



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



**L'ATTIVITÀ DI RICERCA CORRENTE
PRESSO L'IZS LAZIO E TOSCANA:
PRINCIPALI RISULTATI E LORO
TRASFERIBILITA' OPERATIVA**

**Valutazione di parametri sanitari e di benessere
durante la fase di inserimento in canile**

Dott.ssa O. Lai, Dott.ssa M. Scarpulla, Dott. D. Deni, Dott.ssa L. Maragliano

Roma 21 Giugno 2018





Canile sanitario: struttura pubblica (ASL) con funzioni prettamente sanitarie; anagrafe canina; microchip; vaccinazioni; eventuali terapie

Canile rifugio: destinata a ospitare cani per periodi molto lunghi (mancate adozioni) ➡ struttura «problema»

➡ **Sovraffollamento**

Mancanza di personale specializzato



Notevoli problemi di carattere organizzativo e gestionale

Scarso/nessun controllo sul benessere psico-fisico dei cani ospitati nei canili



Dopo l'abbandono e la cattura.....

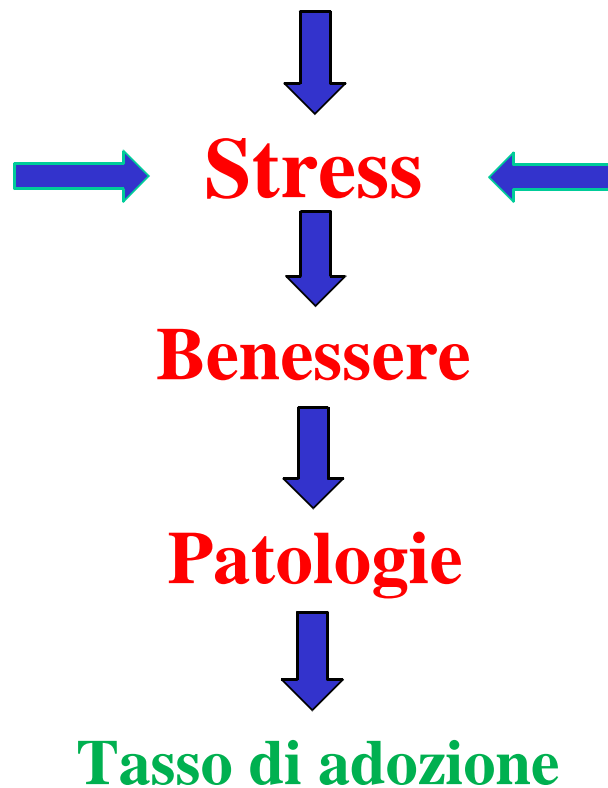
Permanenza in canile

Esposizione a stimoli diversi

AMBIENTE



Restrizione spaziale e sociale
Perdita abitudini familiari
Rumore
Alterazione luce-buio
Cambio dieta



UOMO



Perdita del rapporto con l'uomo
Qualità e frequenza della relazione
Mancanza riferimenti





Benessere animale: “Lo stato di un individuo per quanto concerne i suoi tentativi di adattarsi all’ambiente” (Broom D.M. and Johnson K.G. 1993)

Variable quantitativa

Agenti Stressanti → **Alterazione dell’Omeostasi**

**Risposte adattative
neuro-endocrine e comportamentali**

Cambiamento funzioni biologiche

Stati pre-patologici e patologie conclamate





Obiettivo del progetto

Identificare parametri indicatori di stress oggettivi e «robusti» utili a valutare in modo attendibile il grado di welfare nei cani oggetto di studio.



Valutazione di una serie di parametri immunitari utili a indicare l'adattamento dei cani al canile.



L'approccio «immunologico» è fondamentalmente «robusto»

- **Non risente in linea generale delle alterazioni legate alle manualità di prelievo dei campioni.**
- **Si basa su parametri oggettivabili e non su giudizi soggettivi, come i parametri comportamentali.**
- **Non richiede tempi prolungati di osservazione come i parametri comportamentali.**
- **Non richiede l'impiego prolungato di personale specializzato.**
- **Fornisce dati predittivi sulla possibile evoluzione di condizioni di scarso benessere verso patologie conclamate.**



Metodologia

Fase preliminare: indagine conoscitiva dei canili della Provincia di Roma e di Arezzo, mediante la compilazione di schede informative.

Selezione di tre canili : sopralluoghi con compilazione schede informative di tipo gestionale e sanitario, compresi parametri animal based.

Esclusione di un canile per sopraggiunti ostacoli organizzativi interni alla sua gestione

Costituzione di un gruppo di 12 soggetti sani (campione) in entrambi i canili.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Schede rilevamento dati

Canile				
Ubicazione				
Tipologia				
N° totale cani				
N° addetti animali				
Veterinari n. e ore settimanali presenza				
Razze preponderanti				
Cuccioli (0-9 mesi)		Femmine adulte intere	Maschi adulti interi	Sterilizzate
				Castrati
Situazione sanitaria				
Problemi più frequenti				
Traumi				
Vaccinazioni:		Protocollo cuccioli		Protocollo adulti
Trattamenti antiparassitari		Ectoparassiti		≤ No ≤ Sì Prodotti..... Frequenza.....
		Endoparassiti		≤ No ≤ Sì Prodotti..... Frequenza.....





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Schede rilevamento dati

	Stabulazione 1 N° cani	Stabulazione 2 N° cani	Stabulazione 3 N° cani
N° disponibili			
N° effettivi			
Superficie libera/n. cani			
Rapporto interno/esterno			
Disposizione brandine/cucce			
Arricchimenti			
Disposizione acqua			
N. controlli quotidiani			
Quantità e tipo rapporti con l'uomo			
Esperienza personale			
Motivazione personale			
Alimentazione			
Frequenza somm.			
Uscite			
Frequenza			
Guinzaglio/superficie a disposizione			
Illuminazione artificiale			
Ombra (escluse tettoie ricoveri)			
Frequenza pulizia			
Modalità adozioni			
Quantità adozioni			



Schede predisposte per ogni soggetto:

- Genere
- Età
- Razza
- Stress alla cattura
- Comportamento interspecifico (interazione con l'uomo alla prima visita)



I soggetti sono stati monitorati dal momento dell'arrivo nel canile sanitario fino a 8 settimane di permanenza.

Calendario prelievi:

- 1° prelievo di sangue entro i primi 3 giorni dall'arrivo.
- 2° dopo una settimana (7° - 9° gg)
- Prelievo settimanale per 2 mesi





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Si invia il sangue con e senza anticoagulante del cane:

MICROCHIP.....

SESSO: M F STERILIZZATO/CASTRATO SI

NO
RAZZA.....

METICCIO.....

ETA'..... TAGLIA.....

DATA PRELIEVO.....TEMPO 1 2 3 4 5 6 7 8

ANAMNESI REMOTA (se presente):

CATTURA : STRESS SI NO AN

AMNESI AMBIENTALE ATTUALE :

TIPOLOGIA BOX.....

NUMERO DI ANIMALI CONVIVENTI.....

ANAMNESI COMPORTAMENTALE:

COMPORTAMENTO CON ALTRI ANIMALI: PAUROSIO INDIFFERENTE AGGRESSIVO SOCIEVOLE

COMPORTAMENTO CON PERSONE: PAUROSIO INDIFFERENTE AGGRESSIVO SOCIEVOLE

ANALISI:

sangue intero : EMOCROMO con FORMULA, CD4, CD8

siero : AST, ALT, AZOTO UREICO, CREATININA, PROTEINE TOTALI
, APTOGLOBINA, LISOZIMA, ATTIVITA' DEL COMPLEMENTO, ZINCO



Indicatori ematologici chimico-clinici ed immunologici di benessere animale

Parametri sanitari: IgG anti-Ehrlichia canis, IgG anti-Leishmania infantum, emoparassiti ed esame parassitologico delle feci.

Profilo metabolico di base
AST (U/l), ALT (U/l), proteine totali (g/dl), azoto ureico (mg/dl) creatinina (mg/dl).

Radicali liberi
Antiossidanti (OXY)

Emocromo
Formula leucocitaria:
Neutrofili
Linfociti
Monociti
Eosinofili
Basofili

Immunità aspecifica
Lisozioma
Aptoglobina
Complemento emolitico

Immunità specifica
Linfociti
CD4/CD8

Analisi statistica: modello di regressione ad effetti misti con errori robusti (STATA 14.2).
Andamento dei parametri nel tempo considerando i prelievi come effetto fisso e il cane come effetto random.
Un p value <0.05 è stato considerato statisticamente significativo.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

CANILE A

Superficie di circa 30.000 m² per 400 box

Personale: 50-60 unità per 700 cani



Canile sanitario: 80 box

Area interna box (2.6 m²) dotata di rete metallica: contatto visivo, olfattivo ed uditivo con gli ospiti dei box di fronte.

Area esterna box (3.6 m²) delimitata dagli altri box da recinzione in rete.

Recinto comune di sgambamento di 114 m² cui affluiscono 10 box.

Canile rifugio: 160+160 box

Stessa disposizione dei box del canile sanitario ma superficie con pianta raddoppiata.





CANILE A



- Cuccie e/o brandine, ciotola dell'acqua, con arricchimenti ambientali nell'area esterna.
- Alcuni box consentono una comunicazione intraspecifica grazie all'apertura di un pannello che favorisce il contatto e l'interazione fra soggetti di indole non aggressiva.
- La pulizia dei box è quotidiana ed effettuata anche più volte al giorno.
- I cani escono tutti i giorni, almeno durante la pulizia dei box e sono controllati almeno due volte al giorno ove situazioni particolari non richiedano una maggior frequenza.
- L'alimento somministrato da 1 a 3 volte al giorno a seconda dell'età e dello stato sanitario del soggetto.
- Nel canile rifugio: anche diete personalizzate per soggetti con problemi di varia natura.

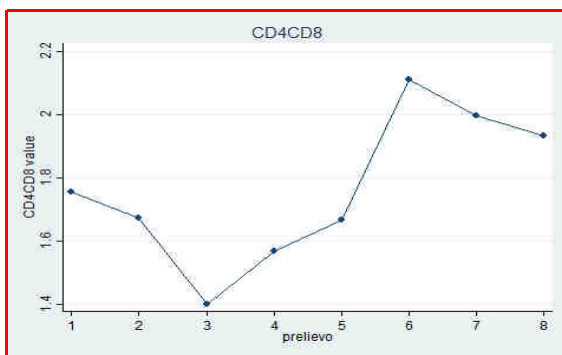


Andamento temporale nel canile A

Leucociti, linfociti, e neutrofili
conservano un valore fisiologico per tutto
il periodo di osservazione

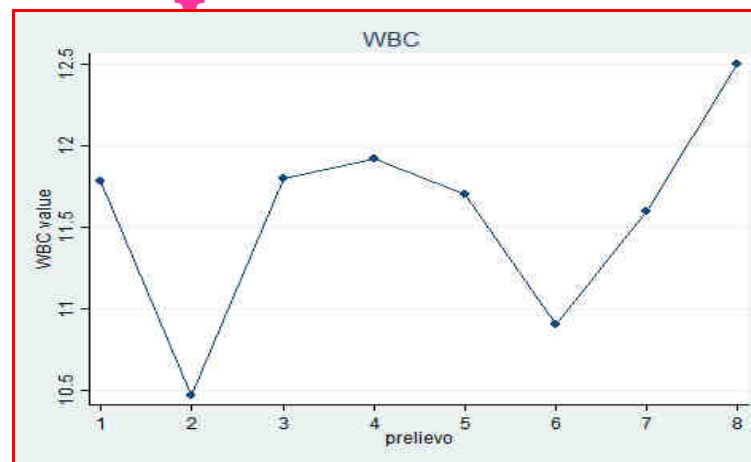


$1 - 4.8 \times 10^3/\mu\text{l}$

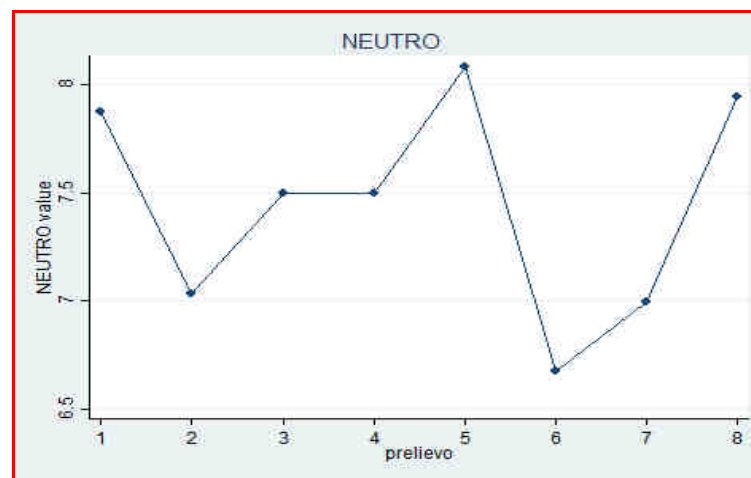


ratio 1,7

RISULTAT



$6 - 14.5 \times 10^3/\mu\text{l}$

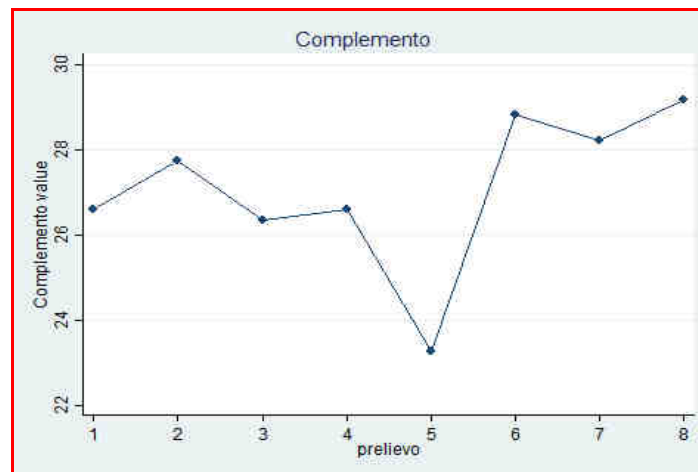


$3 - 11 \times 10^3/\mu\text{l}$



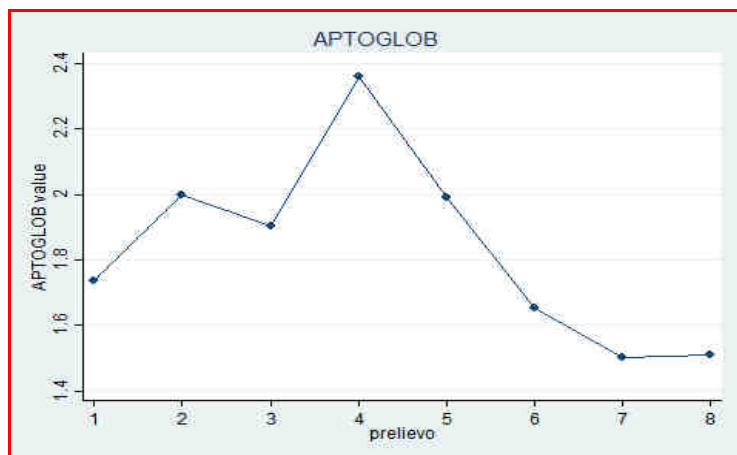
RISULTAT

Attività del complemento
ha evidenziato valori inferiori al
range di specie.



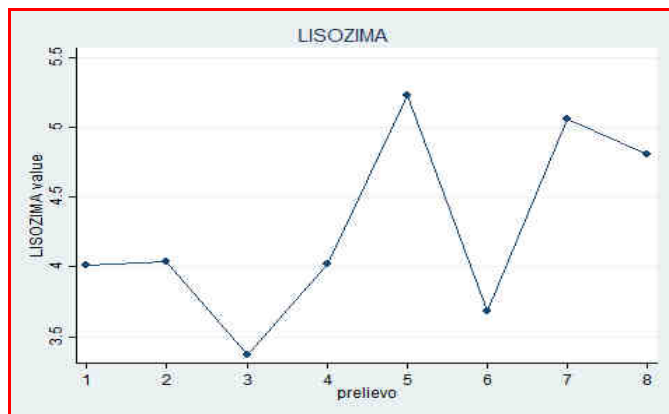
> 30 CH50/150 µl

Aptoglobina: Glicoproteina sintetizzata
dal fegato con valore diagnostico
predittivo. Al di sopra del range per
tutto il periodo di studio



0.01- 1 mg/ml

Lisozima: al di sopra
del range di specie

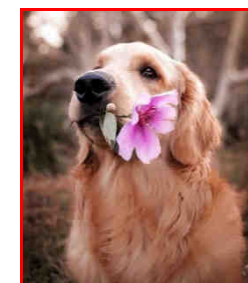
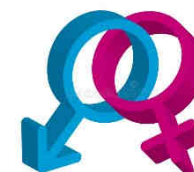
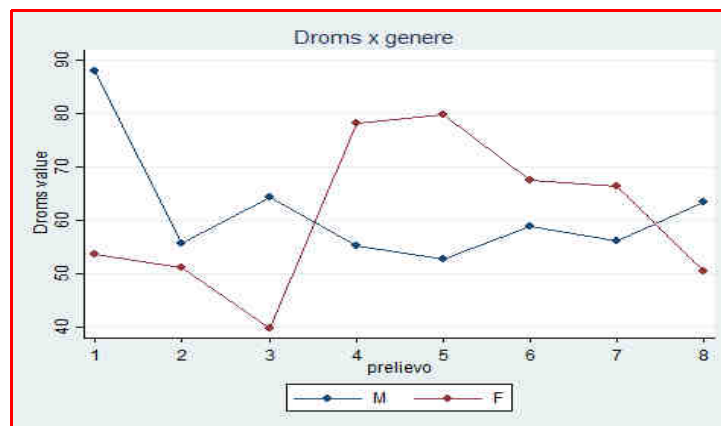
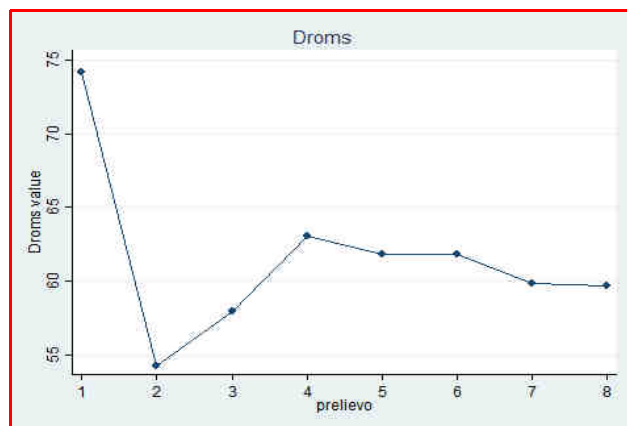


1 – 3 µg/ml

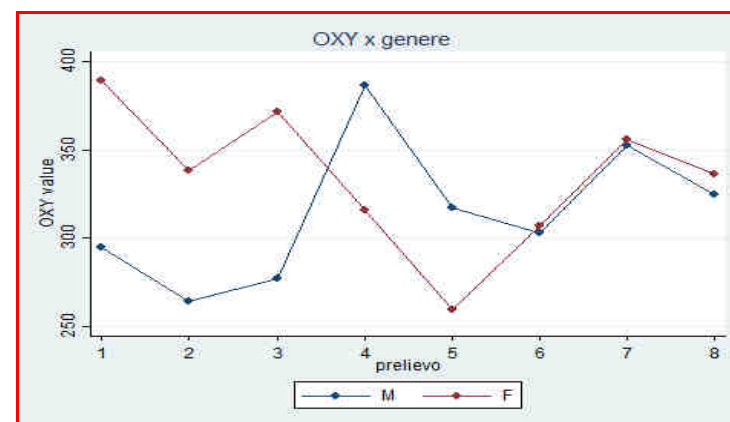
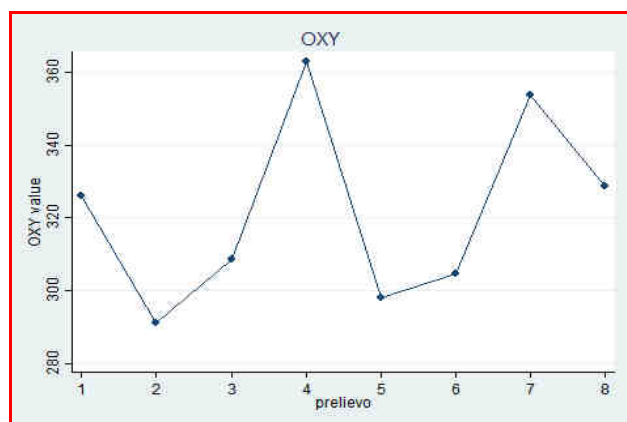


Stress ossidativo

Andamento temporale

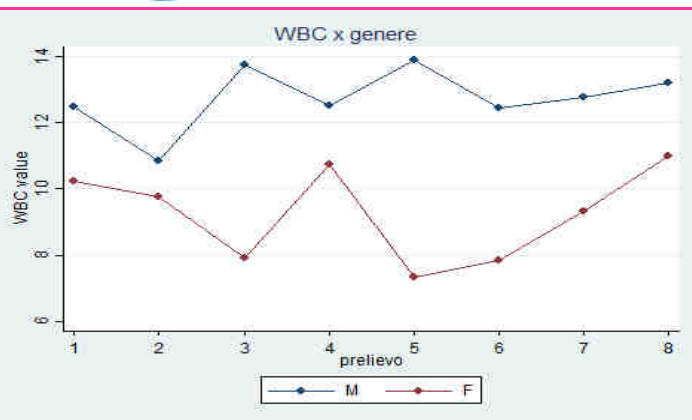


56-91 U.CARR



>350 $\mu\text{mol HClO/l}$

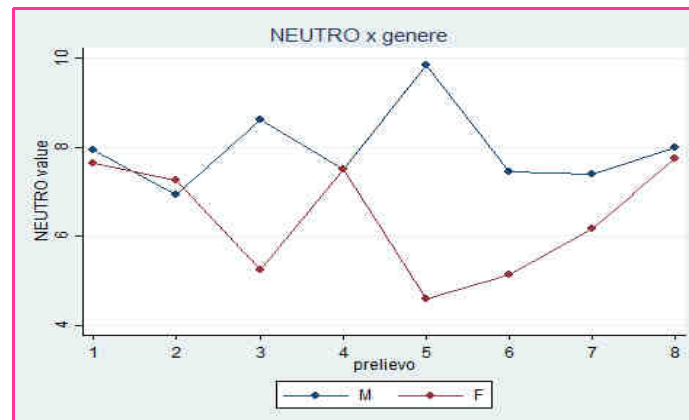




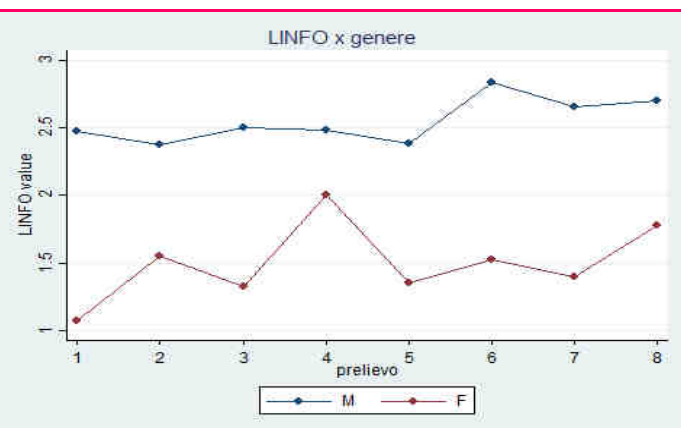
6 – 14.5 x 10³/μl

Neutrofili: differenze
significative al 5 e 6
prelievo

WBC Nei maschi valori
e trend sempre
superiore rispetto alle
femmine



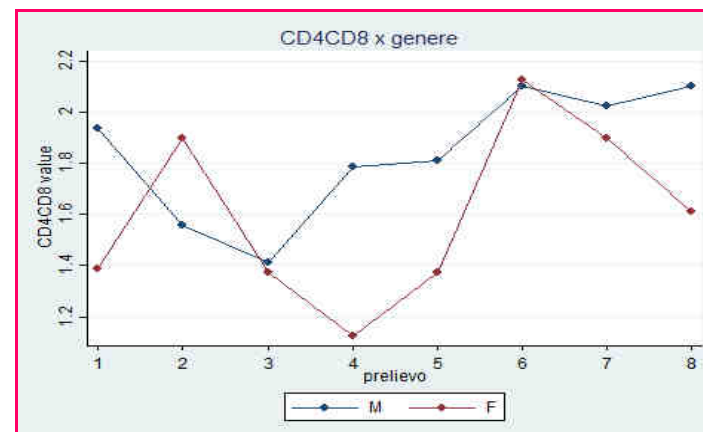
p value <0.05 3 – 11 x 10³/μl



p value <0.05 1 – 4.8 x 10³/μl

Linfociti: Valori dei
maschi sempre
significativamente
superiori a quelli delle
femmine

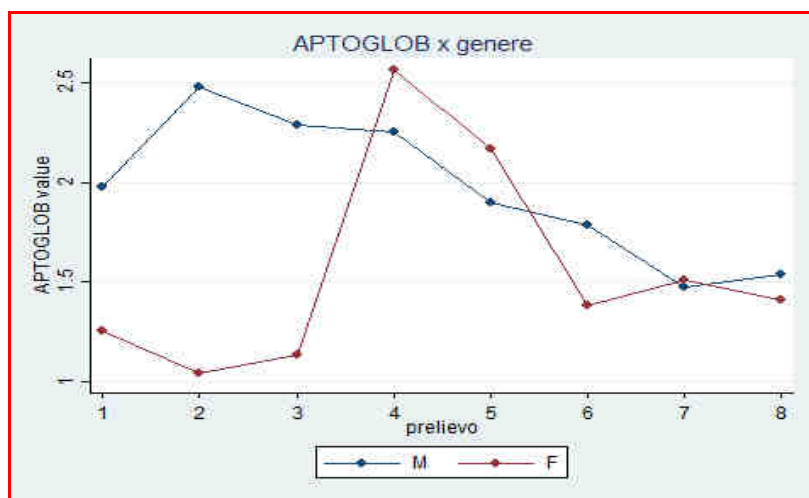
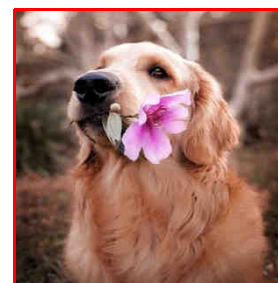
CD4/CD8: differenze
significative al
prelievo 1 e 4



ratio 1,7 p value <0.05

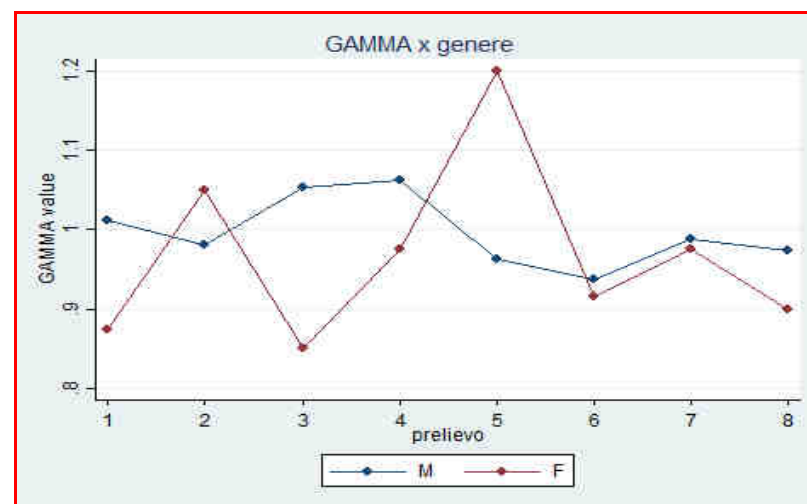


Tra maschi e femmine canile A



p value <0.05

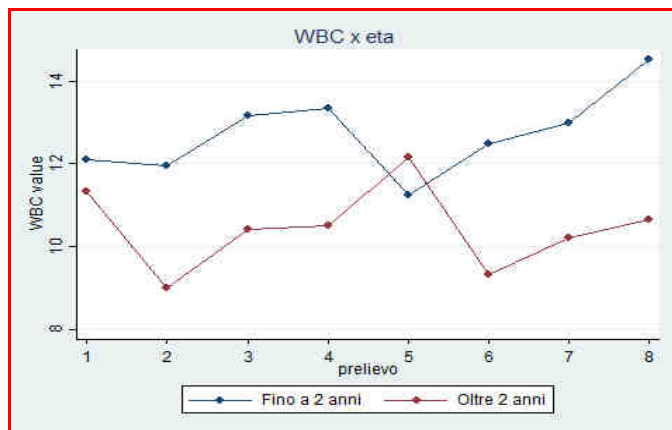
0.01- 1 mg/ml



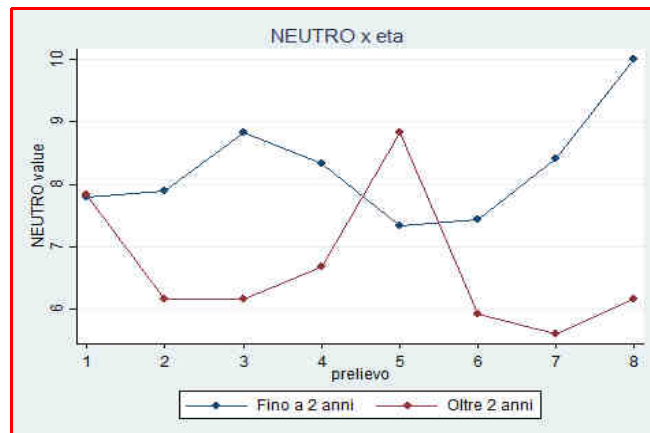
0,4 - 1 mg/dl



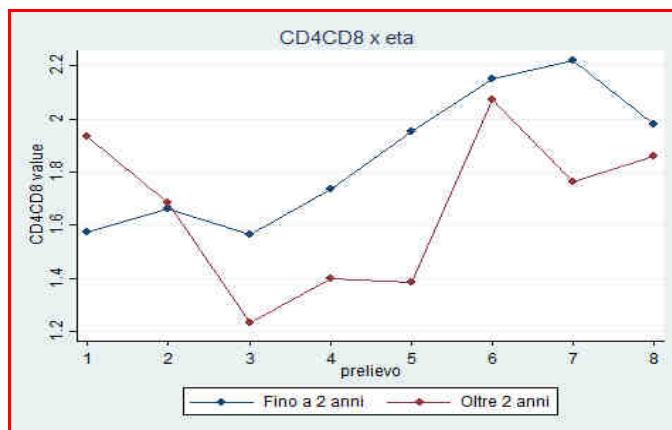
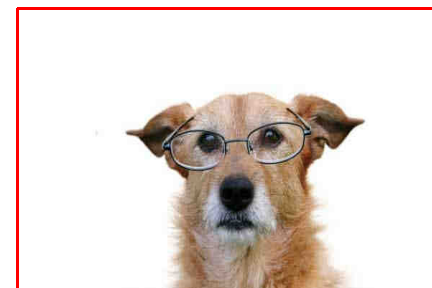
Tra giovani e adulti nel canile A



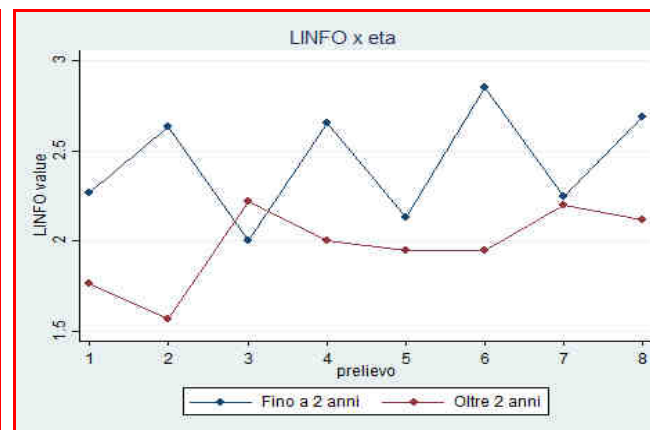
6 – 14.5 x 10³/μl



3 – 11 x 10³/μl



Ratio 1,7



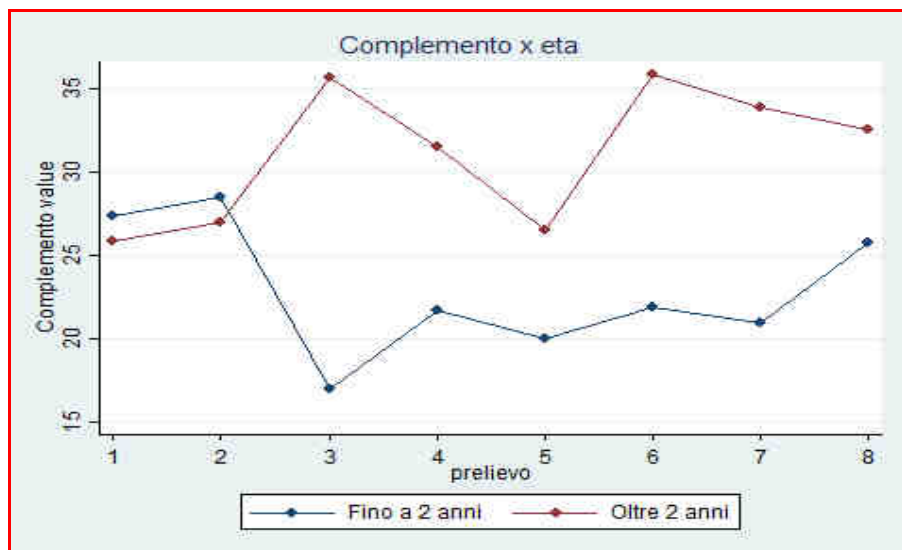
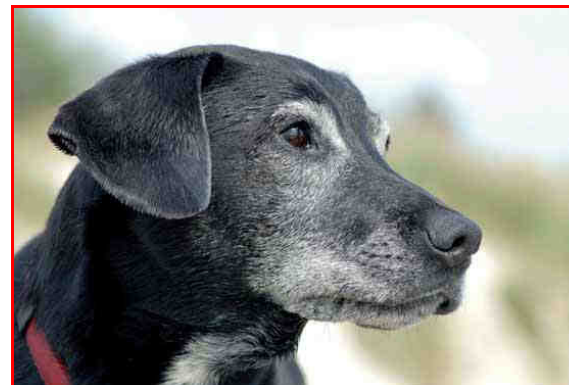
1 – 4.8 x 10³/μl

Nei cani più anziani:
WBC, linfociti,
neutrofili, CD8/CD8
inferiori



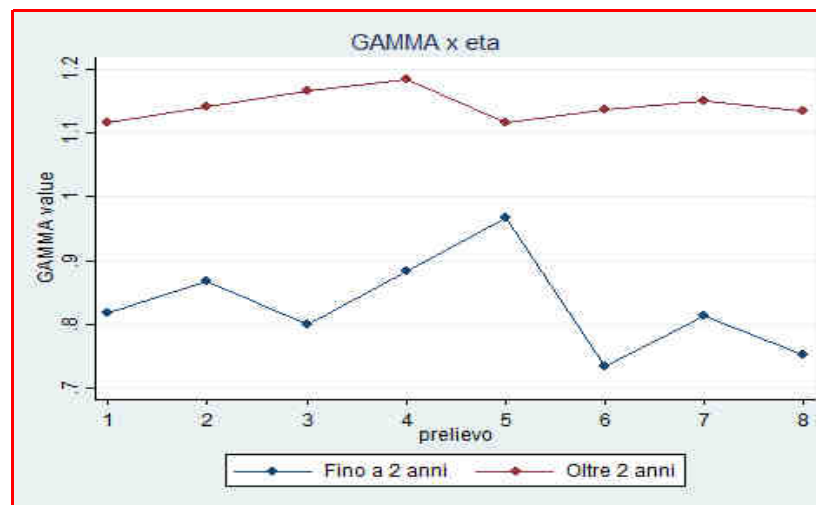
Tra giovani e adulti nel canile A

Nei cani più anziani: complemento è risultato significativamente aumentato



p value <0.05

> 30 CH50/150 µl

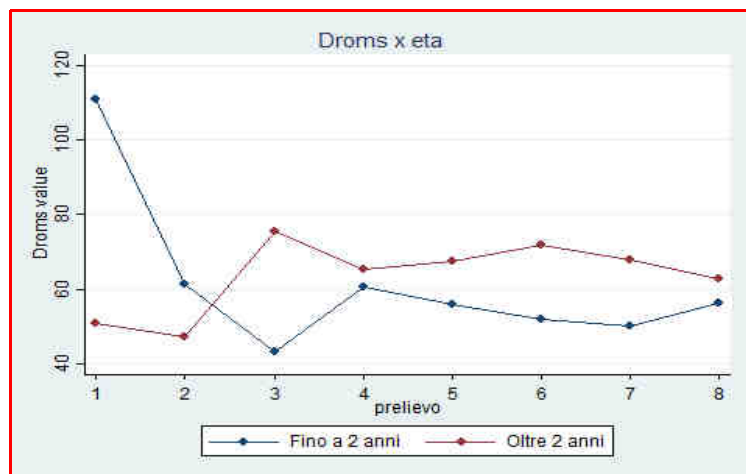


0,4 - 1 mg/dl

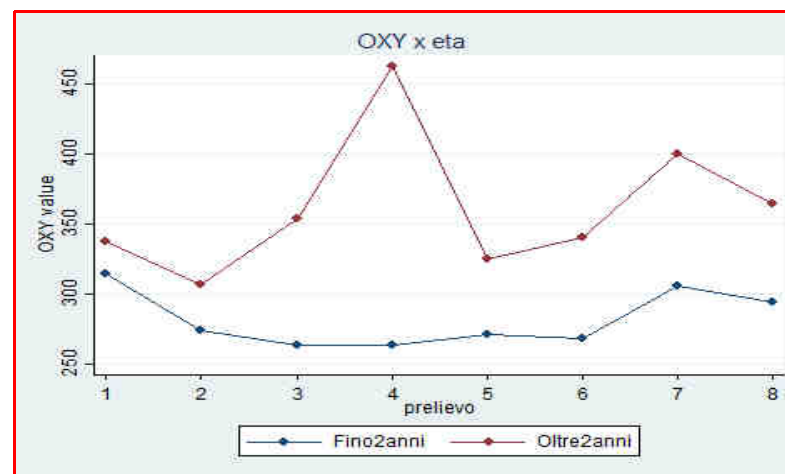


Stress ossidativo

Nei cani più anziani: Radicali liberi e capacità antiossidante superiori



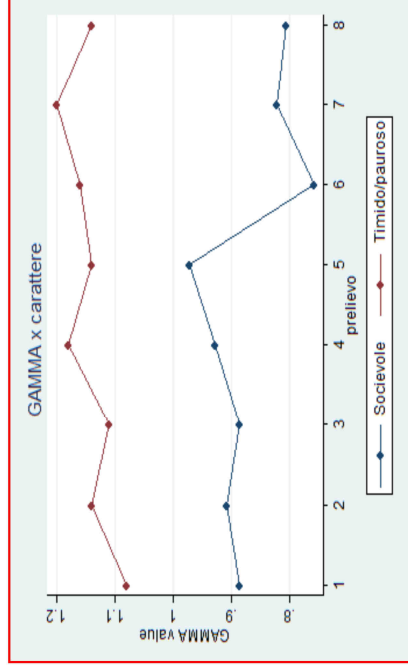
56-91 U.CARR



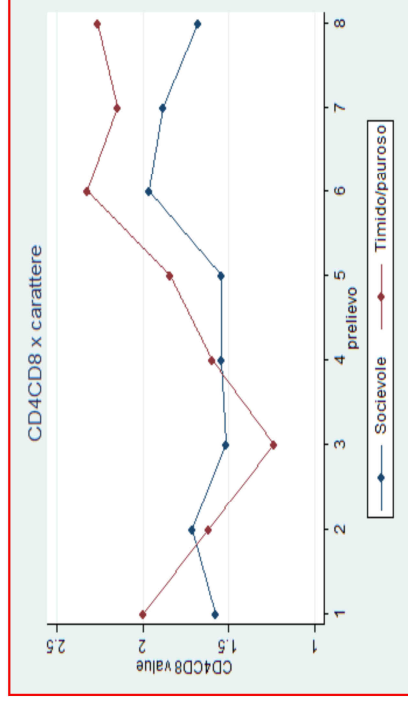
>350 $\mu\text{mol HClO/l}$



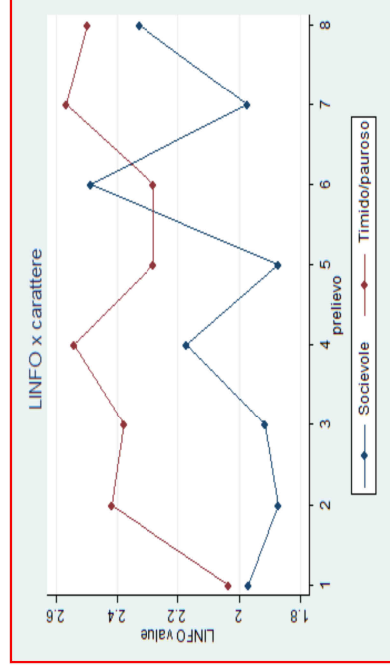
Rilievi caratteriali



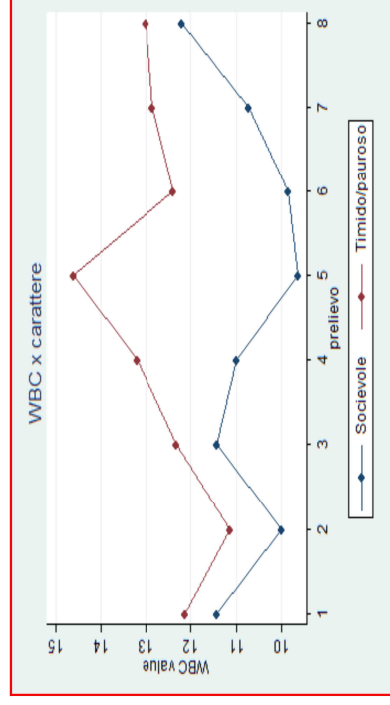
0,4 - 1 mg/dl



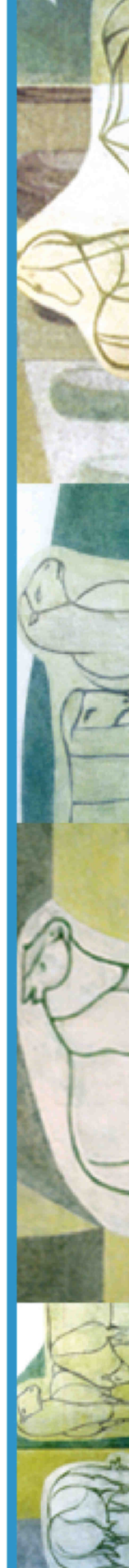
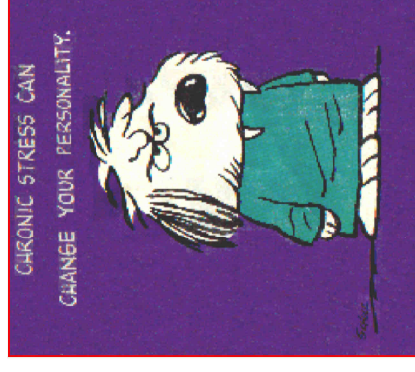
Ratio 1,7



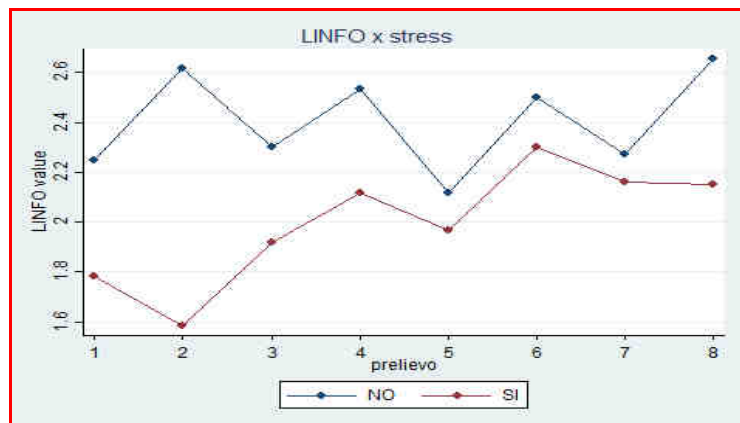
1 - 4.8 x 10³/μl



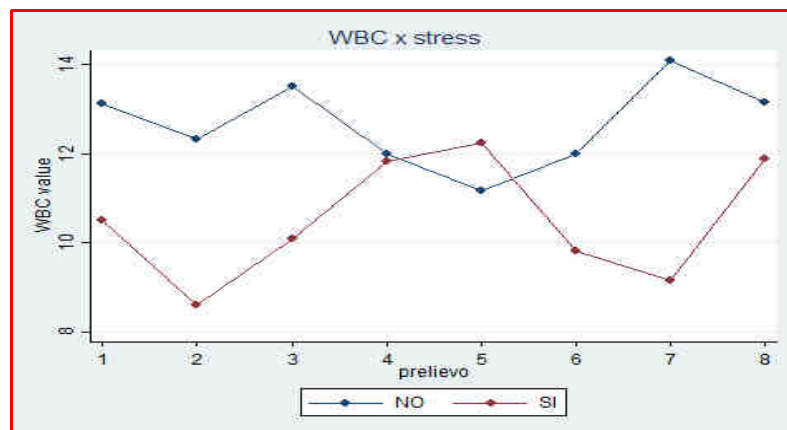
6 - 14.5 x 10³/μl



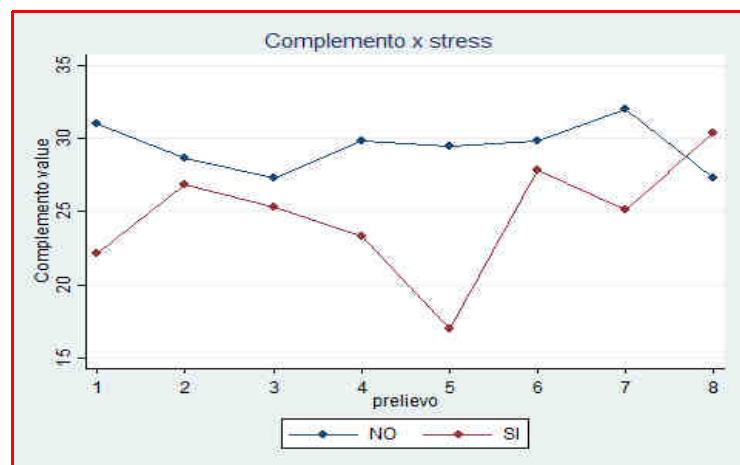
Stress alla cattura



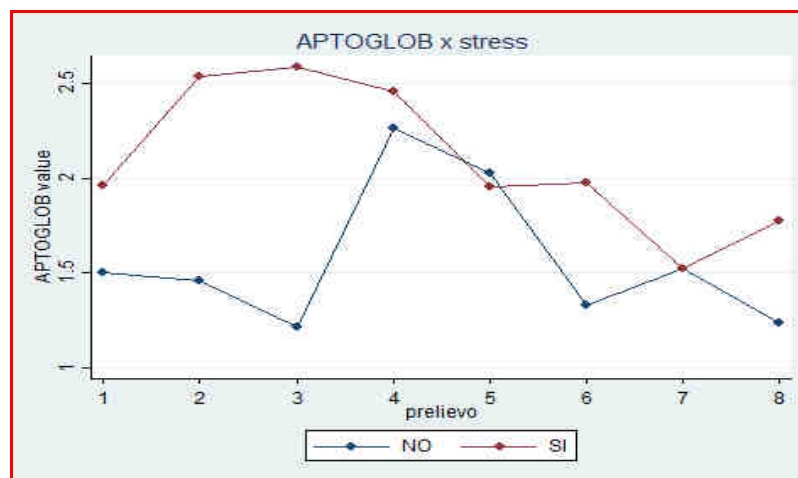
1 – 4.8 x 10³/μl



6 – 14.5 x 10³/μl



> 30 CH50/150 μl



0.01- 1 mg/ml





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

CANILE B

Superficie di circa 20.000 m² per 3 capannoni di 250 m². Ogni capannone è costituito da 2 file di 14 box.

Personale: 5 unità per n° 150 cani



Canile rifugio



La parte interna dei box (oltre 8 mq) fornisce al cane spazio chiuso ed aperto. Nella parte interna dei box ci sono cuccie e/o brandine e la ciotola dell'acqua. La pulizia dei box è quotidiana e, ove necessario, effettuata anche più volte al giorno. 2 aree di sgambatura comune a prato inglese in cui il cane viene immesso, mattina e sera. Consumano 2 pasti al giorno.

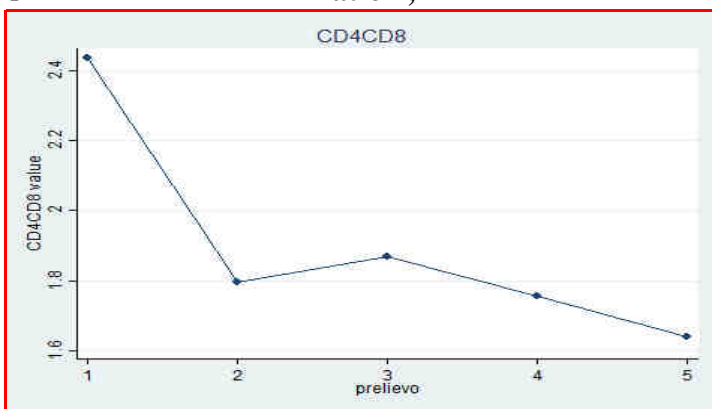


Andamento temporale nel canile B

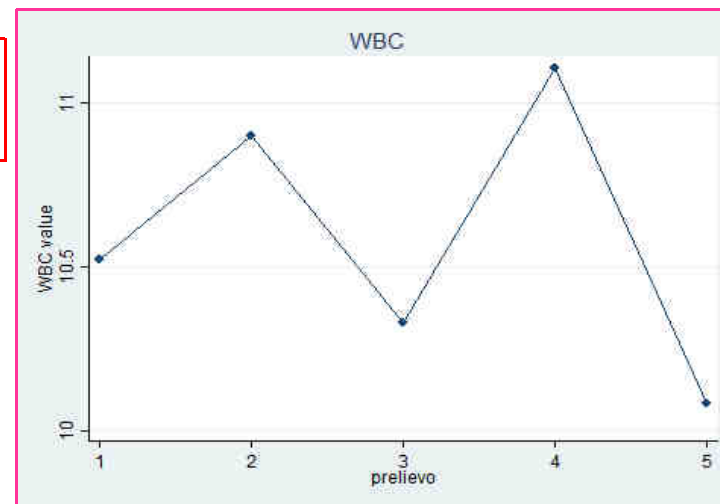
Leucociti, linfociti e neutrofili conservano un valore fisiologico per tutto il periodo di osservazione

p value <0.05

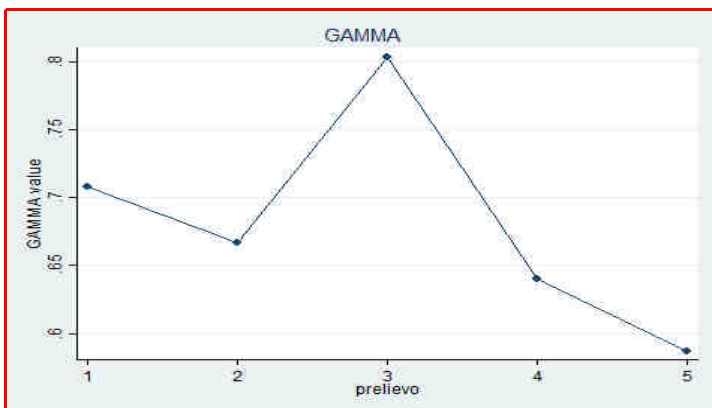
Ratio 1,7



CD4/CD8: valore iniziale elevato con decremento significativo nei prelievi successivi.



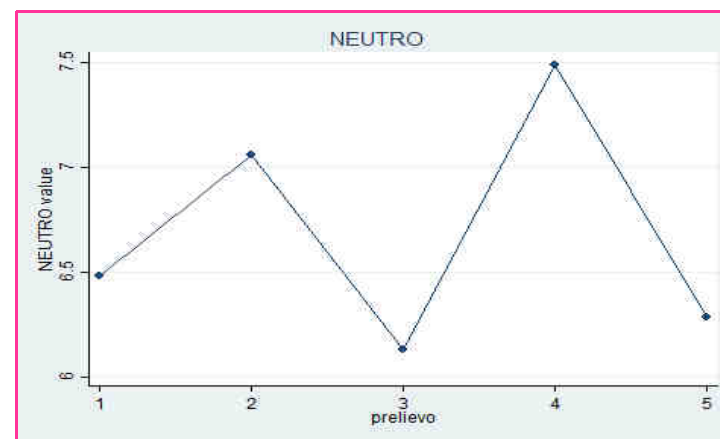
6 – 14.5 x 10³/μl



p value <0.05

0,4 - 1 mg/dl

Y-globuline: valori fisiologici con diminuzione significativa negli ultimi due prelievi

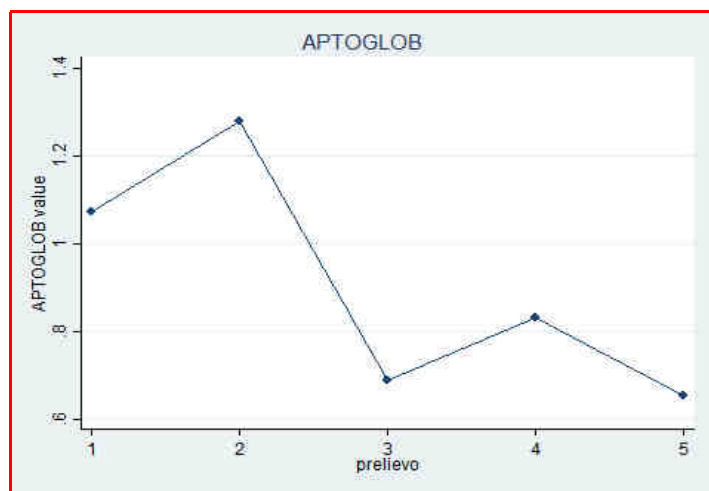


3 – 11 x 10³/μl



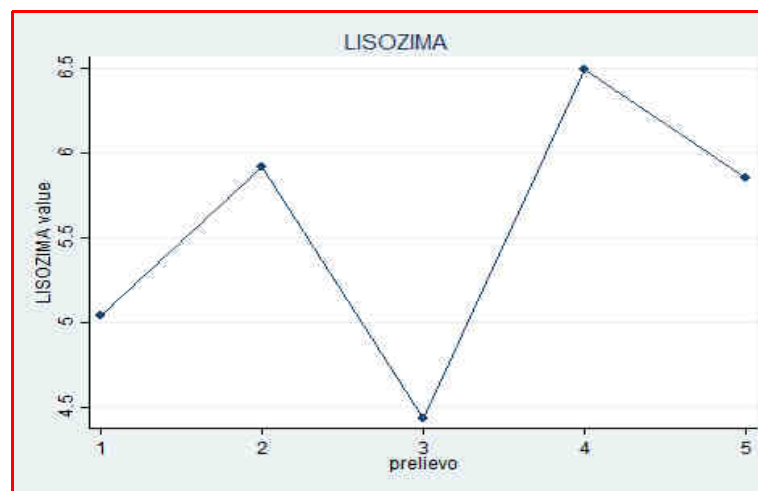
Andamento temporale nel canile B

Lisozima e Aptoglobina : al di sopra del range fisiologico.



p value <0.05

0.01- 1 mg/ml

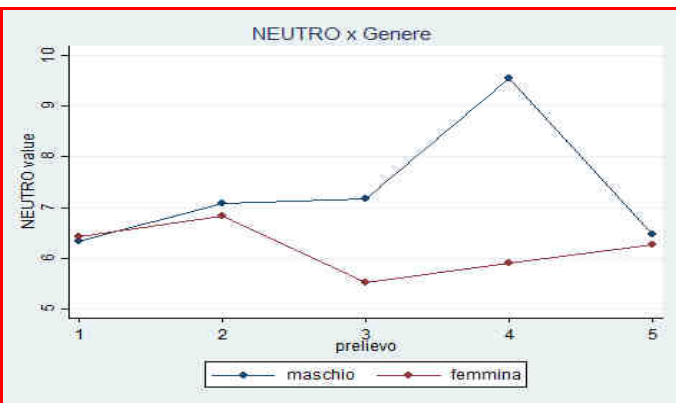


p value <0.05

1 – 3 µg/ml



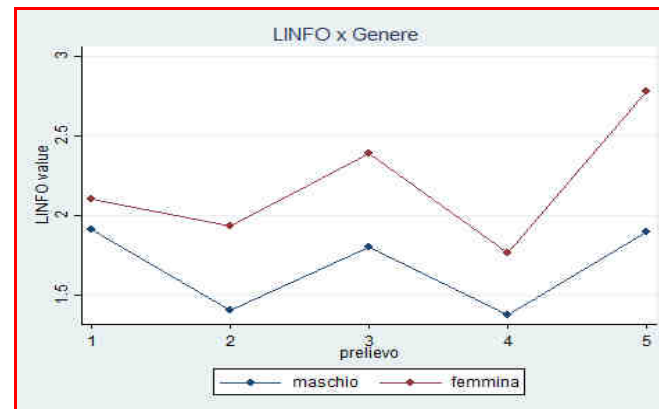
Tra maschi e femmine nel canile B



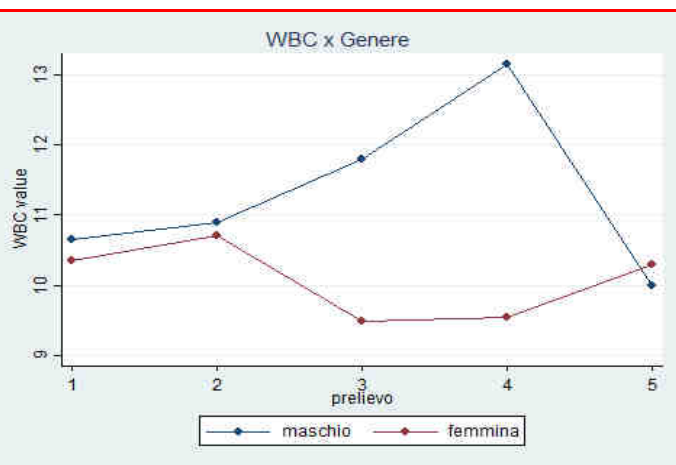
3 – 11 x 10³/μl

Neutrofili e WBC: i maschi dimostrano un trend sempre superiore a quello delle femmine

Linfociti: i valori delle femmine sono significativamente superiori all'ultimo prelievo

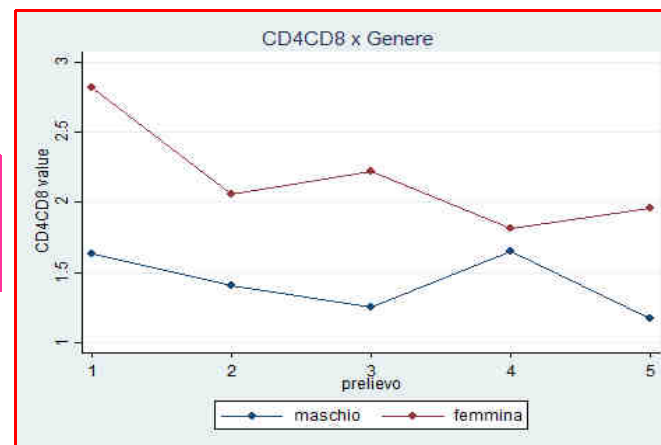


1 – 4.8 x 10³/μl p value <0.05



6 – 14.5 x 10³/μl p value <0.05

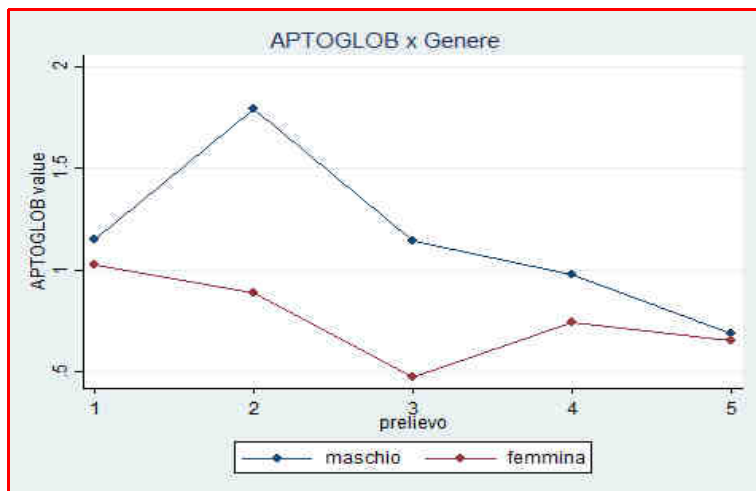
CD4/CD8: valori delle femmine significativamente superiori



ratio 1,7 p value <0.05

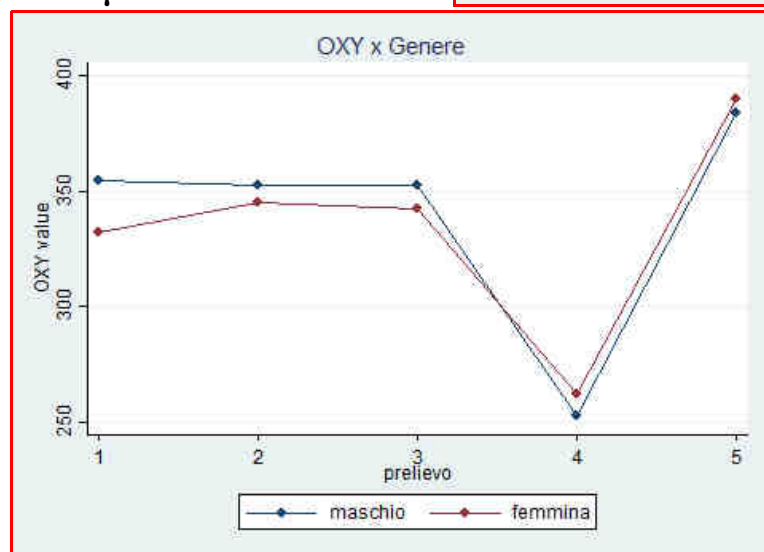


Tra maschi e femmine canile B

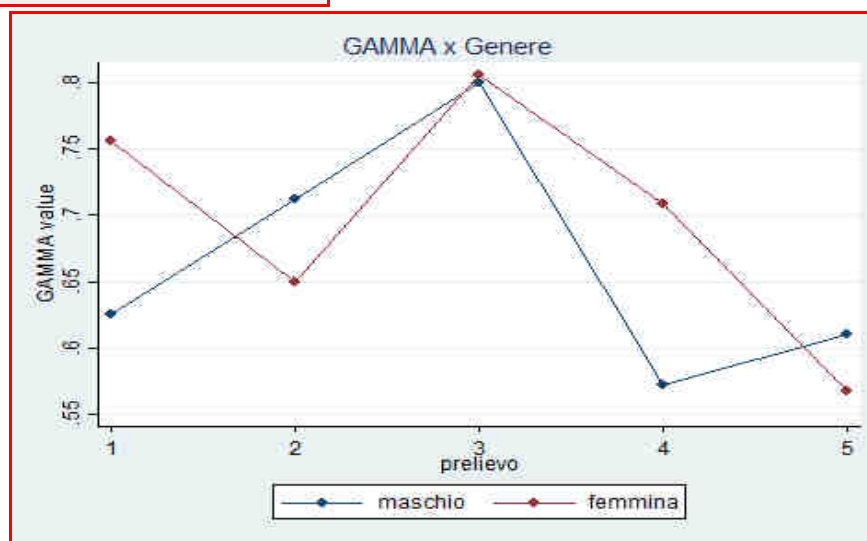


0.01- 1 mg/ml

>350 $\mu\text{mol HClO/l}$



0,4 - 1 mg/dl



In entrambi i canili

Aptoglobina e lisozima: oltre il range di specie (nel canile B in modo significativo)

Attività del complemento: al di sotto del range di specie. Solo nei soggetti anziani significativamente superiore

Leucociti, linfociti, neutrofili, CD4/CD8 e gammaglobuline: valori fisiologici in tutti i soggetti.

Nei maschi i **leucociti e neutrofili** : significativamente superiori

Stress ossidativo: compreso nel range di specie, con valori antiossidanti che tendono ad essere sovrapponibili in maschi e femmine e superiori nei soggetti anziani



Concludendo.....

Valutazione del Benessere:

Problema complesso che necessita di più parametri per una corretta definizione.

Non esiste una singola misura possibile, ma più aspetti da considerare:

- Parametri sanitari
- Parametri fisiologici → Risposta immunitaria
- Dati comportamentali





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Si ringraziano i Colleghi dell'Istituto, Sede Centrale e Sezioni Territoriali e Colleghi ASL Rm/3 coinvolti nella realizzazione del progetto di ricerca..... ma soprattutto il gruppo di lavoro DO Produzioni Zootecniche.



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

