grenfell B.T.** (1991). The population dynamics of nematode infections of ruminants: periodic perturbations as a model for management. *Mathematical Medicine and Biology*, 8: 83-93.
- [119] **Roberts M.G., Heesterbeek J.A.P.** (1995). The dynamics of nematode infections of farmed ruminants. *Parasitology*, 110: 493-502.

- [120] **Roberts M.G., Heesterbeek J.A.P.** (1998). A simple parasite model with complicated dynamics. *Journal of Mathematical Biology*, 37: 272-290.
- [121] **Roberts M.G., Heesterbeek J.A.P.** (2003). Mathematical models in epidemiology. In: Filar J.A., Krawczyk J.B. *Mathematical Models, Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, Oxford. [http://www.eolss.net].
- [122] **Roberts M.G., Smith G., Grenfell B.T.** (1995). Mathematical models for macroparasites of wildlife. In: Grenfell B.T., Dobson A.P. *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press.
- [123] **Roepstorff A., Nansen P.** (1998). Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine. In: *FAO Animal Health Manual*, volume 3. FAO, Roma.
- [124] **Rolff J.** (2000). Water mite parasitism in damselflies during emergence: two hosts, one pattern. *Ecography*, 23: 273-282.
- [125] **Rosà R., Pugliese A.** (2002). Aggregation, stability, and oscillations in different models for host-macroparasite interactions. *Theoretical Population Biology*, 61: 319-334.
- [126] **Ross G.J.S., Preece D.A.** (1985). The negative binomial distribution. *The Statistician*, 34: 323-336.
- [127] **Rousset F., Thomas F., De Meeüs T., Renaud F.** (1996). Inference of parasite-induced host mortality from distributions of parasite loads. *Ecology*, 77: 2203-2211.
- [128] **Scala A., Verachi F., Giannetto S., Poglayen G., Cancedda M.** (2000). Endoparasites in domestic equines in Sardinia. *Atti SISVet*, 2: 137.
- [129] **Schad G.A.** (1977). The role of arrested development in the regulation of nematode populations. In Esch G.W. *Regulation of parasite Populations*. Academic Press, New York.
- [130] **Schwarzenberger F., Sterregaard F., Elias F.M., Walzer C.** (2004). Is there a sex hormone and gender related difference in parasite infections in re-introduced przewalski horses (*Equus caballus przewalskii*) in Mongolia? 5th

- scientific meeting of the European Association of Zoo- and Wildlife Veterinarians (EAZWV)*. 19-23 maggio, Ebeltoft, Denmark.
- [131] **Scott M.E.** (1987a). Temporal changes in aggregation: a laboratory study. *Parasitology*, 94: 583-595.
- [132] **Scott M.E.** (1987b). Regulation of mouse colony abundance by *Heligmosomoides polygyrus*. *Parasitology*, 95: 111-124.
- [133] **Scott M.E., Dobson A.** (1989). The role of parasites in regulating host abundance. *Parasitology Today*, 5: 176-183.
- [134] **Selby B.** (1965). The index of dispersion as a test statistic. *Biometrika Trust*, 52: 627-629.
- [135] **Shaw D.J., Dobson A.P.** (1995). Patterns of macroparasite abundance and aggregation in wildlife populations: a quantitative review. *Parasitology*, 111: S111-S127.
- [136] **Shostak A.W., Dick T.A.** (1987). Individual variability in reproductive success of *Triaenophorus crassus* Forel (Cestoda: Pseudophyllidea), with comments on use of the Lorenz curve and Gini coefficient. *Canadian Journal of Zoology*, 65: 2878-2885.
- [137] **Shostak A.W., Scott M.E.** (1993). Detection of density-dependent growth and fecundity of helminths in natural infections. *Parasitology*, 106: 527-539.
- [138] **Smith G.** (1994). So you want to write a model. In: Scott M.E., Smith G. Parasitic and infectious diseases: epidemiology and ecology. Academic Press, New York.
- [139] **Smith G., Grenfell B.T.** (1994). Modelling of parasite populations: gastrointestinal nematode models. *Veterinary Parasitology*, 54: 127-143.
- [140] **Smith G., Guerrero J.** (1993). Mathematical models for the population biology of *Ostertagia ostertagi* and the significance of aggregated parasite distributions. *Veterinary Parasitology*, 46: 243-257.
- [141] **Smith H.J.** (1976). Strongyle infections in ponies. II. Reinfection of treated animals. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 40: 334-340.

- [142] **Soulsby E.J.L.** (1987). The evasion of the immune response and immunological unresponsiveness: parasitic helminth infections. *Immunology Letters*, 16: 315-320.
- [143] **Stenseth N.C., Maynard Smith J.** (1984). Coevolution in ecosystems: red queen evolution or stasis? *Evolution*, 38: 870-880.
- [144] **Sun P., Hughes G.** (1994). On a statistical test to detect spatial pattern. *Biometrical Journal*, 36: 751-758.
- [145] **Szalai A.J., Dick T.A.** (1989). Differences in numbers and inequalities in mass and fecundity during the egg-producing period for *Raphidascaris acus* (Nematoda: Anisakidae). *Parasitology*, 98: 489-495.
- [146] **Taylor L.R.** (1961). Aggregation, variance and the mean. *Nature*, 189: 732-735.
- [147] **Taylor L.R.** (1970). Aggregation and the transformation of counts of *Aphis fabae* Scop. on beans. *Annals of Applied Biology*, 65: 181-189.
- [148] **Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L.** (2010). Parassitologia e malattie parassitarie degli animali. EMSI, Roma.
- [149] **Trentini A.** (A.A. 2008/09). Elminti intestinali dell'asino (*Equus asinus*): aspetti epidemiologici, ecologici e tassonomici. *Tesi di laurea dell'Università di Bologna*.
- [150] **Uhlinger C.A.** (2007). Evidence-based parasitology in horses. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 23: 509-517.
- [151] **Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M., Jennings F.W.** (1998). Parassitologia Veterinaria. UTET, Torino.
- [152] **Van Halen L.** (1973) A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, 1: 1-30.
- [153] **Vercruysse J., Harris E.A., Kaboret Y.Y., Pangui L.J., Gibson D.I.** (1986). Gastro-intestinal helminths of donkeys in Burkina Faso. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 72: 821-825.
- [154] **Wells D., Krecek R.C., Wells M., Guthrie A.J., Lourens J.C.** (1998). Helminth levels of working donkeys kept under different management

- systems in the Moretele 1 district of the North-West Province, South Africa. *Veterinary Parasitology*, 77: 163-177.
- [155] **White K.A.J., Grenfell B.T., Hendry R.J., Lejeune O., Murray J.D.** (1996). Effect of seasonal host reproduction on host-macroparasite dynamics. *Mathematical Biosciences*, 137: 79-99.
- [156] **Wilson K., Bjørnstad O.N., Dobson A.P., Merler S., Pogliayen G., Randolph S.E., Read A.F., Skorpung A.** (2001). Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. In: Hudson P.J., Rizzoli A., Grenfell B.T., Heesterbeek H., Dobson A.P. *The ecology of wildlife diseases*. Oxford University Press.
- [157] **Wilson K., Grenfell B.T.** (1997). Generalized linear modelling for parasitologists. *Parasitology Today*, 13: 33-38.
- [158] **Woolhouse M.E.J.** (1992). A theoretical framework for the immunoepidemiology of helminth infection. *Parasite Immunology*, 14: 563-578.
- [159] **Woolhouse M.E.J.** (1998). Patterns in parasite epidemiology: the peak shift. *Parasitology Today*, 14: 428-434.
- [160] **Woolhouse M.E., Dye C., Etard J.F., Smith T., Charlwood J.D., Garnett G.P., Hagan P., Hii J.L., Ndhlovu P.D., Quinnell R.J., Watts C.H., Chandiwana S.K., Anderson R.M.** (1997). Heterogeneities in the transmission of infectious agents: implications for the design of control programs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 94:338-342.

La mia gratitudine va prima di tutto alla mia tutor Laura, persona di grandissima intelligenza, cultura, umanità e che possiede il raro dono della trasmissione del sapere. Mi ha insegnato tantissimo, trasmettendomi la sua autentica passione. Grazie a lei l'esperienza del dottorato è stata davvero formativa e arricchente.

Grazie infinite Laura per avermi aiutato a raggiungere questo traguardo.

Grazie al mio Antonio, l'uomo migliore del mondo, che da undici anni si prende cura di me e che soprattutto durante il mio dottorato mi è stato vicino, incoraggiandomi e aiutandomi in tutti i modi possibili. Senza di lui non ce l'avrei mai fatta, senza di lui mi sentirei persa.

Grazie alla mia meravigliosa famiglia, i miei genitori e i miei fratelli, di cui sono immensamente orgogliosa. Grazie a loro ho potuto vivere in un ambiente sereno e pieno di stimoli, imparando i valori della solidarietà e dell'altruismo.

Grazie ad Andrea e Giuseppe, con cui ho avuto la fortuna di lavorare in un clima di amicizia, solidarietà e stima reciproca.

Grazie a Danilo e Lapo, due veri talenti di cui sono orgogliosamente amica. In questi anni la loro vicinanza e il loro incoraggiamento sono stati preziosissimi. Tra le cose belle che ho trovato a Bologna, loro sono ai primi posti.

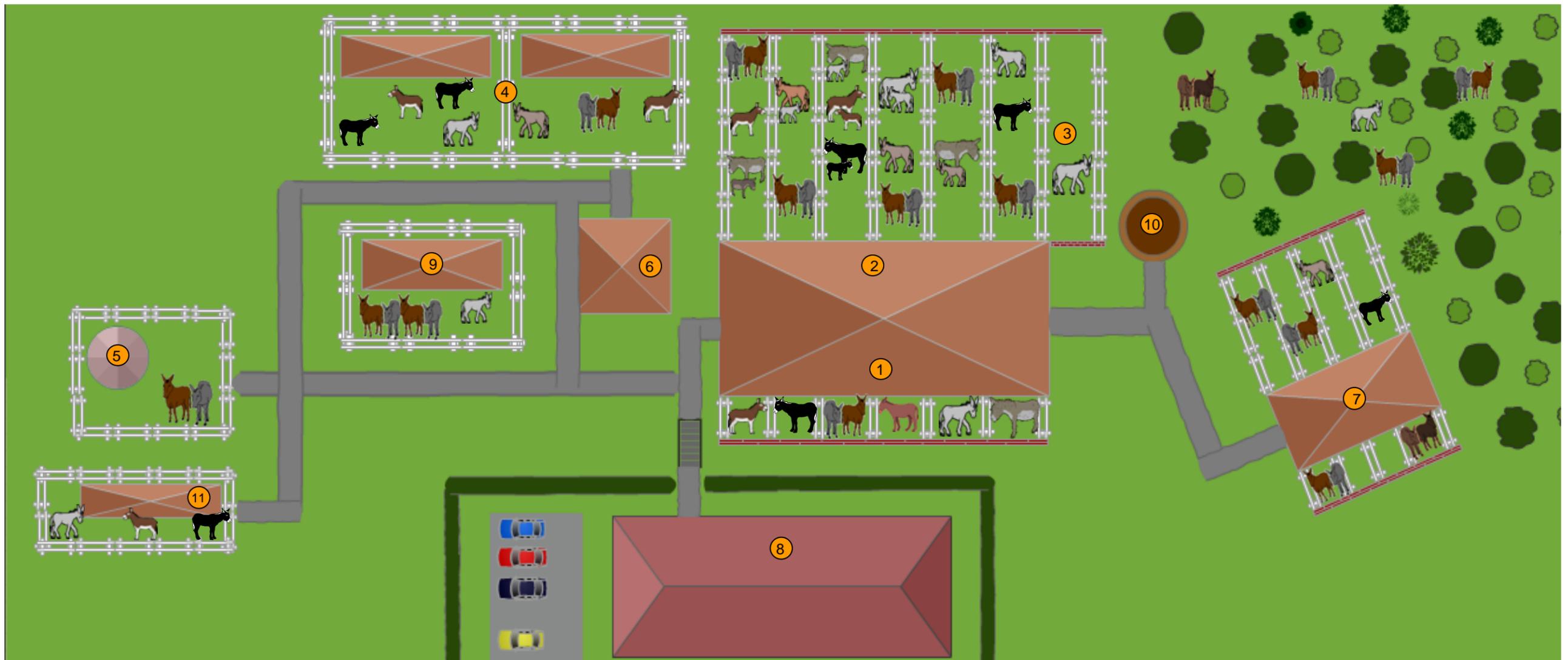
Grazie ad Alessia, la mia maestra di vita di cui sarò in eterno discepolo devota. È una delle persone più intelligenti e generose che conosca e le voglio un gran bene. In questi anni mi è stata vicina, incoraggiandomi sempre e rincuorandomi con le sue pillole di saggezza e delle mangiate indimenticabili.

“Questo è il motivo per il quale la nostra natura antica era così e noi eravamo tutti interi: e il nome d'amore dunque è dato per il desiderio e l'aspirazione all'intero”

Simposio, Platone

Allegato 1. Pianta dell'allevamento Montebaducco

da Trentini (A.A. 2008/09)



1. Stalla bassa con box esterni in cui sono stabulati: gestanti, madri con puledro, puledri lattanti, stalloni e asine in lattazione
2. Stalla alta con paddock esterni in cui sono stabulati: gestanti, madri con puledro, puledri lattanti, stalloni e asine in lattazione
3. Stalla adiacente al sito 2 in cui sono stabulati asini di razza sarda
4. Paddock esterni in cui sono stabulati puledri
5. Paddock esterno in cui sono stabulati stalloni e asine in riproduzione
6. Sala mungitura
7. Paddock esterno in cui sono stabulati stalloni e asine in riproduzione
8. Agriturismo
9. Paddock esterno in cui sono stabulati i puledri
10. Concimaia
11. Stalla esterna in cui sono stabulati asini di razza sarda