

Innovazioni della diagnostica per immagini in oftalmologia felina

Giulia Stroppa¹, Adolfo Maria Tambella², Maria Paola Cassarani³⁻⁴

¹DVM Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria Università di Camerino.

²DVM Ricercatore universitario, Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria Università di Camerino.

³DVM Centro veterinario Argo-Ancona; CES ENVT Oftalmologia veterinaria.

⁴PhD Student Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria Camerino.

SUMMARY

Advancement of diagnostic imaging in feline ophthalmology

Ultrasound biomicroscopy (UBM) is a ultrasound diagnostic method recently introduced in veterinary ophthalmology. The UBM, because of high frequency (48-50Mhz) transducer, allows a detailed view of the structures of anterior Chamber and especially the irido-corneal angle. In this thesis, UBM assessment was performed in anterior chamber of feline healthy eyes. The main purpose of the study was to identify the normal parameters as a potential comparison for diagnosis of disease. The pathology that have the greatest indication for the execution of UBM is the primary open angle glaucoma (POAG).

KEY WORDS Ultrasound biomicroscopy, irido-corneal angle, glaucoma, eye, cat

INTRODUZIONE

L'UBM o ultrasound biomicroscopy è una metodica di diagnostica per immagini ecografica che si ottiene utilizzando alte frequenze degli ultrasuoni, da 40 fino a 100Mhz, in questo modo si ricavano immagini delle strutture presenti all'interno dell'occhio fino a 4-5 mm di profondità con un'altissima risoluzione, [Munro e Ramsey 2002] tanto che queste immagini sono state paragonate a preparati istologici. [Pavlin et al. 1992]

Le immagini ottenute tramite l'utilizzo della sonda UBM possono rivestire un ruolo significativo nella diagnosi di molte patologie oculari che riguardano la camera anteriore, tra le quali il glaucoma.

Il glaucoma

Il glaucoma è una sindrome clinica dolorosa caratterizzata dall'aumento della pressione intraoculare (IOP). Esso rappresenta un'emergenza clinica, in quanto un protratto aumento della IOP può causare in tempi brevissimi danni irreversibili alle strutture nervose, quali retina e nervo ottico. [Turner 2009][Wilcock 2010]

Il glaucoma può essere classificato in base al tempo d'insorgenza (acuto e cronico), all'eziologia (primario, secondario ed assoluto) ed in base all'aspetto degli angoli irido-corneali (aperto e chiuso). [Stades et al. 2000]

L'angolo irido-corneale può essere dettagliatamente osservato con l'applicazione della sonda UBM. In un'immagine ecografica ottenuta con UBM possiamo riconoscere diverse strutture della camera anteriore quali la cornea, la faccia anteriore del cristallino, l'angolo irido-corneale e l'iride.

Nel glaucoma ad angolo aperto, l'angolo irido-corneale non mostra alcuna alterazione e viene definito il "vero glaucoma primario" (POAG = *primary open angle glaucoma*) e l'eziologia sembra riguardare anomalie del trabecolato, dei tubuli collettori e del plesso intrasclerale. [Stades et al. 2000]

La patogenesi di questa condizione patologica è sconosciuta e si pensa che essa sia dovuta ad alterazioni biochimiche che avvengono nella genesi della maglia trabecolata che aumentano la resistenza al deflusso dell'umor acqueo. [Miller 2008] Il glaucoma primario ad angolo aperto è stato ritrovato nei gatti di razza Siamese, [Glaze 2005][Trost et al. 2007][Jacobi e Dubielzig 2008] Europeo a pelo corto e Persiano. [Glaze 2005]

Il glaucoma ad angolo chiuso può avere una genesi primaria (PACG = *primary angle closure glaucoma*). La sua genesi non è stata ancora del tutto chiarita, ma alla base sembra esserci asso-

ciata la displasia del legamento pettinato (PLD). Si pensa che vi sia anche una predisposizione in base al sesso, infatti il PACG si manifesta di più nelle femmine che nei maschi, in rapporto di 2:1. Questa predisposizione si pensa sia attribuita ad una più piccola camera anteriore.[Miller 2008] Questa condizione è stata descritta nella razza Burmese dove si pensa che ci sia una predisposizione di razza.[Hampstone et al. 2002]

Il glaucoma ad angolo chiuso, la maggior parte delle volte, ha una genesi secondaria che può essere dovuta ad esempio:

- ad un rigonfiamento della base dell'iride (come in caso di melanoma o di iride bombata in corso di uveite)
- ad una sua dislocazione in avanti (come in caso di lussazione del cristallino). [Stades et al. 2000]

Lo scopo che ci si è preposti con questo studio è stato quello di valutare l'applicabilità dell'UBM in gatti sani, al fine di valutare parametri quantitativi che possano avere un significato diagnostico in caso di patologie della camera anteriore.

MATERIALE E METODI

L'attrezzatura utilizzata (UBM plus, ACCUTOME® Phoenixville Pike Malvern, USA) si compone di un trasduttore a 45 Mhz, un software per personal computer, dei gusci sclerali ed un pedale tramite il quale si avvia o si interrompe l'acquisizione.

I gusci sclerali possono presentarsi in forma di coppette di plexiglass, che vengono poggiate direttamente sulla cornea del paziente per poi essere riempite di soluzione fisiologica. Al loro interno viene immersa l'estremità libera della sonda tramite la quale si può realizzare la scansione ecografica. L'applicazione della coppetta sclerale in medicina veterinaria risulta piuttosto difficoltosa, una soluzione molto più agevole è rappresentata dall'applicazione del cappuccetto per sonda. Esso si presenta come un esile sacchettino che può essere raccordato direttamente all'estremità libera della sonda, grazie ad una bordatura in gomma, dopo esser stato riempito di soluzione fisiologica.

Una popolazione di gatti sani è stata sottoposta a valutazione ecografica di entrambi gli occhi mediante UBM. Per essere ammessi allo studio, i gatti dovevano rispondere ai seguenti requisiti: buono stato clinico-sanitario o presenza di patologie localizzate non influenzanti l'apparato visivo; assenza di patologie oculari o IOP aumentata; nessuna terapia farmacologica in corso in grado di influenzare la IOP; analisi pre-anestesiologiche nella norma; sottoposti a narcosi per l'espleta-

mento di altre pratiche diagnostiche o terapeutiche.

Una volta giudicati idonei per lo studio, tutti i gatti sono stati sedati con l'inoculazione per via intramuscolare di 20 µg/kg di dexmedetomidina (Dexdomitor, Orion pharma) e 2 mg/kg di tramadolo (Altadol, Formevet Spa). Inoltre, è stata instillata per ciascun occhio una goccia di ossibuprocaina cloridrato (Novesina 0,4%, Novartis Farma Spa) per ottenere anche un'anestesia locale.

Le immagini ecografiche sono state impostate in maniera tale da presentare un guadagno di 65 dB e l'immagine è stata ingrandita due volte prima di ricavare le misurazioni.

Su ciascun occhio sono state ottenute 3 immagini ecografiche, su ciascuna delle quali sono state ricavate quattro misurazioni.

Le misurazioni hanno compreso l'individuazione e la misurazione di:

- HICA (*height irido-corneal angle*) altezza dell'angolo irido-corneale: la misurazione è stata presa dalla giunzione corneosclerale alla base dell'iride.
- DICA (*depht irido-corneal angle*) profondità dell'angolo irido-corneale: la misurazione è stata presa dal centro della linea della HICA fino alla fine del trabecolato.
- Area ICA (*area irido-corneal angle*) area dell'angolo irido-corneale, selezionata manualmente dall'operatore e misurata dal software.
- HAC (*height anterior chamber*) altezza della camera anteriore: la misurazione è stata presa dalla cornea fino alla faccia anteriore del cristallino.

Per valutare l'omogeneità dei rilievi misurati è stato eseguito il test di Cochran mirante alla valutazione della condizione di omoschedasticità.

RISULTATI

La popolazione reclutata nello studio comprendeva 8 gatti di razza europea, di cui 4 maschi e 4 femmine, di un'età compresa fra i 7 mesi e 6 anni. In tutti i gatti è stato possibile eseguire lo studio bilateralmente senza riscontrare alcun problema tecnico. La durata di esecuzione della procedura ecografica è stata in ogni caso inferiore ai 30 minuti per ciascun gatto, compresa la fase di sedazione.

Le immagini hanno mostrato un'ecogenicità normale e su queste è stato possibile riconoscere, la cornea in tutto il suo spessore, l'iride, il cristallino, l'angolo di deflusso.



Scansione ecografica UBM

1: Cornea, 2: Iride, 3: Cristallino, 4: Angolo di deflusso

Il test di Cochran ha soddisfatto l'ipotesi della omoschedasticità in tutti e quattro i parametri misurati i cui i valori sono risultati omogenei con una probabilità del 99% ($\alpha=0.01$).

misurazioni	C	α
HICA	0,30	0,01
DICA	0,14	0,01
Area ICA	0,28	0,01
HAC	0,24	0,01
Risultati del test di omoschedasticità di Cochran		

CONCLUSIONI

L'indagine ecografica è un ottimo strumento diagnostico per le patologie oculari, essa rappresenta una metodica diagnostica rapida e non invasiva.[Munro e Ramsey 2002]

Con l'UBM, l'impiego di ultrasuoni ad alte frequenze consente di ottenere delle immagini molto dettagliate fino a 4-5 mm di profondità, in questo modo si possono visualizzare dettagli strutturali che potrebbero venir oscurati dalle normali alterazioni anatomiche o patologiche, come in caso di edema corneale.[Hussein et al. 2014]

L'UBM è una metodica di diagnostica per immagini che non richiede molto tempo d'esecuzione se l'operatore dispone di una buona esperienza di ecografia oculare e di UBM.

L'UBM trova un larghissimo impiego in medicina umana dove sono descritti in letteratura molti studi. In medicina veterinaria, fino ad ora, ha trovato poco impiego, anche per via dell'oneroso costo dell'attrezzatura. In letteratura, l'utilizzo dell'UBM è stato descritto in diverse specie fra cui cavallo e cane. Nella specie felina gli studi sono ancora molto limitati.

Sebbene la casistica non sia stata quantitativamente elevata, la popolazione posta allo studio è risultata omogenea nelle misurazioni effettuate. Questo studio preliminare può fornire una buona base di partenza per definire degli effettivi parametri di riferimento.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Glaze M.M. (2005): Congenital and hereditary ocular abnormalities in cats. Clinical techniques in small animal practice WBS 20, 74-82.

Hampston E.C.G., Smith R., Bernays M.E. (2002): Primary glaucoma in Burmese cats. Australian Veterinary Journal 80, 672-680.

Hussein T., Shalaby S.M., Elbakary M.A., Elseht R.E., Gad R.E. (2014): Ultrasound biomicroscopy as diagnostic tool in infants with primary congenital glaucoma. Clinical Ophthalmology 8,1725-1730.

Jacobi S., Dubielzig R.R. (2008): Feline primary open angle glaucoma. Veterinary ophthalmology 11, 162-165.

Miller P.E. (2008): Capitolo 12 The glaucomas. In: Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology. 4° edizione, D. Maggs, P. Miller, R. Ofri. Saunder Elsevier. pp 229-257.

Munro E., Ramsey D.T. (2002): cap. 1b Ocular imaging. In: BSAVA Manual of small animal ophthalmology. 2° edizione. S. Petersen-jones, S.Crispin. British Small Animal Veterinary Association (BSAVA). pp 13-22.

Pavlin C.J., Harasiewicz K., Sherar M.D., Forester F.S. (1992): Ultrasound biomicroscopy of anterior segment structures in normal and glaucomatous eyes. American journal of ophthalmology 113, 381-389. (abstract).

Stades F.C., Boeve M.C., Newmann W., Wymann M.(2000): Capitolo 11 Pressione intraoculare e glaucoma. In: Oftalmologia clinica veterinaria. F.C. Stades, M.C. Boevè, W.Neumann, M.Wyman. UTET. pp 120-121.

Trost K., Peiffer R.L., Nell B. (2007): Case report: Gonyodysgenesis associated with primary glaucoma in Adult European Short Haired. Veterinary ophthalmology" 10; 3-7.

Turner S.M. (2009): Capitolo 43: Glaucoma: introduzione. In :Oftalmologia dei piccoli animali.S.M.Turner. Elsevier Masson. pp 263-265.

Wilcock B.P. (2010): Capitolo 14 Occhio, Palpebra, congiuntiva ed orbita. In: Patologia veterinaria sistematica. 4° edizione, Elsevier. pp 1013-1037.

Infezioni da *Troglostrongylus brevior* nei gatti domestici

Angelo Corsaro

Medico Veterinario Libero Professionista – Università degli Studi di Messina, Dipartimento di Medicina Veterinaria – angelocorsaro85@yahoo.it

SUMMARY

Troglostrongylus brevior infection in domestic cats

Troglostrongylosis in domestic cats is a neglected and not occasional parasitosis. For a long time it was considered as wild felids pathology. However, recent studies have questioned this hypothesis, while underlining an important incidence of this parasitosis in domestic cats, as well. Furthermore, these studies have raised new awareness of the scientific community towards this pathology, while veterinarians seem to pay increasing attention to aetiological distinctions in copromicroscopy.

KEY WORDS *Troglostrongylus brevior* – gatti domestici – parassitosi polmonari

INTRODUZIONE

La tesi esplora gli sviluppi più recenti della ricerca sui nematodi polmonari del gatto, evidenziandone le possibili implicazioni in ambito clinico. In particolare, essa si concentra sulle infestazioni da *Troglostrongylus brevior* nei gatti domestici, finora ritenute un'evenienza esclusiva dei felidi selvatici. La tesi, sulla base dei risultati di una ricerca condotta dal Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Messina, dimostra come l'infestazione del genere *Troglostrongylus* rappresenti una parassitosi trascurata, piuttosto che occasionale; essa, inoltre, pone l'accento su come i lavori condotti nell'Ateneo siciliano abbiano stimolato la comunità scientifica ad una più attenta differenziazione eziologica in sede copromicroscopica.

Nematodi polmonari nel gatto

I nematodi polmonari del gatto includono un gruppo eterogeneo di parassiti responsabile di manifestazioni respiratorie. Tra essi troviamo i **metastrongilidi** – *Aelurostrongylus abstrusus*, *Oslerus rostratus* e *Troglostrongylus* spp. – e il **tricuride** – *Capillaria aerophila*.

I metastrongilidi sono parassiti a ciclo indiretto: i gatti infestati presentano, a livello del paren-

chima polmonare, gli adulti del parassita che, dopo l'accoppiamento, rilasciano le larve di primo stadio (L1). Queste risalgono le vie aeree fino al faringe e vengono deglutite, così raggiungono l'apparato gastroenterico. Le L1 vengono emesse con le feci e quindi rilasciate nell'ambiente. Le larve L1 infestano ospiti intermedi come le lumache e le chioccioline, all'interno delle quali la larva muta fino a L3. Le lumache possono essere ingerite dal gatto o da ospiti paratenici come i roditori. Questi ultimi svolgono solo un ruolo di vettori meccanici, cioè in essi la larva non completa il ciclo. Il ciclo, infatti, si completa nel gatto quando questo si nutre degli ospiti intermedi o di quelli paratenici, per cui è nei felidi che si passa dallo stadio L3 a L5. In particolare una larva L3, che infesta un gatto sano, migra per via emolinfatica dallo stomaco ai polmoni nell'arco di 24 ore, dove diventa adulto dopo circa 4-5 settimane, continuando il ciclo.

Nei sottoparagrafi successivi si focalizza l'attenzione sui metastrongilidi, in particolare, approfondendo le caratteristiche morfologiche ed eziopatogenetiche di *A. abstrusus* e *T. brevior*.

Metastrongilidi

la specie più studiata e diagnosticata è *A. abstrusus*.

sus, conosciuta anche come il "parassita polmonare del gatto". In Italia, la prevalenza di aelurostrongilosi varia dall'1,8% al 24,4%, colpendo prevalentemente gatti randagi, i quali hanno maggiori opportunità di ingerire molluschi e/o prede. Gli altri parassiti sono reperti occasionali tipici dei gatti selvatici.

Aelurostrongylus abstrusus, allo stadio di adulto (L5), si presenta sottile e di lunghezza di 5-6mm il maschio e 9-10mm la femmina e risiede in noduli all'interno di bronchioli, dotti alveolari e alveoli. La femmina rilascia uova embrionate nel parenchima. Dalla loro schiusa emergono le larve L1, che misurano 300-390µm e hanno la caratteristica coda a forma di "S" e l'apertura buccale centrale.

Fisiopatologia e aspetti clinici nel gatto affetto da polmonite parassitaria

Gli adulti di *A. abstrusus*, la produzione di uova da parte di questi e la migrazione larvale realizzano una forte risposta infiammatoria che si estrinseca in una polmonite granulomatosa con lesioni in alveoli, bronchioli e arterie polmonari. I polmoni di gatti infestati presentano noduli sub-pleurici grigio giallastri di 1-20mm, contenenti aggregati di uova, larve e adulti. A livello istologico, bronchioli, dotti alveolari e alveoli presentano parassiti e infiltrazione cellulare. Ciò comporta una riduzione della superficie degli scambi gassosi. La *tunica muscolaris* delle arterie polmonari diventa ipertrofica e iperplastica, inducendo ipertensione polmonare.

Un gatto che alla visita clinica presenta segni clinici come: tosse, starnuto, rantoli, scolo nasale muco-purulento, dispnea, tachipnea, tachicardia, respiro addominale a bocca aperta associati a letargia, depressione, perdita di peso deve far pensare alla presenza di una parassitosi polmonare. In soggetti giovani, debilitati e immunodepressi anche il decesso dell'animale rappresenta un evento frequente. Prima, quindi, di iniziare una terapia che possa rivelarsi fallimentare è bene fare una serie di accertamenti che conducano alla diagnosi esatta.

Il *gold standard* per la ricerca delle larve L1 nelle feci è l'esame coprologico con il metodo di migrazione di Baermann. Questa tecnica, semplice e poco costosa, permette di effettuare diagnosi di parassitosi polmonare con una sensibilità del 90%, ma necessita di oltre 24 ore al fine di ottenere una migrazione delle larve. La conoscenza delle caratteristiche e le misure delle larve L1 trovate nel sedimento permettono di fare una diagnosi corretta. L'esame copromicroscopico non è in grado di portare ad una diagnosi nei casi di infestazione prepatente (entro le 5-6 settimane dal contagio). Le L1 si possono visualizzare an-

che attraverso il tampone o il lavaggio tracheale e il lavaggio bronco-alveolare (BAL). Queste ultime, tuttavia, sono tecniche invasive, rischiose e con poca sensibilità. Si procede successivamente con la diagnostica per immagini: la radiografia e la TAC. La diagnosi con metodiche di biologia molecolare (PCR), sono di grande aiuto nella discriminazione a livello di specie, presentando elevata sensibilità.

Nel caso in cui ci si trovi ad effettuare un esame post mortem, la misura e la localizzazione del parassita permettono di fare una prima discriminazione: *A. abstrusus* alberga il parenchima polmonare, mentre gli altri nematodi sono più frequentemente riscontrabili nelle vie aeree.

I protocolli terapeutici utilizzati in corso di infestazione da *A. abstrusus* prevedono l'uso di febendazolo o di lattoni macrociclici oppure di milbemicina ossima.

MATERIALI E METODI:

Fino al 2010 si pensava che ogni parassitosi polmonare riscontrata nel gatto domestico fosse causata da *A. abstrusus*. Con i casi clinici riportati nel presente lavoro e altri casi presenti nel bacino del mediterraneo, la comunità scientifica ha cominciato a prendere in considerazione nell'eziopatogenesi delle parassitosi polmonari anche il genere *Troglostrongylus*, fino ad allora considerato un parassita peculiare dei felidi selvatici. La ricerca ha avuto inizio con due gatti riferiti rispettivamente presso l'Ospedale Veterinario Didattico di Messina e presso un libero professionista di Messina. Entrambi i casi presentavano una sintomatologia particolare, il primo caso clinico era un gattino ricoverato per la presenza di segni respiratori acuti, mentre il secondo caso clinico era un gattino randagio ricoverato alcuni mesi dopo il primo e con una sintomatologia sovrapponibile.

Entrambi i gattini erano di circa 2 mesi e presentavano segni respiratori come dispnea, polipnea, tosse e scolo nasale. Inoltre, il soggetto del caso 1 manifestava inappetenza e letargia 48 ore prima il ricovero, mentre il soggetto del caso 2 era disidratato e aveva condizioni generali scadenti. Le indagini condotte sui due casi clinici hanno dato risultati inattesi. La radiografia eseguita sul caso 2 ha mostrato un diffuso incremento di radiodensità e un marcato pattern bronchiale nei lobi diaframmatici (Immagine 1).

In entrambi i soggetti è stata registrata una imponente leucocitosi. All'esame copromicroscopico, sono state ritrovate uova di *Toxocara cati* nel primo gattino e, alla metodica di Baermann, larve di metastrongilidi in entrambi i gattini (Tabella 1).

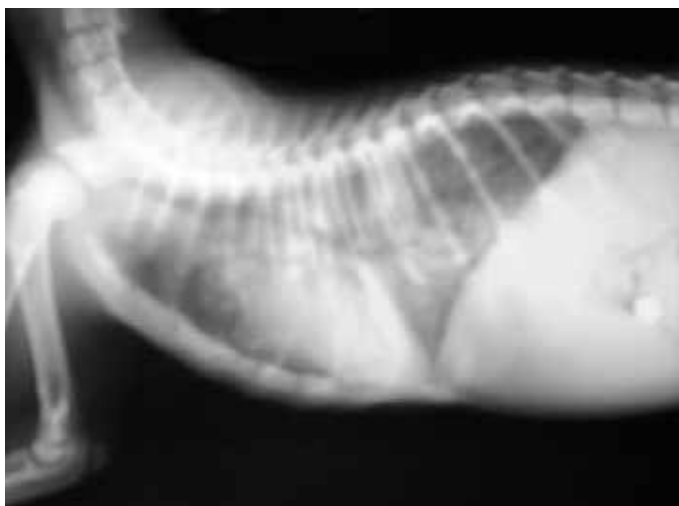


Immagine 1: radiografia nel caso 2



Immagine 2: metastrongili all'esame coprologico

Le larve L1 rinvenute all'esame copromicroscopico hanno spinto i clinici al ricovero dei soggetti con la diagnosi di aelurostrongilosi (Immagine 2). Entrambi i gatti sono quindi stati sottoposti a trattamenti antiparassitari (imidacloprid/moxidectina spot-on nel caso 1 e febendazolo *per os* nel caso 2), fluidoterapia, trattamenti antibiotici (amoxicillina e enrofloxacin) e ossigenoterapia. Tuttavia, la terapia non ha portato alcun miglioramento nello stato di salute dei gattini, che sono deceduti 24-48 ore dopo l'ospedalizzazione.

Su autorizzazione dei proprietari, è stata quindi condotta l'autopsia su entrambi gli animali. In ambedue i casi, sono stati rinvenuti grossi nematodi, dal colore biancastro, localizzati a livello delle vie aeree.

In particolare, nel caso 1 i nematodi sono stati rinvenuti a livello di bronchi e bronchioli e i polmoni si presentavano congesti e gonfi, con aree multifocali di emorragie, di diffusa epatizzazione e di broncopolmonite nei lobi del polmone di destra. La superficie di sezione era edematosa con essudato catarrale che drenava dalle piccole vie aeree; i parassiti erano presenti lungo il tratto respiratorio. Sono stati, quindi, catalogati 12 nematodi di lunghezza fino a 13 mm e identificati come *T. brevior* (Immagine 3).

Nel caso 2, sono stati rinvenuti parassiti di dimensioni maggiori a livello di trachea e bronchi principali. I polmoni si presentavano diffusamente congesti e gonfi, con una grande area di consolidazione nel lobo diaframmatico destro. I

	CASO 1 (2010)	CASO 2 (2011)
SEGNI RESPIRATORI:		
☐ dispnea	✓	✓
☐ polipnea	✓	✓
☐ tosse	✓	✓
☐ scolo nasale	✓	✓
INAPPETENZA	✓	
LETARGIA	✓	
DISIDRATAZIONE		✓
CONDIZIONI GENERALI SCADENTI		✓
Rx TORACE		✓
LEUCOCITOSI [6 – 11 x 10³/μl]	26.3 x 10³/μl	20.9 x 10³/μl
UOVA DI TOXOCARA CATI (copromicroscopia)	✓	
LARVE DI METASTRONGILI	✓	✓

Tabella 1: Tabella clinica riassuntiva dei casi clinici 1 e 2

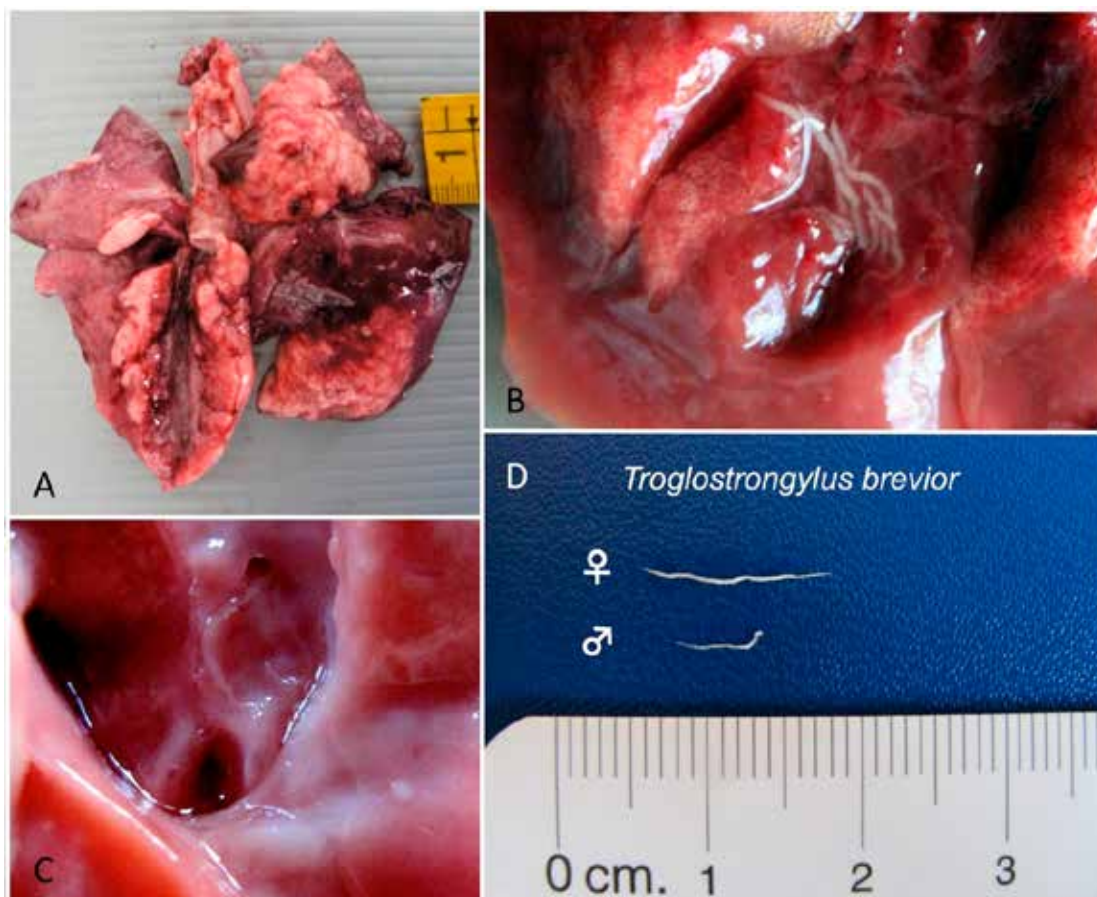


Immagine 3: Anatomia macroscopica e parassiti raccolti nel caso 1.

nematodi sono stati rinvenuti in trachea, inframezzati a essudato catarrale. Sono stati catalogati 22 nematodi di lunghezza fino a 24 mm e identificati come *Troglostrongylus subcrenatus* (Immagine 4).

In entrambi i casi, la *causa mortis* veniva individuata nel collasso respiratorio.

RISULTATI

I parassiti raccolti nei due casi clinici sono stati identificati usando le chiavi morfologiche proposte da Gerichter (1949) per *T. brevior* e quelle di Fitzsimmons (1961) per *T. subcrenatus*.

Successivamente, i campioni sono stati sottoposti a caratterizzazione molecolare che confermava l'identificazione morfologica. Inoltre, è stato possibile valutare un'omologia del 100% tra i campioni isolati nel caso 1 e quelli individuati a Ibiza da Jefferies (2010). Quest'ultimo, nel suo studio, aveva riconosciuto solamente che la specie individuata non era *Troglostrongylus wilsoni*, di cui si aveva la caratterizzazione molecolare, denominandola pertanto *Troglostrongylus sp.*: avendo recuperato solo lo stadio larvale, non gli fu possibile infatti fare una caratterizzazione morfologica dell'adulto, necessaria per associare la sequenza genica alla specie.

Ad una valutazione morfologica comparata delle

larve di primo stadio (L1), *T. brevior* e *T. subcrenatus* presentano una forte somiglianza con *Aelurostrongylus abstrusus*, che potrebbe indurre ad una diagnosi errata.

Le misure delle larve L1 possono essere di aiuto nella discriminazione a livello di specie (Tabella 2).

Oltre alle dimensioni, tuttavia, esistono anche altre caratteristiche che possono aiutare nella distinzione delle larve, come la morfologia della coda e della regione cefalica. *Troglostrongylus brevior* presenta la coda con un'appendice bottonuta e il solco ventrale è assente, mentre in *A. abstrusus* il solco ventrale è abbastanza evidente (Immagine 6).

Inoltre, *T. brevior* presenta una regione cefalica leggermente appuntita e l'apertura orale è submediana (dorsale), mentre in *Aelurostrongylus abstrusus* la testa è arrotondata e si presenta con un'apertura centrale (Immagine 7).

DISCUSSIONE

Le similitudini tra le larve di *A. abstrusus* e *T. brevior* presentate nel paragrafo precedente dimostrano come in effetti sia piuttosto probabile che si verifichi un errore diagnostico. Sulla base di tale considerazione, dunque, il gruppo di ricerca si è interrogato circa la possibilità che tali errori

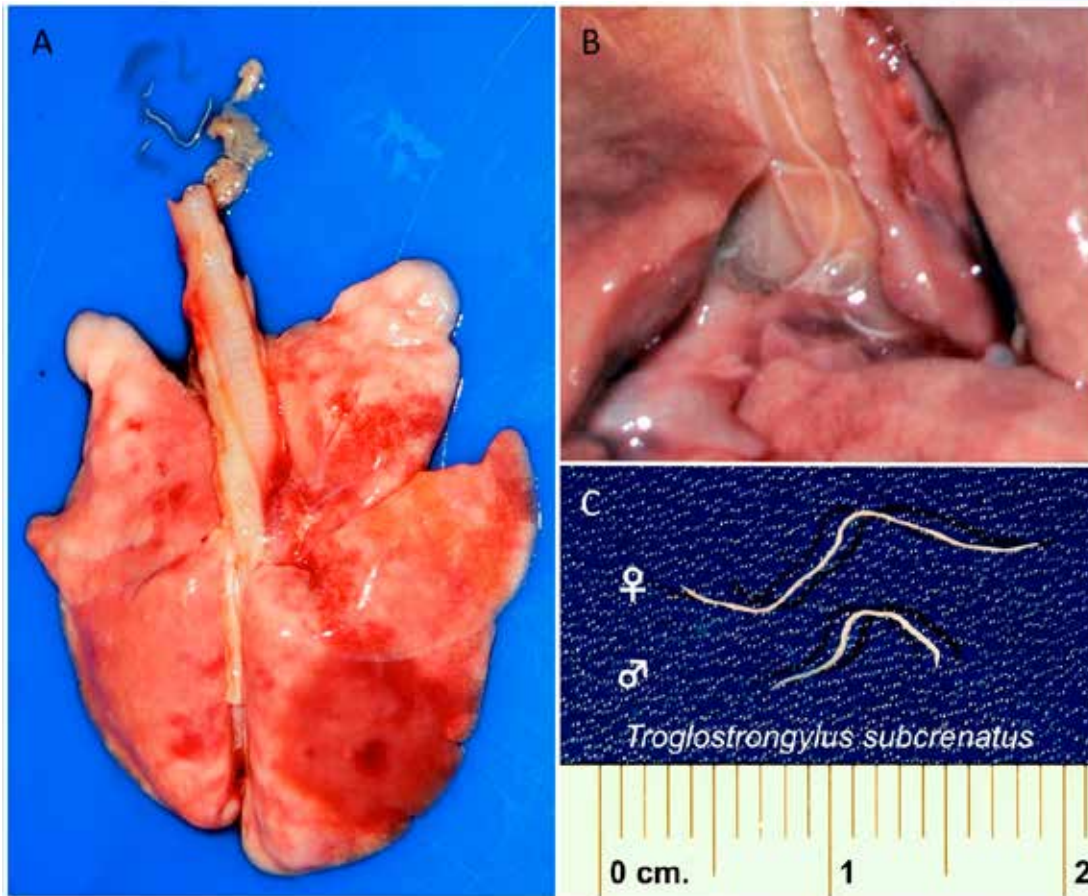


Immagine 4: Anatomia macroscopica e parassiti raccolti nel caso 2.

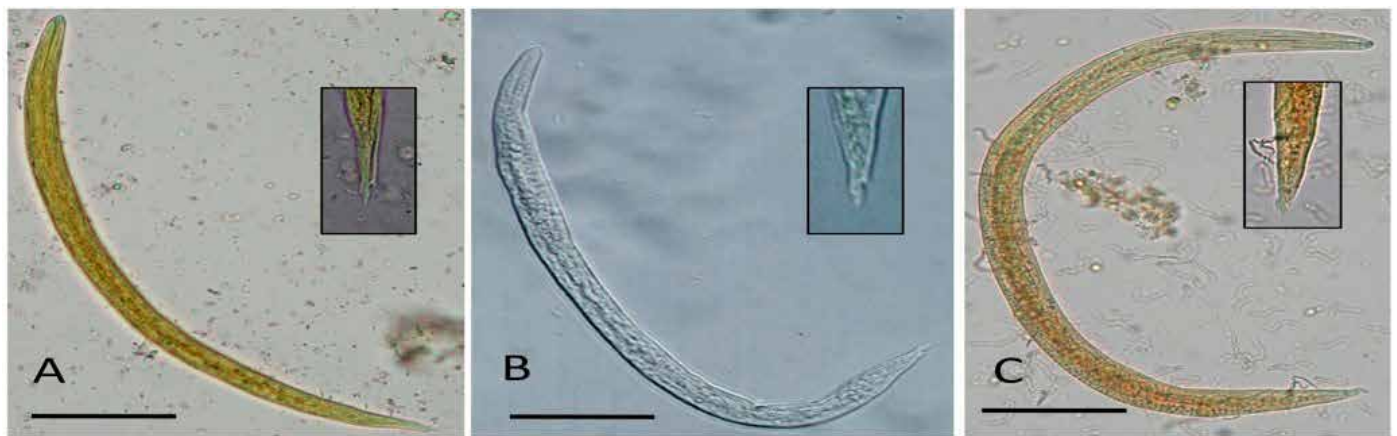


Immagine 5: Larve L1 di *Troglstrongylus brevior* (A), *Troglstrongylus subcrenatus* (B) e *Aelurostrongylus abstrusus* (C)



Immagine 6: Larve L 1 *Aelurostrongylus abstrusus* e *Troglstrongylus brevior* (regione caudale).

Specie (numero di soggetti)		Larva di primo stadio L1 (µm)	
		Lunghezza media	Larghezza media
C	<i>Aelurostrongylus abstrusus</i> (n=40)	399.1 (±11.3)	18.5 (±1.2)
A	<i>Troglostrongylus brevior</i> (n=40)	339.3 (±14.1)	18.6 (±1)
B	<i>Troglostrongylus subcrenatus</i> (n=40)	280.7 (±17.9)	15.5 (±1.7)

Tabella 2: Misure degli stadi larvali L1.



Immagine 7: Regione cefalica di larve L1 Aelurostrongylus abstrusus (sinistra) e Troglostrongylus brevior (destra)

diagnostici abbiano indotto a sottostimare i casi di troglostrongilosi, ritenendola una patologia occasionale.

Secondo i ricercatori di Messina, invece, potremmo essere di fronte ad una parassitosi trascurata, che richiede pertanto ulteriori approfondimenti in termini di diagnosi differenziale.

Una prima conferma a tale ipotesi proviene da alcuni dati recenti, che riportano 10 nuovi casi di troglostrongilosi dal 2012 al 2014 (Immagine 8). Inoltre, in Sardegna, uno studio del 2014 ha riportato una prevalenza di infestazione del 6,5% nel gatto domestico. Di particolare interesse è la presenza di infestazioni miste nel 50% dei casi, con co-infestazione più comune data da *A. abstrusus* e *T. brevior*.

Trasmissione di Troglostrongylus brevior e patologie del gatto domestico: ultime scoperte in biologia

Accanto alle difficoltà diagnostiche, l'infestazione da *Troglostrongylus* solleva interessanti quesiti di ricerca riguardo alle modalità di trasmissione e di contagio e, di conseguenza, le probabilità di incidenza della parassitosi nei gatti domestici. Uno studio recente (Giannelli et al. 2013) ha dimostrato che le larve L1 di *A. abstrusus* e di *T. brevior* possono simultaneamente infestare e svilupparsi nella chiocciola *Helix aspersa*, che rappresenta uno dei più comuni ospiti intermedi per i metastrongilidi. Lo sviluppo da L1 a L3 necessita circa 11 giorni e lo stadio infettivo (L3) può sopravvivere e passare l'inverno dentro le

chioccioline fino a 120 giorni post-inoculazione. Questi risultati suggeriscono anche che *T. brevior* e *A. abstrusus* possono condividere gli stessi ospiti e le stesse nicchie ecologiche. Quindi, viene meno la tradizionale distinzione tra parassitosi da *A. abstrusus* come patologia tipica del gatto domestico e quella da *T. brevior* tipica del gatto selvatico.

Uno studio condotto sulle popolazioni di gatti selvatici dell'Italia meridionale (Falsone et al. 2014) ha chiarito il loro ruolo nell'epidemiologia di *Troglostrongylus* sp. In questa ricerca, infatti, è stata riportata un'importante prevalenza di infestazioni da *T. brevior* (71,4%) nel gatto selvatico, inducendo così ad ipotizzare che quest'ultimo potrebbe assolvere la funzione di *reservoir* selvatico in queste aree. Lo stesso studio ha suggerito, inoltre, l'evenienza di una trasmissione verti-



Immagine 8: nuovi scenari epidemiologici.

cale nei gatti selvatici, a seguito del ritrovamento di gattini non svezzati, deceduti in un centro di recupero della fauna selvatica in Basilicata e ritrovati infestati da parassiti adulti di *T. brevior*.

Sulla base di tali sviluppi, una recente ricerca ha suggerito una via alternativa per la trasmissione di *T. brevior* nel gatto domestico (Brianti et al. 2013). È stato ipotizzato, infatti, che accanto al ciclo indiretto attraverso le chioccioline, possa esserci anche la trasmissione verticale da madri infette verso i gattini in allattamento. Tale ipotesi è stata avvalorata dall'ospedalizzazione di 2 gattini insieme alla madre, dal secondo giorno dopo la loro nascita. I gattini sono stati ritrovati infestati rispettivamente dopo 21 e 40 giorni. Resta, invece, ancora ignota la via di trasmissione di larve infestanti tra la madre e il figlio, ovvero se essa avvenga attraverso la placenta o il latte.

Questa via di trasmissione, inusuale per i metastrongilidi, potrebbe facilitare la trasmissione e la diffusione dell'infestazione.

La rilevanza clinica delle troglostrongilosi è data sia dalla patogenicità, sia dalla mortalità.

La patogenicità è riscontrabile innanzitutto su base istologica, considerando che un solo parassita è in grado di creare una reazione infiammatoria capace di ridurre in modo molto evidente il calibro del bronchiolo dove è localizzato (Immagine 9); in secondo luogo, su base anatomica, visto che, a differenza di *A. abstrusus*, localizzato nel parenchima, *T. brevior*, localizzato nelle vie aeree, in condizioni di infestazione massiva è in grado di occludere i bronchioli, riducendo così la possibilità degli scambi gassosi a livello alveolare. Tale ipotesi è in parte supportata dai casi

fatali in letteratura: 50%. Tuttavia, va sottolineato come per lo più si sia trattato di soggetti giovanissimi (in fase di svezzamento), debilitati e con coinfezioni.

Nonostante la rilevanza clinica di tale parassitosi, le informazioni sulla terapia sono tuttavia ancora limitate. Sono stati condotti tentativi di terapia in soli sei casi, usando molecole efficaci per il trattamento di aelurostrongilosi. In alcuni casi le molecole usate hanno fallito, mentre in altri sembrano essere state efficaci nella riduzione dei segni clinici e nell'interruzione del rilascio delle larve L1 con le feci.

La ricerca ha messo in evidenza le caratteristiche morfologiche e fisiopatologiche di *Troglostrongylus* sp. La somiglianza di tali parassiti con *A. abstrusus* induce a ritenere che la bassa incidenza di troglostrongilosi, finora sostenuta in letteratura e nella pratica clinica, sia piuttosto frutto di difficoltà oggettive nella diagnosi differenziale. Gli studi recenti suggeriscono, invece, un'incidenza più elevata di tale parassitosi nei gatti domestici, che richiede pertanto un miglioramento delle tecniche diagnostiche e ulteriori sviluppi nella ricerca, per quanto riguarda la descrizione, identificazione e classificazione del genere *Troglostrongylus*.

Inoltre, le implicazioni cliniche e terapeutiche di tale differenziazione di specie mettono in luce la necessità di una maggiore implementazione delle conoscenze epidemiologiche, patogenetiche e di sensibilità ai trattamenti di *T. brevior*. In tale direzione, occorre rafforzare le conoscenze degli operatori e ideare nuovi e più rapidi metodi diagnostici utilizzabili in ambito ambulatoriale.

BIBLIOGRAFIA

Annoscia G, Latrofa MS, Campbell BE, Giannelli A, Ramos R, Dantas-Torres F, Brianti E, Otranto D. (2014) **Simultaneous detection of the feline lungworms *Troglostrongylus brevior* and *Aelurostrongylus abstrusus* by a newly developed duplex-PCR.** Vet. Par.; 199: 172 - 178.

Barutzki D, Schaper R. (2011) **Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010.** Parasitol Res, 109: 45 - 60.

Brianti E, Gaglio G, Giannetto S, Annoscia G, Latrofa MS, Dantas-Torres F, Traversa D, Otranto D. (2012) ***Troglostrongylus brevior* and *Troglostrongylus subcrenatus* (Strongylida: Crenosomatidae) as agents of broncho-pulmonary infestation in domestic cats.** Parasit. Vectors; 5: 178.

Brianti E, Gaglio G, Napoli E, Falsone L, Giannetto S, Latrofa MS, Giannelli A, Dantas-Torres F, Otranto D. (2013) **Evidence for direct transmission of the cat lungworm *Troglostrongylus brevior* (Strongylida: Crenosomatidae).** Parasitology; 140: 821 - 824.

Brianti E, Giannetto S, Dantas-Torres F, Otranto D. (2014) **Lungworms of the genus *Troglostrongylus* (Strongylida: Crenosomatidae): neglected parasites for domestic cats.** Vet. Parasitol.

Dennler M, Bass DA, Guitierrez-Crespo B, Schnyder M, Guscetti F, Di Cesare A, Deplazes P, Kircher PR, Glaes TM. (2013) **Thoracic computed tomography, angiographic computed tomography, and pathology findings in six cats experimentally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*.** Vet. Radiol. Ultrasound; 54 (5): 459 - 69.

Di Cesare A, Castagna G, Meloni S, Milillo P, Latrofa MS, Otranto D, Traversa D. (2011) **Canine and feline infections by cardiopulmonary nematodes in Central and Southern Italy.** Par. Res.; 109: S87 - S96.

Di Cesare A, Castagna G, Otranto D, Meloni S, Milillo P, Latrofa MS, Paoletti B, Bartolini R, Traversa D. (2012) **Molecular diagnosis of *Capillaria aerophila*, an agent of canine and feline pulmonary capillariosis.** J. Clin. Microbiol.; 50: 1958 - 1963.

Di Cesare A, Frangipane di Regalbono A, Tessarin C, Seghetti M, Iorio R, Simonato G, Traversa D. (2014) **Mixed infection by *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* in kittens from the same litter in Italy.** Parasitol. Res.; 113 (2): 613 - 8.

- Falsone L, Brianti E, Gaglio G, Napoli E, Anile S, Mallia E, Giannelli A, Poglayen G, Giannetto S, Otranto D. (2014) **The European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) as reservoir hosts of *Troglostrongylus brevior* (Strongylida: Crenosomatidae) lungworms.** Veterinary Parasitology; 205: 193 - 198.
- Fitzsimmons WM. (1961) ***Bronchostrongylus subcrenatus* (Railliet & Henry, 1913) a new parasite recorded from the domestic cat.** Vet. Rec.; 73: 101 - 102.
- Gaglio G, Brianti E, Brucato G, Risitano AL, Otranto D, Lia RP, Mallia E, Anile S, Giannetto S. (2010) **Helminths of the wildcat (*Felis silvestris silvestris*) in Southern Italy.** Parasitologia; 52: 274 - 275. ISSN 0048-2951.
- Gerichter CB. (1949) **Studies on the nematodes parasitic in the lungs of felidae in Palestine.** Parasitology; 39: 251 - 262.
- Giannelli A, Ramos RA, Annoscia G, Di Cesare A, Colella V, Brianti E, Dantas-Torres F, Mutafovchiev Y, Otranto D. (2013) **Development of the feline lungworms *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* in *Helix aspersa* snails.** Parasitol.; 141, 563 - 569.
- Jefferies R, Vrhovec MG, Wallner N, Catalan DR. (2010) ***Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus* sp. (Nematoda Metastrongyloidea) infections in cats inhabiting Ibiza, Spain.** Vet. Parasitol. 2010; 173: 344 - 348.
- Otranto D, Tarsitano E, Traversa D, Giangaspero A, De Luca F, Puccini V. (2001) **Differentiation among three species of bovine *Thelazia* (Nematoda: Thelaziidae) by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of the first internal transcribed spacer ITS-1 (rDNA).** Int J Parasitol, 31: 1693 - 1698.
- Otranto D, Brianti E, Dantas-Torres F. (2013) ***Troglostrongylus brevior* and a nonexistent 'dilemma'.** Trends Parasitol.; 29: 517 - 8.
- Paggi L. (1959) **Segnalazione, in Italia Centrale, di *Troglostrongylus* sp. parassita dei polmoni di felidi.** Parassitologia; 1: 80 - 81 (in Italian).
- Ramos RA, Giannelli A, Dantas-Torres F, Brianti E, Otranto D. (2013) **Survival of first-stage larvae of the cat lungworm *Troglostrongylus brevior* (Strongylida: Crenosomatidae) under different conditions.** Exp. Parasitol.; 135: 570 - 572.
- Tamponi C, Varcasia A, Brianti E, Pipia AP, Frau V, Pinna Parpaglia ML, Sanna G, Garippa G, Otranto D, Scala A. (2014) **New insights on metastrongyloid lungworms infecting cats of Sardinia, Italy.** Vet Parasitol.; 203: 222 - 226.
- Traversa D, Di Cesare A., Milillo P, Iorio R, Otranto D. (2008) ***Aelurostrongylus abstrusus* in a feline colony from central Italy: clinical features, diagnostic procedures and molecular characterization.** Parasitol. Res.; 103: 1191 - 1196.
- Traversa D, Lia RP, Iorio R, Boari A, Paradies P, Capelli G, Avolio S, Otranto D. (2008) **Diagnosis and risk factors of *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida) infection in cats from Italy.** Vet. Parasitol.; 153: 182 - 186.
- Traversa D, Iorio R, Otranto D. (2008) **Diagnostic and clinical implications of a nested PCR specific for ribosomal DNA of the feline lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida).** J. Clin. Microbiol.; 46: 1811 - 1817.
- Traversa D, Di Cesare A, Milillo P, Lohr B, Iorio R, Pampurini F, Schaper R, Paoletti B, Heine J. (2009) **Efficacy and safety of imidacloprid 10% / moxidectin 1% spot-on formulation in the treatment of feline aelurostrongylosis.** Parasitol. Res.; 105: 55 - 62.
- Traversa D, Di Cesare A, Milillo P, Iorio R, Otranto D. (2009) **Infection by *Eucoleus aerophilus* in dogs and cats: is another extra-intestinal parasitic nematode of pets emerging in Italy?** Res. Vet. Sci.; 87: 270 - 272.
- Traversa D, Di Cesare A, Conboy G. (2010) **Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated.** Parasit. Vectors.; 3: 62.
- Traversa D, Di Cesare A, Lia RP, Castagna G, Meloni S, Heine J, Strube K, Milillo P, Otranto D, Meckes O, Schaper R. (2011) **New insights into morphological and biological features of *Capillaria aerophila* (Trichocephalida, Trichuriidae).** Par Res; 109: S97 - S104.
- Traversa D, Di Cesare A, Di Giulio E, Castagna G, Schaper R, Braun G, Lohr B, Pampurini F, Milillo P, Strube K. (2012) **Efficacy and safety of imidacloprid 10% / moxidectin 1% spot-on formulation in the treatment of feline infection by *Capillaria aerophila*.** Parasitol. Res.; 111: 1793 - 1798.
- Traversa D, Di Cesare A. (2013) **Feline lungworms: what a dilemma.** Trends Parasitol.; 29: 423 - 430.
- Traversa D, Guglielmini C. (2008) **Feline aelurostrongylosis and canine angiostrongylosis: a challenging diagnosis for two emerging verminous pneumonia infections.** Vet Parasitol, 157: 163 - 174.