

Anno 10
Numero 1
2006

19/5/06

Rassegna di Medicina Felina



Associazione
Italiana
Veterinari
PAtologia
FElina

In questo numero:

Su di un caso di sindrome di iperestesia felina (FHS): basi neurofisiologiche e comportamentali

Valutazione degli anticorpi verso i coronavirus del gatto attraverso l'impiego e il confronto di tecniche sierologiche

Occhio ed Ipertensione Sistemica

La comunicazione in ambulatorio veterinario

RASSEGNA DI MEDICINA FELINA

Direttore Responsabile

Nando Quadrelli

Direttore scientifico

Fausto Quintavalla

Progetto Grafico

Fabrizio Calzetti

Fotocomp. impaginazione

EDITION 2001

Stampa

Stamperia S.c.r.l.

Pubblicità

Fabrizio Calzetti

Tel. 0521/657969

Cell. 339/2373530

AIVPAFE

Associazione Italiana Veterinari Patologia
Felina

affiliata a:

AIVPA

Associazione Italiana Veterinari

Piccoli Animali

ESFM

European Society of Feline Medicine

Comitato scientifico:

Alfredo Buonaccorsi

Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa

Maurizio Del Bue

Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma

Franco Guarda

Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino

Lorenzo Masetti

Facoltà di Medicina Veterinaria di Bologna

Maria Grazia Pennisi

Facoltà di Medicina Veterinaria di Messina

Stefano Romagnoli

Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova

Giuliano Zaghini

Facoltà di Medicina Veterinaria di Bologna

Giuseppe Zannetti

Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma

*Tutti i diritti di proprietà letteraria e scientifica
sono riservati.*

*Manoscritti, fotografie ed elaborati originali,
anche se non pubblicati, non saranno restituiti.*

Editoriale

Divagando sulla nuova storia evolutiva dei felini

Quintavalla F.

Lavori originali

Su di un caso di sindrome di iperestesia felina (FHS):
basi neurofisiologiche e comportamentali

Pag. 7

Siniscalchi M., De Palma G., Iacoviello R., De Cola F., Quaranta A.

Valutazione degli anticorpi verso i coronavirus del gatto
attraverso l'impiego e il confronto di tecniche sierologiche

Pag. 15

Annamaria Pratelli

Casi clinici

Occhio ed Ipertensione Sistemica

Pag. 25

Pier Luigi Dodi, Fausto Quintavalla

Practice management

La comunicazione in ambulatorio veterinario

Pag. 33

Sandro Zucchetta

Letto per voi

Deducibilità dei costi sostenuti per l'acquisto di beni e ser-
vizi destinati a medici, veterinari, farmacisti

Pag. 37

Telefonare gratis via internet si può!

Pag. 39

WSAVA standards for clinical and histological diagnosis of
canine and feline liver diseases.

La mia Tesi

Il gatto come indicatore di sanità ambientale

Pag. 41

Cristina Serventi

Monitoraggio Holter nel gatto: metodologia di indagine
ed applicabilità clinica

Pag. 45

Giulia Ramelli di Celle

PRESIDENTE

Prof. Porciello Francesco
Facoltà di Medicina Veterinaria
Via S. Costanzo, 4 - 06126 Perugia (PG)
Tel. 075.5857660/10/17
Fax: 075.5857613
E mail: fp1@unipg.it

VICE PRESIDENTE

Dr.ssa Sanna Natalia
Via G. Serra, 35 - 80132 Napoli (NA)
Tel. + Fax 081.7645695
E - mail: natalia58@interfree.it

SEGRETARIO

Dr. Spina Fabio
c/o Villa Andreina - Via di Saponara 701
00125 Roma
Tel. + Fax: 06.52310302
E - mail: fabio.spy@libero.it

TESORIERE

Dr.ssa Calcara Margherita
Via Brigata Liguria, 22 - 36100 Vicenza (VI)
Tel. 0445.300 222

CONSIGLIERI

Dr.ssa Cerioni Sara
Via Barazzetto, 28 - 13856 Vigliano (BI)
Tel. 015.510427
E Mail: saracerioni@libero.it

Prof. Pennisi M. Grazia

Via Polo Universitario dell'Annunziata
98168 Messina
Tel. 090.356253/353041
Fax: 090.3503977
E mail: mariagrazia.pennisi@unime.it

Dr. Troi Angelo

Via Carducci 12
30029 S. Stino di Livenza (VE)
Tel. + Fax: 0421.312244
E Mail: vetmed@tin.it

Pubblicazione trimestrale

Registrazione presso il Tribunale di Parma
n. 20/95 del 30/05/1995.

Tiratura 2000 copie.

Abbonamento annuo: €. 30,00 + IVA

Copie arretrate, inclusa spedizione per l'Italia
€. 15,00 cad.

La Casa editrice ed il Comitato di Redazione della Rassegna di Medicina Felina non si assumono responsabilità per errori ed omissioni, né per opinioni espresse dagli autori dei testi, sui quali ricade ogni responsabilità di quanto affermato.

SEGRETERIA DELEGATA

MEDICINA VIVA

Servizio Congressi srl
Viale dei Mille 140 - 43100 Parma
tel. 0521 - 290191
fax. 0521 - 291314
E mail: aivpafe@mvcongressi.it
www.aivpafe.it



DIVAGANDO SULLA NUOVA STORIA EVOLUTIVA DEI FELINI

In un momento di "fermenti virologici" che tengono costantemente in apprensione milioni di persone e il destino di milioni di animali da reddito, mancava altro che il coinvolgimento del gatto, adducendo un suo possibile ruolo come "animale sentinella" della tanto paventata pandemia di influenza aviaria.

Da studi epidemiologici si è appurato che il gatto può presentare tassi anticorpali sierici del virus dell'influenza A. I sottotipi finora isolati sono H7N7, H9N2, compreso il famigerato H5N1. Indipendentemente che si tratti di ceppi virali LPAI (virus a bassa patogenicità) o HPAI (virus ad alta patogenicità), la diffusione di queste notizie hanno scatenato ulteriori allarmismi tra i proprietari di gatti che abitualmente navigano in Internet.

Un analogo allarme era stato ventilato con la SARS (*Severe Acute Respiratory Syndrome*) una malattia sostenuta da un *Coronaviridae*, ordine dei *Nidovirales*, prepotentemente comparsa agli inizi del 2003 nell'area di Guandong in Cina infettando 8096 persone e uccidendone 774. La SARS secondo alcuni studiosi ha preso origine dal "Civet Cat", il quale non è un gatto ma bensì lo zibetto, un viverride. L'uomo non può contrarre la SARS dai suoi gatti, ma persone con SARS possono probabilmente infettare i gatti (Addie D.D.: *SARS - a good reason not to eat the cat*. *Proceeding of The North American Veterinary Conference*, 469-470, 2005). Il gatto, è stato tuttavia utilizzato come modello sperimentale per lo studio della SARS-CoV (Osterhaus et al.: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 359, 2004).

Il gatto è in questo caso vittima, come vittima è di un'altra recente malattia che ha sconvolto il comparto zootecnico bovino, la BSE, altra temibile sigla che ha perturbato il sonno di numerose persone in Europa. Il gatto può ammalarsi di FSE (Encefalopatia Spongiforme Felina) presumibilmente attribuibile al consumo di pet-food prodotti con scarti della macellazione di animali (in tal caso ruminanti) infetti da encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE).

Il gatto è risaputo essere un valido indicatore di sanità animale tanto da venire utilizzato anche come animale sentinella in caso di inquinamento ambientale da metalli pesanti.

Non sempre però è vittima, a volte diventa capro espiatorio per il ruolo che riveste in alcune malattie che possono ripercuotersi sull'uomo. A tutti è nota la toxoplasmosi, che vede il nostro felino rappresentare l'ospite definitivo e il serbatoio di infezione della malattia parassitaria. Ma realmente, quanta colpa può avere il gatto nella diffusione della malattia toxoplasmica visto che elimina le oocisti per sole 2-3 settimane con le feci? Non bisogna poi dimenticare il ruolo dei gatti nella trasmissione all'uomo della bartonellosi (nota anche come malattia da graffio), della clamidiosi e della tubercolosi, oppure della forfora del gatto nell'insorgenza dell'asma infantile.

Questo coinvolgimento sempre maggiore del gatto negli studi scientifici fa sospettare una sua possibile nuova storia evolutiva: da "spazzino" e controllore di animali dannosi, a divinità e animale da compagnia, sostituto del cane e del maiale come animale da laboratorio (rischio veramente limitato visto che in Italia nel 2000 si sono impiegati 25 gatti a scopo sperimentale). Questa sua costante chiamata in causa non sarà però un nuovo tentativo per demonizzarlo?

D'altronde è recente la definizione dell'albero genealogico dei felini. Alla fine del 2005 un gruppo di scienziati, coordinati da Warren Johnson del National Cancer Institute di Frederick nel Maryland, dopo aver esaminato il DNA di 37 specie viventi di felidi, hanno datato le loro radici a 11 milioni di anni fa in Asia. Da allora questi animali hanno fatto circa dieci migrazioni intercontinentali fino a raggiungere l'attuale distribuzione in tutto il mondo. L'albero genealogico evidenzia diversi rami: il primo è quello "feroce", che si è staccato dal principale circa una decina di milioni di anni fa ed è composto da tigri, giaguari, leopardi delle nevi e leoni. Seguono il caracal, l'ocelot, la lince e il puma. Poi sei milioni di anni fa, i leopardi asiatici e infine i gatti domestici. Quest'ultimi, essendo evolutivamente i più giovani, hanno molta più grinta e chance per fare della strada. Li vedremo ricoprire ruoli diversi, attualmente impensabili? Di sicuro a breve non si trasformeranno in uomini, nonostante molti gatti siano sempre più "umanizzati", i geni corrispondenti fra gatto e uomo si trovano nello stesso ordine solamente all'interno del cromosoma X.

Ancora una volta si ripropongono i due dogmi della vita: chi siamo, dove andiamo?

Per il gatto e l'AIVPAFE sul primo quesito non ci sono dubbi, per il futuro ci stiamo organizzando.

Fausto Quintavalla

RIASSUNTO

Nel presente lavoro si descrive un caso di iperestesia felina (FHS) soffermandosi in particolare sui complessi meccanismi neurofisiologici alla base di tale disturbo comportamentale. L'esame clinico e neurologico, le analisi del sangue, la radiografia, la TC e una particolareggiata analisi del comportamento del gatto sono risultati elementi indispensabili ai fini di una diagnosi di certezza. All'origine di tale patologia vi sarebbero alterazioni del tono serotoninergico e complesse interazioni col sistema dopaminergico e adrenergico.

Parole chiave: FHS, sindrome di iperestesia felina, gatto, fisiologia, comportamento.

SUMMARY

In this work, we describe a feline hyperesthesia syndrome (FHS) case by paying more attention to the complex neurophysiologic mechanisms representing the basis of this behavioural disorder. We pointed out that the neurological and clinical test, the blood test, the radiography, the TC and a detailed analysis of cat's behaviour are crucial for a sure diagnosis. This pathology results from alterations of the serotoninergic tone and from complex interactions with the dopaminergic and the adrenergic systems.

Key words: FHS, feline hyperesthesia syndrome, cat, physiology, behaviour.

SU DI UN CASO DI SINDROME DI IPERESTESIA FELINA (FHS): BASI NEUROFISIOLOGICHE E COMPORTAMENTALI

INTRODUZIONE

La sindrome di iperestesia felina (FHS, *feline hyperesthesia syndrome*) rientra tra i disturbi compulsivi del gatto (CD, *compulsive disorder*), una classe di disordini comportamentali molto comune negli animali da compagnia con una percentuale di gatti affetti che varia dal 6% al 12%.^(11,6)

Il disturbo compulsivo, o stereotipia, è un comportamento che si manifesta in modo eccessivo, ripetitivo e al di fuori del contesto naturale in cui esso normalmente avviene. Dallo studio dei dati clinici, raccolti in corso di CD conclamati, si evince come in alcuni casi la loro insorgenza segua dei veri e propri moduli comportamentali di svi-

Siniscalchi M., De Palma G., Iacoviello R., De Cola F., Quaranta A.

Dipartimento di produzione Animale – Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Bari



luppo. Si tratta di comportamenti che scaturiscono inizialmente da una situazione conflittuale, la quale, se prolungata o ripetuta, può dare origine al CD anche in contesti diversi.⁽⁹⁾

Gli atti ripetitivi che caratterizzano i CD, e quindi anche l'FHS, sembrano essere specie-specifici. Infatti per ogni specie ci sono determinati *pattern* comportamentali che, in particolari condizioni, possono essere messi in atto: si tratta per lo più di azioni finalizzate all'autoconservazione che, disassociate dal loro *trigger* naturale, vengono compiute in risposta ad un evento stressante o ad una situazione di disagio. Prevalgono i *pattern* motori associati alla locomozione, alla predazione, alla cura dell'igiene, al comportamento sociale e sessuale.⁽⁷⁾

L'FHS è un esempio di comportamento ripetitivo legato all'igiene, come l'alopecia psicogena, il leccamento di naso e labbra, e il leccamento delle zampe.

In particolare, i comportamenti che caratterizzano l'FHS sono i seguenti: atteggiamento simile a quello osservato nelle gatte in estro (aumento delle attività motorie con rotolamento e sollevamento della regione perineale); eccessivo lambimento del corpo (specialmente fianchi e regione lombosacrale); spasmi dei muscoli pellicciai e della cute del dorso, accompagnati da vocalizzazioni e reazioni di fuga probabilmente dovute ad allucinazioni.

Qualsiasi patologia in grado di indurre uno stato di stress e ansia può determinare il manifestarsi dei disturbi, così come condizioni sociali disagiabili (conflitto di dominanza o ansia da separazione) e un temperamento debole e pauroso.⁽⁷⁾

Tra le cause, si cita spesso la noia. Ci si riferisce ad animali che necessitano di maggiori stimolazioni a livello fisico e che sono molto attivi. Se la condizione non si riduce con l'aumento delle stimolazioni e delle attenzioni, è probabile che non sia la noia la causa del problema.⁽¹⁰⁾

Tutti gli animali che manifestano tali comportamenti devono essere sottoposti ad esami specifici: un esame clinico completo, incluso l'esame neurologico di base, un esame del sangue con profilo biochimico, e un esame delle urine. Può essere opportuno inoltre eseguire un controllo metabo-

lico compresa la funzionalità tiroidea, e valutare i titoli anticorpali per alcune malattie infettive (toxoplasmosi, FELV, FIP, FIV).

Nel presente lavoro si descrive un caso di FHS soffermandosi in particolare sui meccanismi neurofisiologici che sono alla base di tale disturbo compulsivo, la cui conoscenza è indispensabile per impostare un corretto iter diagnostico.

MATERIALI E METODI

Caso clinico - Segnalamento e anamnesi.

Un gatto soriano, maschio, castrato, di tre anni di età è giunto alla nostra osservazione a causa della persistenza di un comportamento che i proprietari definivano molto insolito.

Il gatto è stato prelevato dalla strada all'età di circa 1 mese, vive in appartamento di città senza altri animali, dorme abitualmente sul letto dei proprietari durante la notte e sul davanzale della finestra o su di una sedia durante il giorno. I proprietari riferiscono che, anche se non dedicano molto tempo all'interazione con il gatto, questo si presenta socievole e attivo. È alimentato con cibo secco associato saltuariamente a preparazioni casalinghe.

Dall'anamnesi non risultano patologie pregresse, né terapie o interventi, all'infuori dell'intervento di castrazione, avvenuto all'età di 7 mesi. Il proprietario riferisce una coincidenza temporale tra l'insorgenza del comportamento anomalo e la castrazione.

Il proprietario riferisce i seguenti sintomi: improvvise scosse percorrono il dorso e i fianchi del gatto, seguite da un insistente lambimento della parte interessata, e da leccamento di varie superfici, come pavimento, mobili e oggetti di plastica; gli spasmi muscolari sono regolarmente associati ad una corsa frenetica, interrotta solo per lambire il pavimento; le pupille sono dilatate e lo sguardo si presenta attonito.

Se il proprietario tenta di toccare o prendere in braccio il gatto, questo si allontana bruscamente senza interrompere la routine compulsiva.

Un problema concomitante è rappresentato dalle eccessive vocalizzazioni, che divengono frequen-

ti in coincidenza dell'orario dei pasti. Occasionalmente, gli episodi si verificano durante i pasti, e dopo ogni episodio, il gatto manifesta affanno e iperemia delle mucose.

Sulla base dei segnali anamnestici e dei sintomi clinici viene posto sospetto diagnostico di iperestesia felina (FHS).

Diagnosi differenziale.

Allo scopo di escludere altre patologie che potrebbero causare i sintomi descritti, il gatto è stato sottoposto a visita clinica accurata, comprensiva di esame neurologico completo, e a prelievo di sangue per analisi. Infatti, la diagnosi differenziale include: ipertiroidismo, infezioni cerebrali, traumi cerebrali e tumori, alcuni avvelenamenti (stricnina), infestazioni parassitarie della cute e allergie; e inoltre, FIP, FIV, FELV e toxoplasmosi.

Esame clinico e analisi del sangue.

All'esame neurologico il solo sfioramento della linea mediana del dorso ha permesso il manifestarsi degli accessi. Il gatto è apparso nel complesso alla visita clinica in buono stato di salute. Il soggetto è stato sottoposto a prelievo di sangue dalla vena cefalica dell'avambraccio previa sedazione con medetomidina (5µg/kg), ketamina (5mg/kg) e midazolam (0,3 mg/kg) per via intramuscolare. Il sangue è stato raccolto in provette con EDTA e sottoposto a centrifugazione a 1000 x g per 15 minuti. Il plasma così ottenuto è stato immediatamente inviato al laboratorio per il profilo biochimico e l'esame emocromocitometrico.

Esame radiologico e TC.

Le indagini diagnostiche hanno previsto l'esecuzione di una TC all'encefalo (Fig. 1) e di un esame radiologico della regione lombo-sacrale (Fig. 2) per accertare o escludere patologie chirurgiche.

Osservazione comportamentale.

Una particolareggiata analisi del comportamento del gatto è stata condotta presso il domicilio del proprietario.

RISULTATI

L'osservazione comportamentale ha evidenziato la seguente cronologia e successione di eventi.

Figura 1

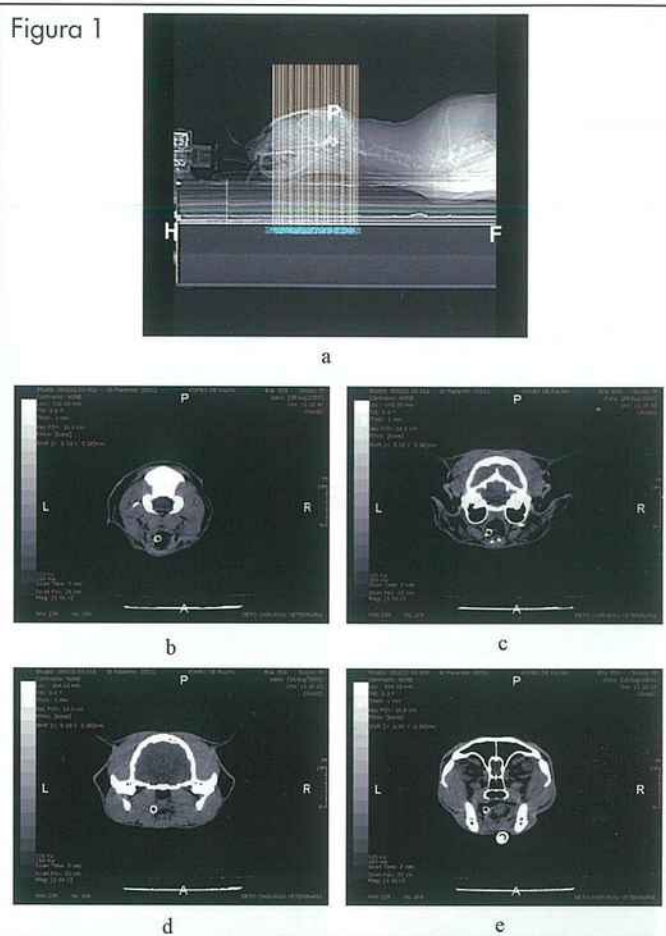
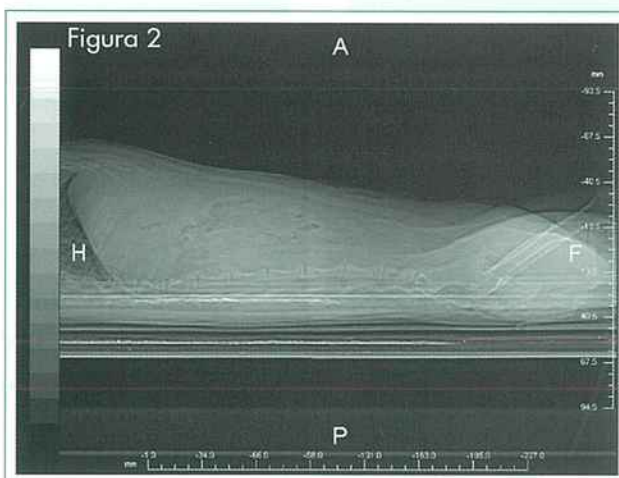


Figura 2



Il disturbo si manifesta con una insolita iperattività la cui insorgenza è improvvisa e imprevedibile. Gli attacchi ricorrono con una frequenza di 1-5 episodi al giorno, ogni 2-5 giorni; la durata di ogni episodio è di 0,5-2 minuti. Le crisi notturne sono più frequenti e intense e insorgono anche all'improvviso durante il sonno. La frequenza e l'intensità delle manifestazioni varia da un mese all'altro in relazione alla stagione dell'anno: durante i mesi estivi le crisi si succedono con fre-



quenza e intensità massime.

Il comportamento è caratterizzato da una tipica successione di eventi (Fig. 3, 4, 5).

Inizialmente il gatto presente midriasi e sembra fissare qualcosa nell'aria (Fig. 3a).

Subito dopo ha inizio la crisi: la testa rivolta verso il treno posteriore, lambimento frenetico dei fianchi e, in senso cranio-caudale, della regione lombosacrale lungo la linea mediana (Fig. 3b, 3c, 3d); sono interessati allo stesso modo gli arti posteriori e anteriori fino agli spazi interdigitali (Fig. 4a, 4b).

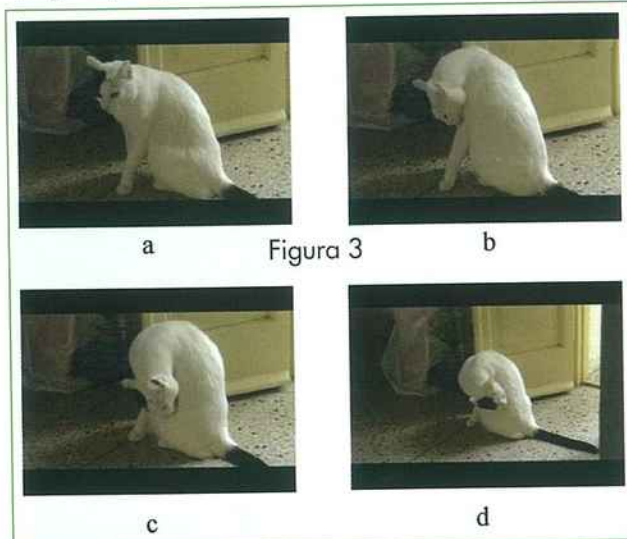


Figura 3

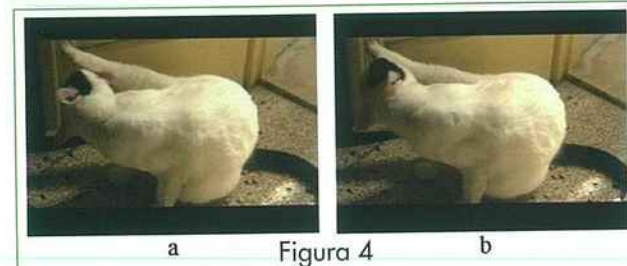


Figura 4

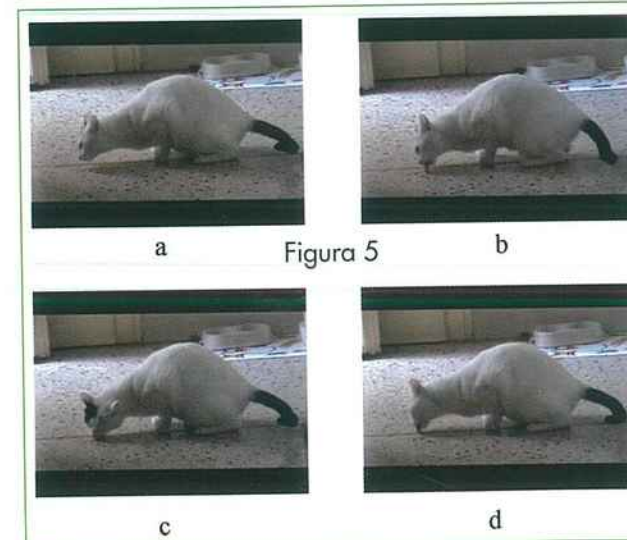


Figura 5

Il leccamento si estende anche alle varie superfici sulle quali il soggetto si trova al momento della crisi, come il pavimento, il tavolo, o addirittura l'armadio (Fig. 5a-5d). Prima, durante e dopo l'azione di leccamento il corpo è percorso da un insolito "increspamento" e "rotolamento" (*rippling*) della cute associati a spasmi dei muscoli pelliccioli (Fig. 6a, 6b).

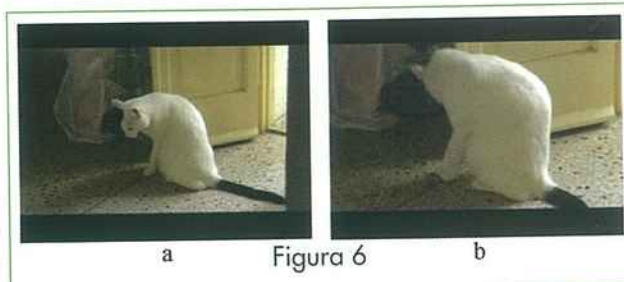


Figura 6

Talvolta intense vocalizzazioni accompagnano la sequenza di eventi, che ha termine immancabilmente con la corsa improvvisa di chi sfugge a un predatore. Al termine della corsa, il soggetto entra in uno stato di prostrazione e affanno, solitamente sul letto del proprietario.

L'analisi ambientale e sociale ha evidenziato carenze di stimoli adeguati e necessari al benessere del gatto. L'appartamento non presenta spazi aperti (balcone, terrazzo, giardino) e sembra limitare il campo di azione del gatto. Le interazioni con i proprietari sono risultate poco frequenti e poco tempo è stato dedicato al gioco. I proprietari non vivono stabilmente all'interno della casa e il gatto viene lasciato solo per molte ore durante la giornata, il che potrebbe rappresentare un elemento ansiogeno per l'animale.

Non vi è stata una alterazione significativa dei parametri biochimici del sangue (Tab.1), anche se è stato evidenziato un lieve innalzamento della ALT-GPT e della glicemia da ricondurre probabilmente allo stress dovuto al prelievo e alle note proprietà iperglicemizzanti della medetomidina impiegata nel protocollo anestetico.

Tutti i parametri dell'esame emocromocitometrico sono rientrati nei limiti del *range* di riferimento per la specie considerata (Tab. 2); il solo abbassamento del PCV è probabilmente da correlare all'emodiluizione conseguente alla fluidoterapia effettuata un'ora prima del prelievo ematico.

Le scansioni assiali dell'encefalo non hanno rile-

Parametri	Risultati	Unità di misura	Valori di riferimento	Metodica
Tiroxina totale (TT4)	26,40	nM/lit	19-65	Immunodosaggio selettivo sequenziale
Tiroxina libera (Free T4)	14,30	pM/lit	5-20	Immunodosaggio selettivo sequenziale
Peritonite infettiva felina/Coronavirus	Neg.			ELISA
Immunodeficienza felina	Neg.			ELISA
Leucosi felina	Neg.			ELISA
Toxoplasmosi	Neg.			
Urea	67,00	mg/dl	40-70	U.V. fixed time
Glucosia	251,00	mg/dl	50-120	Enzimatico (god/pod trinder)
AST-GOT	33,00	UI/lit (37°C)	14-80	Enzimatico U.V.
ALT-GPT	110,00	UI/lit (37°C)	20-90	Enzimatico U.V.
Gamma GT	4,00	UI/lit (37°C)	2-14	Enzimatico
Proteine totali	6,10	g/dl	6-7,5	Protidogramma (Hydrasys)
Albumine	49,70	%	44-56	
Globuline alfa 1	2,60	%	7,8-16,5	
Globuline alfa 2	20,20	%	6,3-18,6	
Globuline beta 1	9,00	%	3,4-8,6	
Globuline beta 2	5,50	%	5-20	
Globuline gamma	13,00	%	7,5-15,1	
Rapporto A/G	0,99	%	0,6-1,2	
Albumine	3,03	g/dl	2,2-3,2	
Globuline alfa 1	0,16	g/dl	0,4-1	
Globuline alfa 2	1,23	g/dl	0,3-1,3	
Globuline beta 1	0,55	g/dl	0,2-0,5	
Globuline beta 2	0,34	g/dl	0,2-1,3	
Globuline gamma	0,79	g/dl	0,5-1	
Creatinina ematica	0,78	mg/dl	0-1,5	Cinetico colorimetrico
Calcio ematico	9,40	mg/dl	8,6-10,8	Colorimetrico
Fosforo	3,40	mg/dl	3,5-6	
Colesterolo totale	211,00	mg/dl	70-150	Enzimatico colorimetrico
Fosfatasi alcalina	82,00	UI/lit (37°C)	40-200	Enzimatico colorimetrico
Bilirubina totale	0,13	mg/dl	0,15-0,3	Colorimetrico
Trigliceridi	56,00	mg/dl	50-100	Enzimatico colorimetrico
Alfa amilasi	823,00	UI/lit (37°C)	530-990	Cinetico colorimetrico
Lipasi	39,50	UI/lit (37°C)	10-200	Cinetico colorimetrico
Lattato deidrogenasi.	449,00	UI/lit (37°C)	70-449	Enzimatico U.V.
Creatinichinasi	457,00	UI/lit (37°C)	50-450	U.V. ottimizzato
Sodio	347,30	mg/dl	323-360	Potenziometria indiretta
Potassio	15,99	mg/dl	12,5-20,5	Potenziometria indiretta
Cloro	420,00	mg/dl	360-440	Potenziometria indiretta

Tabella 1. Profilo biochimico

vato alterazioni delle strutture ossee del cranio e presenza di effetto massa (Fig. 1); inoltre non è stata evidenziata alcuna deviazione della falce. I ventricoli laterali e centrali non hanno mostrato alterazioni nella loro struttura ed il parenchima cerebrale nel complesso è apparso essere omogeneo (Fig. 1d, 1e). Non sono state infine riscontrate alterazioni strutturali dell'area lombo-sacrale all'esame radiologico (Fig. 2). Il complesso dei risultati ottenuti dalle osservazio-

ni comportamentali, indagini cliniche e di laboratorio ha permesso di porre diagnosi di FHS.

I disturbi comportamentali manifestati dal soggetto sono tipici di tale sindrome, conosciuta anche come "rolling skin syndrome", "rippling skin syndrome" o "twitchy cat disease", e contraddistinta dai seguenti sintomi tipici presenti anche nel nostro caso:

- aggressività o iperattività improvvisa;
 - tolettatura eccessiva diretta ai fianchi, alle zampe e alla coda (associata o meno alla perdita di pelo);
 - lambimento di superfici varie (pavimento, tavoli e oggetti di plastica);
 - midriasi;
 - ipersensibilità allo sfioramento dell'area lombosacrale lungo la linea mediana seguita da "increspamento" e "rotolamento" della cute della schiena, associati a spasmi muscolari;
 - vocalizzazioni e in particolare la riproduzione di un verso ad alta tonalità ("meow");
 - allucinazioni (il soggetto sembra seguire con lo sguardo il movimento di cose inesistenti oppure scappa via come da un avversario invisibile).
- Il nostro caso clinico conferma che i soggetti più frequentemente colpiti sono gatti adulti, di età compresa fra 1 e 4 anni, interi o sterilizzati.⁽¹³⁾

DISCUSSIONE

La FHS è dovuta ad alterazioni dei complessi meccanismi neurofisiologici che sovrintendono al comportamento del gatto, ma stimoli ambientali, sociali e lo stato emotivo dell'animale contribuiscono senz'altro a determinare l'evoluzione della patologia.

La causa più probabile è una complessa interazione tra personalità del soggetto (spesso nervoso, solitario e iperattivo) e fattori scatenanti come le frustrazioni. Queste scaturiscono da una sequenza di azioni e comportamenti incomple-



Parametri	Risultati	Unità di misura	Valori di riferimento
WBC	4,92	K/uL	5,50-19,5
Neutrofili	43,6	%	35,0-75,0
Linfociti	48,2	%	20,0-55,0
Monociti	3,33	%	0,00-4,00
Eosinofili	3,31	%	2,00-12,0
Basofili	1,47	%	0,00-0,00
RBC	5,78	M/uL	5,00-9,99
HGB	9,17	g/dl	8-15
PCV	29,0	%	30,0-45,0
MCV	50,2	fL	39,0-55,0
MCH	15,9	pg	12,5-17,5
MCHC	31,6	g/dl	30,0-36,0
RDW	13,0	%	14,4-19,4

Tabella 2. Esame emocromocitometrico

ta, a causa di ostacoli fisici o psicologici che si contrappongono alla volontà del soggetto. Il gatto si troverebbe, di conseguenza, in uno stato di profonda ansietà, spesso aggravato da pressioni ambientali e sociali, alle quali il soggetto non può sottrarsi. Ulteriori fattori potenziali e scatenanti di natura ambientale e sociale sono: inadeguata presenza di stimoli; inadeguato esercizio fisico; inadeguata interazione con la famiglia e altri animali; isolamento; affollamento; conflitto gerarchico; conflitto territoriale; aggiunta o perdita di membri della famiglia o animali; cambiamenti delle abitudini familiari; nuova casa/ambiente; noia; ricovero clinico.⁽⁹⁾

L'approccio terapeutico mira, dunque, ad eliminare o ridurre le fonti di stress e le tensioni responsabili dello stato ansioso. È importante rendere la vita del gatto più motivata e stimolante, aumentando le occasioni di gioco e di interazione, alternando momenti di esercizio fisico a momenti d'apprendimento (come saltare e restare seduto prima di mangiare). La terapia comportamentale è spesso associata ad una terapia farmacologica che va ad agire sui meccanismi di trasmissione neuronale.

L'FHS, come tutti i disturbi compulsivi, comporta infatti a livello neurofisiologico l'attivazione delle vie dopaminergiche, serotoninergiche e degli oppioidi endogeni. Le endorfine, come è noto, sono

rilasciate in seguito ad uno stimolo stressante andando ad agire sui neuroni dopaminergici che, a loro volta, sono implicati nell'attività motoria. L'atto motorio compulsivo così procurato può interessare attività diverse come alimentazione, *grooming* e locomozione. Nel contempo le endorfine, stimolando a livello cerebrale i centri del piacere e la sensazione positiva⁽¹⁴⁾, produrrebbero un rinforzo dell'atto compulsivo (Fig. 7).

Il sistema serotoninergico prende origine dai nuclei del rafe del tronco encefalico. I farmaci maggiormente efficaci ai fini terapeutici agiscono proprio a livello delle vie serotoninergiche. Gli inibitori specifici della riassunzione della serotonina (SSRIs) in particolare, risultano essere i più efficaci nella terapia dei disturbi compulsivi.⁽¹²⁾ Il meccanismo d'azione di questi farmaci è determinare una ritardata diminuzione della sen-

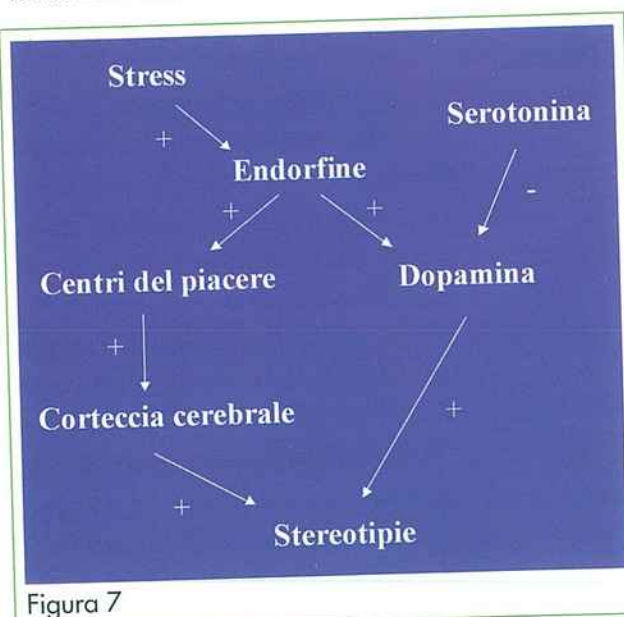


Figura 7

sibilità degli autorecettori inibitori 5-HT1A e 5-HT1B presenti in molte cellule serotoninergiche, che permette un aumento della disponibilità della serotonina stessa.⁽⁴⁾

Il ridotto *reuptake* del neurotrasmettitore permetterebbe una prolungata presenza dello stesso nello spazio sinaptico e di conseguenza ne aumenterebbe l'attività. L'attivazione dei centri serotoninergici a livello di SNC ridurrebbe la frequenza del comportamento compulsivo, in quanto la serotonina svolge una funzione inibitoria sui centri nigrostriatali dopaminergici.^(5,3)

Esiste in conclusione una stretta correlazione tra

sistema serotoninergico, dopaminergico e noradrenergico.

A nostro parere, l'abbassamento dei livelli di serotonina durante le ore notturne potrebbe spiegare perché le crisi ricorrono con maggiore intensità e frequenza durante la notte, allorché, come noto, si elevano le concentrazioni plasmatiche di melatonina, e si abbassano le concentrazioni plasmatiche e intracerebrali di serotonina.⁽²⁾

Altrettanto complesse sarebbero le interazioni tra il sistema nervoso e le ghiandole endocrine. Recenti studi condotti sui topi hanno dimostrato come gli ormoni sessuali possano influenzare il funzionamento del sistema serotoninergico modulando l'attività degli autorecettori inibitori 5-HT_{1A}. Questo dato potrebbe in parte spiegare la differente frequenza di casi di depressione fra i due sessi nell'uomo.⁽¹⁾

Alla luce di quanto detto sarebbe interessante studiare gli effetti della castrazione sull'incidenza dell'FHS. Infatti, gli steroidi sessuali maschili e femminili agirebbero sui neuroni serotoninergici legandosi a recettori intranucleari.⁽⁸⁾

La capacità di estrogeni e androgeni di modulare la neurotrasmissione del centro serotoninergico a vari livelli potrebbe essere rilevante per i meccanismi cellulari e di conseguenza sull'umore del gatto.⁽¹⁵⁾

CONCLUSIONI

La FHS rientra nei disturbi compulsivi del gatto che hanno una incidenza che va dal 6% al 12% delle turbe comportamentali di questa specie.⁽¹¹⁾ L'esame clinico e neurologico, le analisi del sangue, la radiografia e la TC sono risultati elementi indispensabili ai fini di una diagnosi di certezza. Gli oppioidi endogeni, il sistema dopaminergico e serotoninergico risultano essere direttamente coinvolti nei meccanismi neurofisiologici alla base del disturbo. Tuttavia l'ambiente esterno, gli stimoli sociali e lo stato emotivo del soggetto rientrano nel quadro eziopatogenetico, a conferma dell'origine multifattoriale di tale disturbo.

Ringraziamenti

Si ringrazia la sezione di Chirurgia Veterinaria del D.E.T.O. per l'utilizzo delle immagini TC e Rx.

BIBLIOGRAFIA

1. Bouali S., Evrard A., Chastanet M., et al. (2003): Sex hormone-dependent desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors in knockout mice deficient in the 5-HT transporter. *Eur. J. Neurosci.*, 18, 2203-12.
2. Claustat B., Brun J., Chazot G. (2005): The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med. Rev.*, 9(1):11-24.
3. Insel T.R., Zohar J., Benkelfat C., Murphy D.L. (1990): Serotonin in obsessions, compulsions, and the control of aggressive impulses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 600, 574-585.
4. Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessel T.M. (2003): Principi di Neuroscienze. Casa Editrice Ambrosiana, Milano, pp. 1368.
5. Low M. (2003): Stereotypies and behavioural medicine: confusions in current thinking; *Aust. Vet. J.*, 81(4), 192.
6. Luescher U.A. (1998): Pharmacologic treatment of compulsive disorder. In: Dodman NH., Shuster L., editors. *Psychopharmacology of Animal behaviour disorders*. Blackwell Science, Massachusetts, 203-221.
7. Luescher U.A. (2000): Compulsive behaviour in Companion Animals, In: Houpt K.A., *Recent Advances in Companion Animal Behaviour Problems*.
8. McEwen B.S. (2001): Estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J. Appl. Physiol.*, 91, 2785-2801.
9. McKeown D.B., Luescher U.A., Halip J. (1992): Stereotypies in Companion Animals and Obsessive Compulsive Disorder. *Purina Specialty Review* Ralston Purina, 30-35.
10. Overall K.L. (1992): Recognition, Diagnosis, and Management of Obsessive-Compulsive Disorders. *Canine Practice*, 17 (3), 40-44.
11. Overall K.L. (1997): Clinical Behavioral Medicine for Small Animals. Mosby, St. Louis, 118-120.
12. Pageat P. (1998): Pathologie du comportement du chien. Editions du Point Veterinaire, Maisons-Alfort, pp 149.
13. Parker A.J. (1982): Differential diagnosis of brain disease. *Feline behavior. Mod. Vet. Pract.*, 63, 711-5.
14. Quaranta A., Frate A., Siniscalchi M. (2003): Fisiologia ed etologia delle fusa del gatto: ipotesi della risposta in frequenza e della risonanza. *Summa*, 4, 17-20.
15. Taylor G., Bardgett M., Csernansky J., et al. (1996): Male reproductive systems under chronic fluoxetine or trimipramine treatment. *Physiol. Behav.*, 59, 479-485.

VALUTAZIONE DEGLI ANTICORPI VERSO I CORONAVIRUS DEL GATTO ATTRAVERSO L'IMPIEGO E IL CONFRONTO DI TECNICHE SIEROLOGICHE

Annamaria Pratelli

Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria di Bari, Str. Prov. per Casamassima Km 3, 70010 Valenzano, Bari, Italia

RIASSUNTO

I coronavirus del gatto sono virus ubiquitari e ampiamente diffusi nella popolazione felina. Si distinguono due sierotipi, tipo I e tipo II, responsabili entrambi sia di una patologia enterica, generalmente ad andamento benigno, che di una patologia sistemica molto grave con esito infausto che si sviluppa nei gatti con infezione cronica. Nel presente studio è stata effettuata un'indagine sierologia per valutare la diffusione e la prevalenza dei coronavirus nella popolazione felina della Puglia. Sono stati raccolti 120 sieri di gatti provenienti da gattili, allevamenti e ambienti domestici e sono stati testati mediante il test di virus neutralizzazione (VN). I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti con il test ELISA, messo a punto utilizzando l'antigene di FCoV tipo II, e con il test di immunofluorescenza (IFI). Novantasei sieri risultati positivi al test VN sono stati poi confermati dal test ELISA che inoltre ha svelato due ulteriori sieri positivi rispetto a quanto osservato con il test VN, 3 ulteriori sieri positivi rispetto a quanto osservato con il test IFI per FCoV tipo II e altri 12 sieri positivi rispetto a quelli svelati dal test IFI per FCoV tipo I. L'ELISA si è quindi rivelata sostanzialmente il test più sensibile, rivelando una sieropositività totale pari quasi all'82%. Alla luce della nota cross-reattività tra i due sierotipi di FCoV, l'ELISA messa a punto nel presente studio è in grado di svelare gli anticorpi verso entrambi i sierotipi e quindi può essere considerata il test gold standard per la ricerca degli anticorpi verso FCoVs. L'elevata sieropositività emersa nel presente studio, anche se effettuato su un numero non elevato di sieri, permette comunque di asserire che l'infezione da FCoVs è diffusa ampiamente nella popolazione felina della Puglia.

Parole chiave: gatto; coronavirus; sierotipi; anticorpi; ELISA.

ABSTRACT

The seroprevalence of feline coronaviruses (FCoVs) antibodies was studied in cats in Southern Italy. One hundred and twenty sera collected from cats belonging to catteries or community shelters and to households in the region of Apulia, were



tested for FCoV type I and II antibodies. The virus neutralization (VN) test was performed and compared with IFA and ELISA. Ninety-six sera that tested positive for FCoVs with the VN, were also ELISA positive. Interestingly, ELISA, developed with FCoV type II antigen, revealed two more positive sera than did the VN test, three more positive sera than did IFA developed for FCoV type II antibodies and twelve more positive sera than did IFA for FCoV type I. All the results were confirmed by western blotting. ELISA proved to be substantially more sensitive and detected a FCoVs seroprevalence of about 82%. Considering the cross-reactivity of FCoVs type I and type II, the ELISA developed in the present study was able to detect antibodies against both serotypes, allowing to employ the test as gold standard for the screening of the cat sera. Moreover, the high prevalence of antibodies observed in the present study indicates that FCoV infections are common in Apulia cat populations.

Key words: cat; coronavirus; serotypes; antibodies; ELISA

INTRODUZIONE

I coronavirus, inclusi nella famiglia *Coronaviridae*, sono virus ad RNA monocatenario a polarità positiva, provvisti di envelope e responsabili di patologie largamente diffuse sia negli animali domestici che nell'uomo. Possiedono un ampio genoma di 27-32 kb e replicano attraverso un meccanismo particolare ed unico che esita in un'elevata frequenza di processi di ricombinazione ad ogni ciclo replicativo. La glicoproteina S, che forma degli ampi *spikes* sulla superficie del virione e che conferisce al virus l'aspetto di corona da cui si origina il nome della famiglia virale, è la proteina più importante e presiede a diverse funzioni biologiche del virus, prima fra tutti la risposta immunitaria (Gebauer et al., 1991). Sebbene il ruolo immunologico più importante sia attribuito alla glicoproteina S, sia la terminazione amminica che quella carbossilica della glicoproteina M esplicano un'importante ruolo nella risposta immunitaria, determinando la produzione di anticorpi neutralizzanti complemen-

to-mediati (Woods et al., 1987; Enjuanes et al., 2000). Un'altra importante componente del virus è la proteina del nucleocapside N responsabile anch'essa dell'attivazione della risposta immunitaria (Enjuanes et al., 2000).

I coronavirus felini (FCoVs) esplicano una patogenicità diversificata e, se da una parte inducono una patologia enterica ad andamento subclinico che si osserva soprattutto nei gatti giovani, dall'altra possono determinare una forma sistemica immuno-mediata molto grave con esito letale, la peritonite infettiva felina (PIF). I primi, ceppi a bassa virulenza, vengono identificati come coronavirus enterici del gatto (FECV), mentre gli altri, ceppi ad elevata virulenza, vengono identificati come virus della peritonite infettiva felina (PIFV). Un'ulteriore modalità di classificazione dei coronavirus felini prende in considerazione le correlazioni sierologiche con il coronavirus del cane (CCoV) e test di virus neutralizzazione (VN) *in vitro* hanno permesso di distinguere due sierotipi, FCoV tipo I e FCoV tipo II (Hohdatsu et al., 1991a; 1991b; Pedersen et al., 1984). Il sierotipo I rappresenta il precursore dei coronavirus felini ma cresce con estrema difficoltà nelle colture cellulari. Al contrario FCoV tipo II, che ha avuto origine in seguito ad un processo di ricombinazione tra il sierotipo I e CCoV (Herrewegh et al., 1998), cresce e si adatta senza alcuna difficoltà alla replicazione *in vitro*, permettendo un ampio studio delle sue caratteristiche biologiche e patogenetiche rispetto a FCoV tipo I. Indagini epidemiologiche effettuate nelle popolazioni feline di diversi Paesi hanno tuttavia evidenziato una netta prevalenza della diffusione di FCoV tipo I, mentre solo il 20-30% delle infezioni identificate sono attribuibili al sierotipo II (Hohdatsu et al., 1992; Rottier, 1999). Negli ultimi decenni lo sviluppo delle tecniche di biologia molecolare hanno tuttavia permesso di colmare la lacuna ed è stato possibile anche ottenere importanti informazioni sul genoma e sulla biologia di FCoV tipo I. L'analisi completa delle sequenze genomiche di entrambi i genotipi di FCoV e di CCoV hanno dimostrato infatti che la glicoproteina S di FCoV tipo II è più correlata a CCoV rispetto al sierotipo I di FCoV (Herrewegh et al., 1998). Dal momento che lo *spike* S rappresenta

il principale target degli anticorpi neutralizzanti, questa correlazione giustifica e spiega la cross-reattività evidenziata nei test di VN tra FCoV tipo II e CCoV (Vennema, 1999).

I coronavirus del gatto sono virus ubiquitari nella popolazione felina e il maggior numero di animali sieropositivi è osservato nei gattili, negli allevamenti o comunque in ambienti con una elevata densità di animali. Entrambi i sierotipi hanno una meccanismo patogenetico identico, caratterizzato da un ciclo oro-fecale e dallo sviluppo di una forma clinica prettamente intestinale ma lieve e ad andamento subacuto. Diversi Autori hanno dimostrato che il gatto, superata la fase clinica dell'infezione enterica, può albergare il virus nell'intestino in modo asintomatico ed eliminarlo con le feci in modo continuo o intermittente per periodi molto lunghi di mesi o addirittura anni (Foley et al., 1997; Herrewegh et al., 1995, 1997). Questi gatti rappresentano quindi i serbatoi del virus e alcuni di essi possono sviluppare la PIF (De Groot and Horzinek, 1995). E' stato dimostrato che in questi gatti escretori il virus può rimanere confinato nell'intestino, oppure può penetrare nella mucosa intestinale, raggiungere il letto vascolare, generalizzare e raggiungere diversi distretti attraverso l'infezione dei monociti/macrofagi. I meccanismi patogenetici della PIF non sono ancora del tutto chiari. Jacobse-Geels et al., (1982) hanno dimostrato che la PIF è una patologia immuno-mediata e che l'esaltazione anticorpo-dipendente (EAD) evidenziata da Weiss and Scott, (1981) rappresenta una delle fasi più importanti per lo sviluppo della malattia. Clinicamente la PIF può avere un decorso variabile, ma le manifestazioni cliniche più frequentemente osservate nella forma umida della malattia, sono i versamenti nelle cavità peritoneali, pleuriche e pericardiche con conseguente processo infiammatorio delle sierose coinvolte (Figura 1).

Trattandosi di virus ampiamente diffusi nella popolazione felina, la valutazione degli anticorpi verso FCoVs può essere considerato un pratico e rapido sistema di monitoraggio dell'infezione nelle colonie di gatti (canili e/o allevamenti). Il test di immunofluorescenza indiretta (IFI) (Addie and Jarrett, 1992) e il test ELISA (Addie et al.,



Figura 1. Essudato peritoneale prelevato da un gatto con peritonite infettiva.

2004) sono stati utilizzati per dimostrare l'esposizione dei gatti all'infezione ed hanno permesso di evidenziare che le percentuali di positività nei gatti variano notevolmente. Pedersen (1976) ha osservato una positività del 20% in una popolazione random della California, mentre in Austria FCoV tipo I è stato riscontrato nel 62% dei gatti esaminati (Posch et al., 2001). Un'indagine epidemiologica recentemente condotta nella Repubblica Ceca e in Austria su 292 campioni di siero per nazione, ha dimostrato la presenza di anticorpi verso FCoV tipo I rispettivamente nel 58% e nel 64% dei gatti testati (Moestl et al., 2002). In linea generale la percentuale di positività osservata nei gatti che vivono in comunità è sempre piuttosto elevata, attestandosi intorno all'80-90%, mentre la percentuale di gatti domestici positivi non supera generalmente il 50%. Inoltre di questi gatti positivi, solo l'1-5% può eventualmente sviluppare la PIF (Simon et al., 2005). Alla luce di queste osservazioni e considerando che scarsi sono i dati sulla diffusione dell'infezione da FCoV



Vs nei gatti della Puglia, è stata condotta un'indagine sierologia sui gatti di allevamenti, gattili e su gatti domestici attraverso l'impiego della VN e attraverso il confronto di questo test con altre tecniche sierologiche quali l'IFI e l'ELISA

2. MATERIALI E METODI

2.1 Sieri

Sono stati raccolti e testati un totale di 120 sieri di gatti provenienti da allevamenti o comunità feline (101 campioni) e da ambienti domestici (19 campioni) della Puglia. L'età dei gatti era compresa tra i 6 mesi e 1 anno (37 campioni) e oltre 1 anno (83 campioni). Tutti i sieri sono stati stoccati e congelati a -20°C subito dopo il prelievo e fino al momento del loro utilizzo.

2.2. Virus e colture cellulari

Per le analisi sierologiche sono stati utilizzati entrambi i sierotipi di FCoV. Il sierotipo I, ceppo Black (Motokawa et al., 1996), è stato gentilmente fornito dal Prof. H.-J. Thiel (*Justus Liebig Universität, Giessen, Germany*). Il virus è stato coltivato in cellule di feto felino (fcwf-4) e propagate in terreno di Leibovitz L-15 (*Sigma Chemicals, St. Louis, MO*) addizionato del 20% di siero fetale bovino (SFB).

Il sierotipo II, ceppo 25/92, è stato isolato da un gatto con PIF nel 1992 (Buonavoglia et al., 1995). Il virus è stato coltivato sulla linea cellulare CrFK (*Crandell Feline Kidney*) propagata in terreno minimo essenziale (EMEM) (*BioWhittaker, Cambrex Bio Science, Verviers, Belgium*) addizionato del 10% di SFB. L'antigene di FCoV tipo II è stato preparato, per la realizzazione del test ELISA e del test western blotting, a partire dal surnatante di colture cellulari CrFK infette con il ceppo 25/92 e dal surnatante di colture CrFK non infette (controllo negativo). Entrambi i surnatanti sono stati raccolti e congelati dopo 48 h dall'infezione e chiarificati mediante centrifugazione a $3.000 \times g$ per 20 min a $+4^{\circ}\text{C}$ per allontanare i detriti cellulari. Successivamente, i surnatanti sono stati ulteriormente centrifugati per 1 h a $140.000 \times g$ a $+4^{\circ}\text{C}$ per la raccolta dei pellet virale e di controllo. I pellet così precipitati sono stati risospesi in

una soluzione salina tamponata (PBS, pH 7.2) ed utilizzati, rispettivamente, come antigene positivo e antigene di controllo negativo. Il pellet positivo, titolato in piastre *microtiter* utilizzando cellule CrFK, ha rivelato un titolo infettante pari a $10^{4.50}$ TCID₅₀/50 μl (TCID₅₀: Dose Citopatica Infettante Tessuto Colture 50%)

2.3. Anticorpi monoclonali per FCoV tipo I e FCoV tipo II

Due anticorpi monoclonali (MoAbs), gentilmente forniti dal Dott. Gilles Chappuis (*Merial, France*), specifici, rispettivamente, per FCoV tipo I (SS FPV TN 406-1010 B11F, lot. DK05094) e FCoV tipo II (SS FPV 1146 019 E8D, lot. 14/04/97), sono stati utilizzati nel presente studio come controlli positivi. I due anticorpi monoclonali non presentano reattività crociata.

2.4. Virus Neutralizzazione (VN)

Il test di VN è stato applicato per la ricerca degli anticorpi specifici verso FCoV tipo II. Tutti i campioni di siero sono stati preliminarmente inattivati al calore a 56°C per 30 min e, diluizioni seriali in base due di ciascun campione a partire dalla diluizione 1/2, sono state distribuite in doppio in piastre *microtiter* a 96 pozzetti (*Falcon-Becton, Dickinson Labware, Franklin Lakes, NJ USA*) e miscelate con 100 TCID₅₀/50 μl del virus 25/92 (titolo infettante $10^{5.00}$ TCID₅₀/50 μl). Le piastre sono state lasciate a temperatura ambiente per 90 min per permettere l'assorbimento tra il virus e gli anticorpi eventualmente presenti nelle varie diluizioni del siero e, subito dopo, 20.000 cellule CrFK appena tripsinizzate sono state addizionate in ciascun pozzetto. Le piastre così preparate sono state incubate in un termostato a 37°C . Il titolo neutralizzante di ciascun siero è espresso come il reciproco della più alta diluizione del siero in grado di bloccare completamente l'effetto citopatico del virus. Titoli del siero inferiori alla diluizione 1/2, sono stati considerati negativi.

2.5. Test di immunofluorescenza indiretta (IFI)

Il test IFI è stato messo a punto utilizzando sia il sierotipo I che il sierotipo II di FCoV. Cellule fcwf-

4 e cellule CrFK, infettate rispettivamente con il ceppo Black di FCoV tipo I e il ceppo 25/92 di FCoV tipo II, sono state fatte sviluppare in vetrini *multichamber* (LAB-TEK Chamber Slide System, Nalge Nunc International, Naperville) e poi fissate in acetone freddo. Prima dell'utilizzo i vetrini sono stati brevemente immersi in una soluzione di PBS, pH 7.2. Ciascun siero è stato diluito 1/50 in PBS e per raddoppio fino a 1/800. Venti microlitri di ogni diluizione di siero sono stati posti, in duplicato, in ciascun pozzetto dei vetrini contenenti le cellule infette e lasciati in contatto per 30 min a 37°C in camera umida, per favorire l'adsorbimento degli anticorpi eventualmente presenti alle cellule infette. I vetrini sono poi stati sottoposti a tre ripetuti lavaggi in PBS, pH 7.2 in agitazione lenta, asciugati e in ciascun pozzetto sono stati addizionati 20 µl di anti-gatto IgG di capra, coniugate con isotiocianato di fluoresceina (FITC) (Sigma Chemicals, St. Louis, MO). I vetrini sono stati ulteriormente posti in termostato a 37°C in camera umida, e successivamente sottoposti a tre ripetuti lavaggi in PBS, pH 7.2 in agitazione lenta e al termine contrastati con blue di Evans (bioMérieux sa, 69280 Marcy l'Etoile, France). I vetrini sono stati esaminati al microscopio a fluorescenza. In ciascun pozzetto solo i 3/4 delle cellule risultano infette, fornendo così un controllo negativo interno per legami aspecifici degli anticorpi sulla superficie delle cellule. Come controlli positivi sono stati utilizzati gli anticorpi monoclonali specifici per FCoV tipo I (SS FPV TN 406-1010 B11F, lot. DK05094) e per FCoV tipo II (SS FPV 1146 019 E8D, lot. 14/04/97) che presentano, ciascuno, un titolo IFI > 1/800. Il titolo assoluto del siero è la più alta diluizione del siero in grado di produrre evidenti segni di fluorescenza nelle cellule infette. Titoli anticorpali inferiori a 1/50 sono stati considerati negativi. Titoli anticorpali maggiori di 1/800 sono stati considerati 1/800.

2.6. ELISA

Il test ELISA è stato applicato secondo quanto descritto da Pratelli (*submitted*). Brevemente, l'antigene FCoV tipo II diluito in tampone carbonato (15mM Na₂CO₃, 35mM NaHCO₃, 0.02% NaN₃ [pH 9.6]) in modo da ottenere una concentra-

zione proteica pari a 25 µg/ml, è stato adsorbito in ciascun pozzetto di piastre *microtiter* NUNC *polysorp* per ELISA (NUNC, A/S, Roskilde, Danimarke). Altrettanti pozzetti sono stati adsorbiti con antigene di controllo negativo. Le piastre così preparate sono state incubate overnight a +4°C in agitazione lenta e poi sottoposte a quattro lavaggi rapidi in PBS contenente 0.05% di Tween 20 (PBS-T).

Dopo trattamento per 90 min a 37°C con una soluzione di bloccaggio (0.2% di gelatina in tampone carbonato) necessaria per saturare eventuali siti aspecifici di legame degli anticorpi, e dopo ulteriori quattro lavaggi in PBS-T, ciascun siero, diluito 1/50 in PBS-T, è stato addizionato in duplicato nei pozzetti e le piastre sono state incubate per 90 min a 37°C. Sono stati poi effettuati altri lavaggi rapidi in PBS-T e anti-gatto IgG di coniglio coniugate con perossidasi (Labogen, Cortex-Biochem, San Leandro, CA) e diluite in PBS-T, sono state addizionate in ciascun pozzetto. Dopo incubazione per 60 min a 37°C ed ulteriori lavaggi rapidi in PBS-T, è stato aggiunto il substrato appena preparato. Il substrato è costituito da 10mg di 2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline solfato] sale di diammonio (ABTS, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) diluito in 50ml di una soluzione di fosfato citrato, pH 5.0, contenente 25 µl/100ml di perossido di idrogeno. Dopo 25 min di contatto a temperatura ambiente la reazione è stata bloccata con una soluzione 1% di SDS e la densità ottica (DO) è stata letta allo spettrofotometro per ELISA (Biorad, Hercules, USA). Il valore soglia di negatività/positività del test (cut-off), calcolato aggiungendo 3 deviazioni standard alla media aritmetica delle assorbanze dei campioni risultati concordemente negativi, è stato considerato pari a 0.049 e di conseguenza, tutti i campioni con un valore DO eccedente, sono stati considerati positivi. Il valore di DO di ciascun campione di siero è stato ottenuto sottraendo il valore di assorbanza dei pozzetti negativi (antigene controllo negativo) dal valore di assorbanza dei corrispondenti pozzetti adsorbiti con l'antigene.



2.7. Western blotting

Il test western blotting, come descritto da Pratelli (*submitted*) è stato realizzato utilizzando l'antigene di FCoV tipo II. In breve, l'antigene virale, il diluito nel buffer Laemmli (*Biorad, Hercules, USA*), è stato riscaldato a 95°C per 4 min e poi sottoposto ad elettroforesi in gel di poliacrilamide in gradiente 5-20%. Trasferito su membrane di nitrocellulosa Immobilon P con porosità pari a 0.45µm (*Biorad, Hercules, USA*) mediante Camera Transblot (*Biorad, Hercules, USA*) a 10mA per 2 h, i siti non specifici di legame per gli anticorpi sono stati saturati overnight a +4°C con una soluzione di latte disidratato (*Blotting Grade Blocker, Biorad, Hercules, USA*) diluito in tampone Tris (TBS; Tris 25mM, NaCl 200mM, pH 7.4) contenente lo 0.05% di Tween 20 (TBS-TM). Dopo tre cicli di lavaggio in TBS Tween 20 (TBS-T) di 10 min tutti in agitazione lenta, ciascuna membrana è stata messa a contatto con i sieri diluiti 1/100 in TBS-TM per 2 h in agitazione lenta a temperatura ambiente. Dopo ulteriori lavaggi in TBS-T di 10 min, le membrane sono state incubate per 2 h a temperatura ambiente con anti-gatto IgG di coniglio coniugate con perossidasi (*Labogen, Cortex-Biochem, San Leandro, CA*) in agitazione lenta. Sono seguiti accurati lavaggi in TBS-T di 10 min ed è stato aggiunto il substrato DAB [3,3'-diaminobenzidina tetrahydrochloride] (*Sigma Chemicals, St. Louis, MO*) diluito in TBS contenente 0.08% di perossido di idrogeno per visualizzare la reazione cromogena.

3. RISULTATI

Tutti i 120 campioni di siero sono stati preliminarmente testati con il test VN per la ricerca degli anticorpi neutralizzanti. Ventiquattro sieri sono risultati negativi e i restanti 96 sieri sono risultati positivi. Testati successivamente con il test ELISA e con il western blotting, 22 di questi 24 sieri negativi sono risultati concordemente privi di anticorpi specifici per FCoV. Per stabilire se il test ELISA fosse in grado di riconoscere la risposta anticorpale verso entrambi i genotipi di FCoV, gli anticorpi monoclonali verso FCoV tipo I (SS FPV TN 406-1010 B11F) e verso FCoV tipo II (SS FPV 1146

019 E8D) sono stati inseriti come controlli. Diluiti 1/100 come suggerito dalla casa di produzione, i monoclonali hanno confermato la capacità del test di riconoscere entrambi i sierotipi.

I due campioni che avevano dato esito negativo al test VN e, al contrario, un segnale nettamente positivo ai test ELISA e western blotting, sono stati considerati come sieri positivi concordanti in ELISA. Considerando la VN come test gold standard, l'ELISA ha mostrato una sensibilità del 100% e una specificità del 92% (Figura 2).

VN				
		+	-	
ELISA	+	96	2	98
	-	0	22	22
		96	24	

Figura 2. Valutazione della risposta anticorpale verso FCoV nei gatti attraverso l'impiego del test ELISA. Confronto della ELISA con il test VN considerato come gold standard test. All'interno dei riquadri sono riportati il numero dei campioni.

Tutti i sieri sono stati anche testati mediante IFI utilizzando sia i vetrini *multichamber* con cellule fcwf-4 che vetrini *multichamber* con cellule CrFK, infettati rispettivamente con FCoV tipo I e FCoV tipo II. Quando testati con FCoV tipo II, solo 25 sieri, tra i quali erano inclusi anche i ventiquattro campioni risultati senza anticorpi neutralizzanti al test VN, hanno dato esito negativo, mentre i restanti 95 sieri sono risultati positivi fino alle diluizioni 1:100 e 1:200. Considerando questo test

IFA - FCoV II				
		+	-	
ELISA	+	95	3	98
	-	0	22	22
		95	25	

Figura 3. Valutazione della risposta anticorpale verso FCoV nei gatti attraverso l'impiego del test ELISA. Confronto della ELISA con il test IFI, effettuato con FCoV tipo II, considerato come gold standard test. All'interno dei riquadri sono riportati il numero dei campioni.

IFI effettuato il sierotipo II di FCoV come test gold standard, l'ELISA ha mostrato una sensibilità del 100% e una specificità dell'88% (Figura 3).

Diversi sono stati i risultati del test IFI effettuato con il sierotipo I di FCoV, dal quale è emerso che 34 sieri sono negativi e 86 positivi.

I trenta-quattro sieri negativi includono i venti-quattro sieri negativi al test VN. Undici sieri degli 86 risultati positivi hanno evidenziato un basso titolo (positività solo alla diluizione 1:50), mentre il titolo dei restanti 75 sieri oscillava tra la diluizione 1:100 e la diluizione 1:800. Va sottolineato che i 22 sieri risultati concordanti negativi ai test western blotting e ELISA, hanno dato esito negativo in entrambi i test IFI condotti con i due sierotipi di FCoV (Tabella 1).

	VN		IFI		ELISA	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
FCoV tipo I	/	/	86	34	/	/
FCoV tipo II	96	24	95	25	98	22

Tabella 1. Valutazione della risposta anticorpale dei gatti verso FCoV tipo I e FCoV tipo II attraverso l'applicazione di alcune tecniche sierologiche.

VN: virus neutralizzazione; IFI: Immunofluorescenza indiretta; Pos: campioni positivi; Neg: campioni negativi; /: non determinati

Infine, considerando il test IFI con il sierotipo I di FCoV come test gold standard, l'ELISA ha dimostrato una sensibilità del 100% e una specificità del 65% (Figura 4).

IFA - FCoV I				
ELISA		+	-	
	+	86	12	98
	-	0	22	22
		86	34	

Figura 4. Valutazione della risposta anticorpale verso FCoVs nei gatti attraverso l'impiego del test ELISA. Confronto della ELISA con il test IFI, effettuato con FCoV tipo I, considerato come gold standard test. All'interno dei riquadri sono riportati il numero dei campioni.

4. DISCUSSIONE

Le indagini sierologiche condotte in diverse parti del mondo per valutare la diffusione di FCoVs nella popolazione felina, hanno sempre dimostrato che questi virus sono molto diffusi e comuni nei gatti, soprattutto nei soggetti che vivono in comunità, dove è più facile la permanenza e la diffusione di patogeni. L'infezione da FCoV è generalmente asintomatica o associata a lieve diarrea cui segue sieroconversione con la produzione di anticorpi. Tuttavia è importante sottolineare che il riscontro della sieropositività non è indicativa di infezione in corso fino a quando non si dimostri l'avvenuta sieroconversione (tecnica del doppio prelievo) (Addie and Jarrett, 1992). In questo studio, ad esempio, i gatti risultati sieropositivi non

è detto che fossero ammalati al momento del campionamento. Sappiamo che il tempo necessario affinché un gatto produca anticorpi specifici dopo un'infezione primaria con FCoVs, è pari a 7-18 giorni (Stoddart et al., 1988). Diverso è il caso di un gatto precedentemente infetto con FCoV che, in seguito ad un secondario contatto con il patogeno, richiede un tempo decisamente minore per sviluppare e/o potenziare la risposta immunitaria. Nel caso specifico

dell'indagine svolta nei gatti della Puglia, tutti gli animali sono stati campionati una volta soltanto e di conseguenza, il momento della sieroconversione non è stato possibile dimostrarlo per nessun gatto. La sieropositività osservata in questi gatti riflette una passata esposizione al virus.

Addie e Jarrett (1992) hanno dimostrato e chiarito alcuni aspetti dell'infezione da FCoV. Hanno infatti osservato che un gatto dopo aver trascorso 6 giorni in una comunità felina, ha un'elevata probabilità di venire a contatto con il virus e di produrre anticorpi. Il dato è chiaramente ammissibile considerando le caratteristiche patogenetiche del virus che nel gatto infetto compie un ciclo oro-fecale. In accordo con quanto osservato successivamente da Pedersen et al., (1995), gli stessi Autori hanno anche dimostrato un'associazione



tra l'età e la percentuale di animale positivi in una determinata popolazione, dal momento che nei giovani gatti si osservano percentuali di positività sempre più elevate.

I dati osservati e che riflettono la situazione epidemiologica dei gatti della Puglia, benché ottenuti dall'analisi di un numero di sieri non particolarmente elevato, confermano l'elevata percentuale di animali sieropositivi presenti negli allevamenti e nelle comunità feline dove le condizioni igieniche sono piuttosto precarie, così come nei gatti di ambienti domestici.

Nel presente studio la risposta anticorpale del gatto verso FCoV è stata analizzata attraverso l'impiego di diverse tecniche, tra cui l'IFI, l'ELISA, il test VN e il test western blotting, ma è importante sottolineare che la valutazione del titolo anticorpale è un sistema diagnostico valido e applicabile di routine, solo quando realizzato in modo corretto e con tecniche appropriate. Sebbene il test IFI sia stato largamente utilizzato come tecnica sierologia nella clinica veterinaria (Barlough et al., 1983), l'ELISA ha sempre dimostrato di essere un test potenzialmente eccellente per la rapidità di realizzazione e la elevata sensibilità nella valutazione della presenza degli anticorpi verso FCoV nei gatti. Sulla base di queste osservazioni, al fine di verificare se l'ELISA possa essere utilizzata per la ricerca degli anticorpi anti-FCoV, la sua sensibilità e specificità sono state valutate a confronto con il test VN e il test IFI, considerati, rispettivamente, come test gold standard.

La valutazione degli anticorpi nei sieri dei gatti attraverso l'applicazione di tecniche differenti, spesso comporta il raggiungimento di risultati contrastanti. Questa valutazione induce ad effettuare una serie di osservazioni. In primo luogo va sottolineata l'importanza di mettere a punto un test uniforme per la determinazione della risposta anticorpale nei gatti.

Il test ELISA sviluppato ed applicato nel presente studio ha dimostrato possedere una buona specificità e sensibilità nella valutazione della risposta verso FCoV, al punto da poter essere utilizzato nella pratica per lo screening sierologico dei gatti, così come era stato dimostrato nel passato per il test ELISA messo a punto per la determina-

zione degli anticorpi verso CCoV (Pratelli et al., 2002; Pratelli, 2006). Sui 120 emosieri esaminati, quando il test VN è stato considerato come test gold standard, l'ELISA ha dimostrato una sensibilità e una specificità rispettivamente del 100% e del 92%. Quando il test ELISA è stato messo a confronto con il test IFI per FCoV tipo II considerato come test gold standard, la sua sensibilità è risultata sempre del 100%, mentre la specificità è risultata pari all'88%. Quando invece l'ELISA è stata messa a confronto con il test IFI per FCoV tipo I considerato come test gold standard, la sensibilità è stata pari al 100% e la specificità al 65%. Quest'ultimo dato può spiegare perché il test IFI messo a punto con FCoV tipo I ha evidenziato un così alto numero di campioni sieronegativi. In secondo luogo, ma non certo di minore importanza, bisogna sottolineare che, mentre l'ELISA e il western blotting ricercano gli anticorpi diretti verso tutte le proteine maggiori del virus, il test VN è in grado di svelare per lo più gli anticorpi neutralizzanti, diretti verso la glicoproteina S dell'envelope e, di conseguenza, può peccare in sensibilità e fornire informazioni non precise sulla situazione epidemiologica dell'infezione da FCoV nella popolazione felina. In un recente studio è stata valutata la risposta anticorpale diretta verso le proteine più importanti del coronavirus del cane mediante il test western blotting, da parte di tre cani con infezione naturale (Elia et al., 2002). La valutazione è stata effettuata attraverso l'esame dei sieri raccolti a diversi e prestabiliti intervalli di tempo. Da questo studio è emerso che i sieri presentavano un'importante e marcata risposta verso le proteine M e N anche nelle primissime fasi dell'infezione, quando cioè la risposta anticorpale non era completamente e totalmente attivata, mentre la reattività verso la glicoproteina S risultava in queste fasi piuttosto debole. Questo può apparire in contrasto con quanto detto in precedenza sul ruolo e sull'importanza della proteina S nell'induzione della risposta immunitaria nell'animale infetto. Tuttavia va sottolineato che la proteina S è, tra tutte le proteine dei coronavirus, quella più frequentemente coinvolta nei processi di ricombinazione. Queste ricombinazioni molto spesso interessano l'estremità 5' del gene che

codifica per la proteina S che è, notoriamente, la regione più variabile di tutta la proteina, ma anche la sede degli epitopi responsabili della reattività anticorpale (Wesley, 1999). Di conseguenza, l'apparente scarsa reattività osservata da parte della proteina S, può essere in parte imputabile alla debole correlazione esistente tra gli anticorpi sierici e l'antigene virale utilizzato (Elia et al., 2002). Al contrario, le proteine M e N presentano sequenze aminoacidiche più conservate, sono gli antigeni predominanti prodotti dalle cellule infette con il coronavirus (Daginakatte et al., 1999) e quindi possono essere considerate i più importanti target virali della risposta immunitaria. Tutte queste osservazioni permettono di considerare il test ELISA, che si basa sul riconoscimento di tutti gli anticorpi prodotti nel corso di un'infezione da coronavirus, come un test altamente sensibile e specifico per la ricerca degli anticorpi verso il coronavirus.

Ringraziamenti

L'Autore ringrazia il Prof. Canio Buonavoglia per aver fornito il ceppo virale 25/92 di FCoV tipo II. Lo studio è stato eseguito grazie al finanziamento dell'Istituto Superiore di Sanità, Italia (progetto: *Lotta alla SARS, unità operativa: Caratterizzazione genomica di stipiti di coronavirus felino e studio dei meccanismi immunopatologici della peritonite infettiva*).

BIBLIOGRAFIA

1. Addie, D.D., Jarrett, O., 1992: A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens. *Vet Rec.* 130, 133-137.
2. Addie, D.D., Paltrinieri, S., Pedersen, N.C., 2004: Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. *J. Feline Med. Surg.* 6, 125-130.
3. Barlough, J.E., Jacobson, R.H., Downing, D.R., et al., 1983: Evaluation of a computer-assisted, kinetics-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of coronavirus antibodies in cats. *J. Clin. Microbiol.* 17, 202-217.
4. Buonavoglia, C., Sagazio, P., Cirone, F., et al., 1995: Isolamento e caratterizzazione di uno stipite di virus della peritonite infettiva felina. *Veterinaria* 9, 91-93.
5. Daginakatte, G.C., Chard-Bergstrom, C., Andrews, G.A., Kapil, S., 1999: Production, characterization, and uses of monoclonal antibodies against recombinant

- nucleoprotein of elk coronavirus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 6, 341-344.
6. De Groot, R.J., Horzinek, M.C., 1995: Feline infectious peritonitis. In: Siddell, S.G. (Ed.), *The Coronaviridae* Plenum Press, New York, pp. 293-309.
7. Elia, G., Decaro, N., Tinelli, A., et al., 2002: Evaluation of antibody response to canine coronavirus infection in dogs by western blotting analysis. *New Microbiol.* 25, 275-280.
8. Enjuanes, L., Brian, D., Cavanagh, D., et al., 2000. *Coronaviridae*. In: van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., et al. (Eds.), *Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses*, Academic Press, New York, pp. 835-849.
9. Foley, J.F., Poland, A., Carlson, J., Pedersen, N.C., 1997: Patterns of feline coronavirus infection and fecal shedding from cats in multiple-cat environments. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210, 1307-1312.
10. Gebauer, F., Posthumus, W.P., Correa, I., et al., 1991: Residues involved in the antigenic sites of transmissible gastroenteritis coronavirus S glycoprotein. *Virology* 183, 225-38.
11. Herrewegh, A.A.P.M., De Groot, R.J., Cepica, A., et al., 1995: Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33, 684-689.
12. Herrewegh, A.A.P.M., Mähler, M., Hedrich, H.J., et al., 1997: Persistence and evolution of feline coronavirus in a closed cat-breeding colony. *Virology* 234, 349-363.
13. Herrewegh, A.A.P.M., Smeenk, I., Horzinek, M.C., et al., 1998: Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. *J. Virol.* 72, 4508-4514.
14. Hohdatsu, T., Okama, S., Koyama, H., 1991a: Characterization of monoclonal antibodies against feline infectious peritonitis virus type II and antigenic relationship between feline, porcine, and canine coronaviruses. *Arch. Virol.* 117, 85-95.
15. Hohdatsu, T., Sasamoto, T., Okada, S., Koyama, H., 1991b: Antigenic analysis of feline coronaviruses with monoclonal antibodies (MAbs): preparation of MAbs which discriminate between FIPV strain 79-1146 and FECV strain 79-1683. *Vet. Microbiol.* 28, 13-24.
16. Hohdatsu, T., Okada, S., Ishizuka, Y., et al., 1992: The prevalence of type I and II feline coronavirus infections in cats. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 557-562.
17. Jacobse-Geels, H.E.L., Daha, M.R., Horzinek, M.C., 1982: Antibody, immune complexes and complement activity fluctuations in kittens with experimentally induced feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.* 43, 666-670.
18. Moestl, K., Knotek, Z., Toman, M., Faldyna, M., 2002: Seroprevalence of feline coronaviruses in two central european countries: Czech Republic and Austria. 2nd International Feline Coronavirus/Feline Infectious Peritonitis Symposium. Glasgow, Scotland, August 2002.
19. Motokawa, K., Hohdatsu, T., Hashimoto, H., Koyama, H., 1996: Comparison of the amino acid sequence and phyloge-



- netic analysis of the peplomer, integral membrane and nucleocapsid proteins of feline, canine and porcine coronaviruses. *Microbiol. Immunol.* 40, 425-433.
20. Pedersen, N.C., 1976:
Serology studies of naturally occurring feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.* 37, 1449-1453.
 21. Pedersen, N.C., Evermann, J.F., McKeirnan, A.J., Ott, R.L., 1984:
Pathogenicity studies of feline coronavirus isolates 79-1146 and 79-1683. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2580-2585.
 22. Pedersen, N.C., Addie, D.D., Wolf, A., 1995:
Recommendations from working groups of the international feline enteric coronavirus and feline infectious peritonitis workshop. *Feline Pract.* 23, 108-111.
 23. Posch, A., Posch, U., Kuebber-Heiss, A., et al., 2001:
Feline coronaviruses: differentiation of the types I and II by RT-PCR and their occurrence in Austrian cat populations. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 88, 1-9.
 24. Pratelli, A., Elia, G., Martella, V., et al., 2002:
Prevalence of canine coronavirus (CCoV) antibodies in dog in Bari, Italy, by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Virol. Methods.* 102, 67-71.
 25. Pratelli a., 2006:
Genetic evolution of canine coronavirus and recent advances in prophylaxis. *Vet. Res.* 37, 191-200.
 26. Pratelli A.:
Comparison of serologic techniques for the assessment of antibodies against feline coronavirus. *Vet. Microbiol.* Submitted.
 27. Rottier, P.J.M., 1999:
The molecular dynamics of feline coronaviruses. *Vet. Microbiol.* 69, 117-125.
 28. Simons, F.A., Vennema, H., Rofina, J.E., et al., 2005:
A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J. Virol. Methods.* 124, 111-116.
 29. Stoddart, C.A., Barlough, J.E., Baldwin, C.A., Scott, F.W., 1988:
Attempted immunisation of cats against feline infectious peritonitis using canine coronavirus. *Res. Vet. Sci.* 45, 383-388.
 30. Vennema, H., 1999:
Genetic drift and genetic shift during feline coronavirus evolution. *Vet. Microbiol.* 69, 139-141.
 31. Weiss, R.C., Scott, F.W., 1981:
Pathogenesis of feline infectious peritonitis: pathologic changes and immunofluorescence. *Am. J. Vet. Res.* 49, 558-560.
 32. Wesley, R.D., 1999:
The S gene of canine coronavirus, strain UCD-1, is more closely related to the S gene of transmissible gastroenteritis virus than to that of feline infectious peritonitis virus. *Virus Res.* 61, 145-52.
 33. Woods, R.D., Wesley, R.D., Kapke, P.A., 1987:
Complement-dependent neutralization of transmissible gastroenteritis virus by monoclonal antibodies. *Adv. Exp. Med. Biol.* 218, 493-500.

OCCHIO ED IPERTENSIONE SISTEMICA

PREMESSA

L'occhio è un organo riccamente vascolarizzato e, per la sua posizione, particolarmente vulnerante, tanto da essere bersaglio di diverse malattie, anche a carattere sistemico (Tabella 1), specialmente a quelle che coinvolgono l'apparato vascolare (per esempio, ipertensione sistemica, sindromi anemiche e da iperviscosità). Ne consegue che in molte patologie di pertinenza internistica la visita oculistica di base può costituire un ausilio diagnostico determinante, se non addirittura prodromica, come nel caso dell'ipertensione arteriosa sistemica.

CAUSE	PREVALENZA	CAUSE	PREVALENZA
VIRALI		MICOTICHE	
FeLV	+	Criptococcosi	+/-
FIV	+	Istoplasmosi	+/-
FIP	+	Blastomicosi	-
Herpes virus	+	Coccidiodiosi	+/-
Calicivirus	+	Microsporosi	+
Panleucopenia	+/-	Rinosporidiosi (?)	+/-
BATTERICHE		CARDIOVASCOLARI	
Clamidiosi	+	Ipertensione	++
Micoplasmosi	+	Iperviscosità	+
Tubercolosi	+	Coagulopatie	+
Tetano	+/-		
PARASSITARIE		ENDOCRINO/METABOLICHE	
Toxocarasi	+/-	Diabete mellito	+/-
Dirofilariosi	+/-	Iperitroidismo	+
Demodicosi	+/-	Iperlipemia	+/-
Theileriasi	+/-	Iperparatiroidismo	+/-
Miasi	+/-	Encefalopatia epatica	+
		Mucopolisaccaridiosi	+/-
PROTOZOARIE		CARENZE	
Toxoplasmosi	++	Taurina	+
Leishmaniosi	+/-	Tiamina	+/-
		Arginina	+/-
RICKETTSIOSI		NEUROLOGICHE	
Haemobartonellosi	+/-	Disautonomia	++
		Encefalopatia spongiforme	+/-
IMMUNOMEDIATE			
Pemfigo	+		
Allergia	+		

Tabella 1: Prevalenza delle manifestazioni oculari di malattie sistemiche feline (da Roze, 2004, modificata).

IPERTENSIONE SISTEMICA E SEGNI OCULARI

La pressione sanguigna normale (PS), volta ad assicurare un'adeguata perfusione dei tessuti e degli organi vitali, è una condizione complessa definita dall'interazione di molti fattori (genetici, ambientali, umorali, ecc.). Essa riconosce due variabili emodinamiche fondamentali: la gittata cardiaca (GC) e le resistenze periferiche totali (RPT), soprattutto quella delle piccole arterie muscolari e delle arteriose, secondo la formula $PS = GC \times RPT$.

Pier Luigi Dodi, Fausto Quintavalla
Sezione di Clinica Medica Veterinaria - Dipartimento di
Salute Animale - Università degli Studi di Parma



RPT. Un ruolo importante nella regolazione della pressione sanguigna spetta tuttavia anche ai reni e al sistema renina-angiotensina.

I valori pressori normali per il gatto sono 124/84 mmHg (sistolica/diastolica), anche se in bibliografia si rilevano delle differenze tra i diversi Autori, imputabili alla casistica studiata, al metodo di misurazione utilizzato e all'eventuale impiego di contenzioni farmacologiche.

Negli animali l'ipertensione arteriosa insorge quando intervengono modificazioni patologiche che alterano uno o più fattori fisici o neuroendocrini che regolano le relazioni tra volume ematico e resistenze periferiche totali. Nella specie felina l'ipertensione sistemica è quasi esclusivamente secondaria a diverse patologie (Tabella 2), prin-

MALATTIE RENALI Amiloidosi Glomerulonefrite Glomerulosclerosi Nefrite interstiziale cronica Pielonefrite Rene policistico Stenosi arteria renale Tumori renina-secrenti	MISCELLANEA Anemia cronica (gatto) Coartazione aortica Dieta ipersodica Epatopatie Ernia discale cervicale Ipercalcemia Obesità Sindrome da iperviscosità (policitemia, mieloma multiplo) Terapie farmacologiche (glucocorticoidi, progestinici, steroidi anabolizzanti, eritropoietina, ecc.) Tossiemia gravidica
ENDOCRINOPATIE Acromegalia Diabete mellito Feocromocitoma (raro) Iperadrenocorticismo Iperaldosteronismo (raro) Iperestrogenismo Iperparatiroidismo Ipertiroidismo Ipotiroidismo	

Tabella 2: Principali cause di ipertensione nel cane e nel gatto

cialmente insufficienza renale cronica, ipertiroidismo (in particolare nella fase post-trattamento), e nelle situazioni caratterizzate da basse concentrazioni plasmatiche di potassio (Syme e coll., 2002; Elliott, 2004). Escursioni dei valori pressori in crescendo si registrano anche per fattori fisiologici, circadiani e stressanti (Tabella 3).

Per esempio è maggiore nel maschio (76.7% nel cane e 63% nel gatto), e in una particolare fascia di età (cane: 8.9 ± 3.6 anni; gatto: 15.1 ± 3.8 anni) (Villagrasa e Cascales, 2000). Per questo motivo, quando ci si appresta a valutare la pressione ematica è indispensabile effettuare più rilevamenti pressori (da 5 a 10) scegliendo

VARIAZIONI FISILOGICHE	Taglia, razza, età, sesso, peso corporeo
VARIAZIONI CIRCADIANE	Nei cane di razza Beagle: max alle ore 7.00 min alle ore 18.00
VARIAZIONI CORRELATE ALLO STRESS	Effetto "camice bianco" Ambiente stressante/rumori

Tabella 3: Cause di variazione della pressione arteriosa sistemica nel cane e nel gatto in corso di misurazione

un metodo di misurazione non invasivo (tecnica Doppler, metodo oscillometrico), poiché permette di misurare la pressione sanguigna sistemica in modo abbastanza semplice e poco stressante per il gatto (Rossini e coll., 2003).

Il gatto si ritiene iperteso qualora la pressione ematica sistolica è >175 mmHg, purché questi rilevamenti siano accompagnati da segni clinici oculari da ipertensione e/o riscontrabili anche nelle successive visite cliniche. Per contro, i soggetti normotesi sono quelli con pressione <160 mmHg, mentre sono classificati dubbi quelli con una pressione sistolica compresa tra 160-175 mmHg (Elliott, 2004).

I gatti maggiormente a rischio di ipertensione sono solitamente anziani (età superiore agli 11 anni). I segni clinici dell'ipertensione sono riferibili al danno causato dall'elevata pressione sugli organi con maggiore vascolarizzazione arteriosa, come cuore, rene, encefalo, occhio (Tabella 4). Nei gatti ipertesi, all'auscultazione cardiaca si può apprezzare un soffio sistolico e ritmo di galoppo. Radiologicamente, è possibile riscontrare a livello toracico prominenza dell'arco aortico e ondulamento dell'aorta, anche se queste caratteristiche non sono considerate patognomoniche dell'ipertensione (Nelson e Couto, 2002).

I segni neurologici riconducibili ad "encefalopatia ipertensiva" sono il più delle volte aspecifici quali: agitazione, vocalizzazioni, inappetenza fino ad arrivare nei casi più gravi a paresi, stati stuporosi.

A livello oculare è possibile evidenziare numerose alterazioni vascolari poiché l'occhio è l'unica parte del corpo dove, grazie alle sue strutture trasparenti, i vasi sono esplorabili visibilmente (Roze, 2004). Le lesioni oculari associate ad ipertensione sistemica sono riconducibili ad un'insufficiente

MANIFESTAZIONI	CANE	GATTO
Neurologiche	Depressione, apatia Sincope, convulsioni Infarti cerebrovascolari (ictus) Deficit neurologici Vocalizzazioni	Agitazione Disorientamento Vocalizzazioni Inappetenza Tremori Stato stuporoso Ventrofflessione cervicale Paraparesi, paresi Atassia
Cardiovascolari	Insorgenza repentina di soffi cardiaci ECG: aritmie, QRS ampio, onda P ampia, blocco di branca sinistro Ecocardiografia: ipertrofia ventricolare sinistra Epistassi Vasodilatazione sistemica	Soffio sistolico Tachicardia sinusale Ritmo di galoppo Ictto apicale pronunciato Polso femorale saltellante Vasodilatazione sistemica Cardiomegalia Ipertrofia ventricolare sinistra
Oftalmiche	Cecità improvvisa Midriasi Ifema Glaucoma Distacco della retina Ulcere corneali secondarie	Cecità Ifema Glaucoma Emorragie intravitreali Aumento della tortuosità vasi retinici con emorragie Distacco retinico
Aspecifiche	Lamenti Disoressia Poliuria/polidipsia Modificazioni del comportamento	Poliuria/polidipsia Disoressia Dispnea Versamento pleurico

Tabella 4: Manifestazioni cliniche riscontrabili in presenza di ipertensione nel cane e nel gatto

capacità intrinseca di autoregolazione vascolare delle arterie retiniche (Maggio e coll., 2000).

L'ipertensione prolungata induce lesioni nelle piccole arterie e arteriole, consistenti in ipertrofia ed iperplasia della tunica media, perdita della lamina elastica interna, che adduce un restringimento del lume e progressive modificazioni degenerative. Queste lesioni vascolari si traducono localmente con ischemia, ipoperfusione o emorragie: "time delay" vena/retina, costrizioni arteriolari, emorragie retiniche o coroidali, emorragie intravitreali, papilledema, edema peripapillare o subretinico, ischemia dei vasi coroidali, atrofia retinica. I segni riscontrati nell'occhio sono rapportabili ad una retinopatia ipertensiva, o meglio, ad una coroidopatia ipertensiva, spesso bilaterale, con aumento della tortuosità dei vari arteriosi retinici, lesioni iperriflettive, glaucoma,

ulcera corneale, ifema, cecità.

L'intervento terapeutico è differente se l'episodio ipertensivo è grave e repentino (in tal caso rappresenta una vera e propria emergenza terapeutica) o cronico, com'è più facile riscontrare nella pratica ambulatoriale.

L'approccio terapeutico, in quest'ultimo caso, come consigliato da Atkins (2004), dovrebbe essere attuato suddividendo i gatti in base a: causa reversibile (sì o no), con o senza presunta attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone (insufficienza renale, insufficienza cardiaca, o trattamento con vasodilatatori o diuretici dell'ansa) e presenza o assenza di tachicardia (>200 battiti/min).

Dal momento che la maggior parte dei casi di ipertensione è associata a grave malattia primaria e che l'ipertensione arteriosa sistemica è un processo ad andamento progressivo, autoperpetuante ed aggravante le altre patologie, la prognosi a lungo termine è spesso riservata, nonostante l'apparente risposta ai farmaci anti-ipertensivi (Tabella 5).

Ne consegue che la perdita della vista raramente si riacquista ma la sopravvivenza dei gatti in media è di 18-21 mesi dalla data della diagnosi (Atkins, 2004).

VISITA OCULISTICA DI BASE IN CORSO DI IPERTENSIONE FELINA

La visita oculistica nel gatto iperteso è un atto semiologico che deve avvenire successivamente ad un'accurata raccolta anamnestica, ad un attento segnalamento, compendiato da un esame generale dell'animale e da eventuali esami di laboratorio. La visita oculistica è una tappa importante per un corretto approccio clinico al paziente, in quanto molte volte i danni oculari sono il primo campanello d'allarme di uno stato ipertensivo. Essa deve rispettare uno scrupoloso protocollo consapevole delle notevoli difficoltà legate soprattutto alla gestione del paziente felino (Barsotti e



PRINCIPIO ATTIVO	NOME COMMERCIALE	DOSAGGIO	INDICAZIONE
Amlodipina besilato	Antacal(*), Monopina(*), Norvasc(*)	0,625 mg/kg/12 h o 1,25 mg nei gatti di peso <4 kg al mattino per os	Anti-ipertensivo
Atenololo	Atenol(*), Atermin(*), Tenormin(*)	6,25-12,5 mg/12-24 h per os	Antiarritmico, anti-ipertensivo, cronotropo negativo
Benazepril	Fortekor	0,25-0,5 mg/kg/12-24 h per os	ACE-inibitore
Captopril	Acepress(*), Capoten(*), Tenpril(*)	0,5-1,25 mg/kg/12-24 h per os	ACE-inibitore
Diltiazem	Altiazem(*), Dilem(*), Dilzene(*)	3,125-6,25 mg/kg/12-24 h per os	Bloccante canale del calcio, vasodilatatore, cronotropo negativo
Enalapril	Enacard	0,5 mg/kg/24-72 h per os	ACE-inibitore
Eparina		100 U/kg SC	Anticoagulante
Furosemide	Dimazon, Diuren	1-2 mg/kg/12 h per os	Diuretico
Idroclorotiazide	Esidrex(*)	1-2 mg/kg/12 h per os	Diuretico
Nitroglicerina		0,25-0,5 cm topicamente 3 volte al dì	Vasodilatatore venoso
Propranololo	Inderal(*)	2,5-10 mg/capo/8-12 h per os	Antiarritmico, anti-ipertensivo, cronotropo negativo
Spirolattone	Aldactone(*), Spirolang(*), Uractone(*)	1-2 mg/kg/12 h per os	Diuretico
Verapamil	Isoptin(*), Verapin(*)	1,1-2,9 mg/kg/8 h per os	Bloccante canale del calcio

Tabella 5: Principali farmaci utilizzati nel trattamento dell'ipertensione felina
(*)= disponibile in commercio per uso umano

Lucchi, 2002). Occorre inoltre ricordare che la visita deve essere condotta in un ambiente tranquillo ed oscurabile.

Nella valutazione dell'occhio, ed in particolare nei soggetti colpiti da segni oculari da ipertensione sistemica, sarà opportuno valutare la capacità visiva, la pressione intraoculare, la camera anteriore, il corpo vitreo ed il fondo oculare.

Inizialmente è indispensabile studiare il comportamento del gatto per capire se l'animale è in grado di vedere. Il proprietario spesso riferisce che in ambiente domestico il gatto vede poiché evita gli ostacoli; questo trova giustificazione in quanto l'animale "memorizza" la disposizione degli ostacoli nell'ambiente in cui vive. Un animale non vedente presenta molta difficoltà nel muoversi invece in un ambiente del tutto nuovo utilizzando molto l'olfatto e il tatto. Si muove lentamente, con circospezione, sia sul tavolo da visita sia quando è posto a terra per potersi muoversi liberamente.

Spesso urta eventuali oggetti presenti nella stanza o posti sul suo percorso.

Allo studio del suo comportamento faranno quindi seguito alcune manovre semeiologiche utili per lo studio della funzione visiva, come il test della minaccia, il "cotton balls test", la valutazione del riflesso pupillare, il riflesso all'abbagliamento, la risposta di posizionamento visivo e il test degli ostacoli. Il test della minaccia deve essere condotto con molta attenzione in quanto un semplice movimento d'aria può falsare il risultato. Il test del batuffolo di cotone consiste nel fare passare davanti al campo visivo dell'animale un piccolo batuffolo di cotone.

I gatti, ed in particolare gli animali paurosi e i gattini, rispondono non sempre in maniera ottimale a questo test.

Il riflesso pupillare (diretto e indiretto o consensuale) si basa sulla risposta della pupilla (miosi) quando la luce viene diretta verso l'occhio; negli

animali sani, l'occhio controlaterale risponderà anch'esso positivamente con miosi.

Una volta valutata la visione si procederà all'esame fisico dell'occhio. Per questa seconda fase è necessario avvalersi di alcuni strumenti e sostanze farmacologiche: fonte luminosa, oftalmoscopio diretto, tonometro di Schiotz, ecografo, strisce di fluoresceina, anestetico locale, midriatico. L'esame esterno dell'occhio con una luce puntiforme (penna luce o di Finoff) può essere completato utilizzando un occhiale ingranditore che permetterà un maggiore ingrandimento e di conseguenza l'apprezzamento di lesioni di dimensioni minori. In questo modo si riuscirà anche a valutare molto più attentamente la camera anteriore dell'occhio. Nei soggetti ipertesi, con quadri oculari gravi, è possibile riscontrare un ifema, ossia la presenza di sangue nella camera, che può impedire lo studio delle strutture oculari sottostanti.

Dopo aver accertato l'integrità corneale con la fluoresceina, si procederà alla valutazione della pressione intraoculare (PIO: valore normale 15-25 mmHg). Nei soggetti con ipertensione sistemica si può riscontrare glaucoma o uveite. Nel primo caso si osserverà un aumento della PIO, mentre nell'uveite si rileverà una diminuzione (Barnett e Crispin, 1998).

L'esame oftalmoscopico diretto, nei soggetti colpiti da ipertensione, permette di evidenziare le emorragie retiniche e vitreali e i distacchi retinici parziali o totali. Nei casi più gravi è possibile osservare, avvalendosi semplicemente di una penna luminosa, un riflesso rosso-grigiastro dietro ad una pupilla midriatica.

In presenza di ifema, in cui non è possibile utilizzare l'oftalmoscopio diretto, risulta fondamentale il ricorso all'esame ecografico. L'ecografia oculare B-mode è la procedura diagnostica meno invasiva che permette d'identificare e differenziare le patologie intraoculari valutando la gravità e l'estensione delle lesioni emorragiche e dei distacchi retinici.

L'approccio diagnostico può essere ulteriormente compendiato da indagini strumentali più sofisticate, come l'angiofluorescinografia, che permettono lo studio dei vasi del fondo oculare.

CASO CLINICO 1

Ettore, gatto Europeo, maschio di 8 anni, fu portato alla visita clinica in quanto il proprietario lamentava una cecità associata ad una dilatazione del diametro delle due pupille. Nell'occhio sinistro, inoltre, presentava una emorragia che interessava tutta la camera anteriore. La raccolta anamnestica permise di rilevare che la difficoltà visiva era insorta da un mese, mentre il quadro emorragico a carico dell'occhio sinistro era comparso da circa una settimana. L'insorgenza delle manifestazioni oculari, a detta del proprietario, erano apparse repentinamente e in passato l'animale non aveva denunciato nessun problema ne oculare ne sistemico, ad eccezione di uno stato di poliuria/polidipsia che si trascinava da un paio di mesi.

All'esame obiettivo generale venne evidenziato un lieve dimagramento associato ad una modesta dolorabilità alla palpazione renale e a segni di iperemia del colletto gengivale dell'arcata dentaria superiore. Gli esami ematobiochimici misero in evidenza un aumento dei valori di due parametri di funzionalità renale: creatinina 5,4 mg/dl (VN <1,6 mg/dl) ed azotemia 185 mg/dl (VN 20-60 mg/dl). I test diagnostici per FIV, FeLV, FIP e toxoplasmosi diedero esito negativo.

Ad un primo esame esterno dell'apparato visivo si osservò una midriasi bilaterale ed un grave ifema all'occhio sinistro che interessava tutta la camera anteriore (Foto 1).

Con la penna luce era possibile evidenziare a carico dell'occhio destro, dietro la pupilla, un riflesso rosso-grigiastro. Il test della minaccia ed il riflesso pupillare diretto e consensuale di entrambi gli occhi erano negativi. La pressione intraoculare risultò OD 23 mmHg, OS 18 mmHg.

Con l'ausilio dell'oftalmoscopio diretto si esaminò il fondo dell'occhio destro che evidenziò un distacco totale della retina con emorragie vitreali. Nell'occhio sinistro, vista la presenza dell'ifema, si optò per un esame ecografico oculare transpalpebrale, in cui fu possibile visualizzare la retina totalmente distaccata con un'essudazione emorragica che interessava totalmente il vitreo. A seguito del rilevamento di questi valori e sulla base del-



Occhio destro



Occhio sinistro

Foto 1



Foto 2

L'EOP dell'occhio si procedette alla misurazione della pressione sistemica che risultò >180 mmHg, confermando l'esistenza di una situazione clinica rapportabile ad ipertensione felina.

CASO CLINICO 2

Giuditta, gatto Europeo femmina, 14 anni, sterilizzata.

Il soggetto in questione fu sottoposto a visita clinica in quanto il proprietario da circa un mese notava una midriasi con un riflesso rossastro in entrambi gli occhi (Foto 2), che tendeva tra l'altro ad accentuarsi quando il soggetto inclinava la testa di lato. Inoltre, sempre a detta del proprietario, da almeno due settimane l'animale mostrava un certo disorientamento visivo.

L'anamnesi remota non evidenziò precedenti manifestazioni patologiche, né a livello oculare né sistemico.

Anche in questo caso si procedette rispettando lo stesso protocollo semeiologico descritto nel caso clinico precedente. Alla visita clinica i reni appa-

rivano di piccole dimensioni e, come nel precedente caso clinico, il soggetto presentava un rialzo dei valori della funzionalità renale (creatinina: 3,8 mg/dl; azotemia: 204 mg/dl) e dei valori della pressione ematica sistolica (195 mmHg). Nello studio della funzione visiva si apprezzò assenza di positività al test di minaccia e al riflesso pupillare diretto e consensuale. La PIO era nella norma in entrambi gli occhi. L'esame del fondo oculare evidenziò la presenza di un distacco totale bilaterale con emorragie retiniche.

BIBLIOGRAFIA

1. Atkins C.E. (2004): Feline hypertension: risks and management. Proceedings of the North American Veterinary Conference, 119-121
2. Barnett K.C., Crispin S.M. (1998): Feline ophthalmology. Saunders, London
3. Barsotti G., Lucchi L. (2002): La visita oculistica nel gatto: difficoltà e peculiarità. Rassegna di Medicina Felina 6(3), 19-31
4. Cotran R.S., Kumar V., Collins T. (2000): Robbins: le basi patologiche delle malattie. VI edizione. Piccin Editore
5. Egner B., Carr A., Brown S. (2003): Essential facts of blood pressure in dogs and cats. Beate Egner Vet Verlag
6. Elliott J. (2004): Practical approach to the diagnosis of hypertension in cats. Proceedings of the North American Veterinary Conference, 128-129
7. Glaze M.B., Gelatt K.N. (1999): Feline ophthalmology. In: Gelatt K.N. Veterinary ophthalmology, Third Ed. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia
8. Maggio F., DeFrancesco T.C., Atkins C.E., Pizzirani S., Ginger B.C., Davidson M.G. (2000): Ocular lesions associated with systemic hypertension in cats: 69 cases (1985-1998). J. Am. Vet. Med. Assoc.

- 217, 695-702
9. Nelson R.W., Couto C.G. (2002): *Medicina interna del cane e del gatto*. Seconda edizione. Masson-Edizioni Veterinarie
 10. Quintavalla F. (2003): Monitoraggio e controllo farmacologico dell'ipertensione nel cane. Atti Congresso Nazionale AIVPA su "Monitoraggio terapeutico del paziente cardiopatico", Padova
 11. Rossini C., Sgorbini M., Bizzetti M. (2003): Valutazione del metodo oscillometrico per la misurazione della pressione arteriosa nel gatto: studio preliminare. *Rassegna di Medicina Felina* 7(3), 7-11
 12. Roze M. (2004): Ocular manifestations of feline systemic diseases. *Proceedings of the North American Veterinary Conference*, 747-748
 13. Syme H.M., Barber P.J., Rawlings J.M., Markwell P.J., Elliott J. (2002): Incidence of hypertension in cats with naturally occurring chronic renal failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220, 1799-1804
 14. Stades F. C., Wyman M., Boevé M.H., Neumann W. (1998): *Ophthalmology for the veterinary practitioner*. Ed. Schlütersche Hannover
 15. Veneziani A., Quintavalla C. (2001): Ipertensione arteriosa sistemica nel gatto. I: eziologia e fisiopatologia. *Obiettivi e Documenti Veterinari* 7/8, 43-48
 16. Villagrasa M., Cascales M.J. (2000): Arterial hypertension: angiographic aspects of the ocular fundus in dogs. A study of 24 cases. *The European Journal of Companion Animal Practice* 10(2), 177-190

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

1. La *Rassegna di Medicina Felina* pubblica articoli originali, casi clinici e recensioni riguardanti la patologia felina.
2. La rivista pubblica lavori in lingua italiana. È necessario che i lavori siano scritti in una forma corretta e non devono essere stati pubblicati in precedenza. La redazione si riserva la facoltà di apportare modifiche formali al testo per poterlo adattare alle esigenze tipografiche. L'autore sarà contattato nel caso di modifiche di maggiore entità.
3. Il lavoro dovrà essere realizzato su materiale cartaceo, corredato del relativo C.D. o floppy disk con testi trattati in word e delle illustrazioni necessarie. Le didascalie delle illustrazioni dovranno essere inserite in un file a parte da quello contenente il lavoro. Il tutto dovrà essere inviato a mezzo postale al seguente indirizzo: Prof. Fausto Quintavalla Sez. Clinica Medica Veterinaria - Dipartimento di Salute Animale Via del taglio 8 - 43100 Parma. Nel caso di materiale fotografico digitale, per poter garantire un buon risultato di stampa si raccomanda tassativamente di inviare le immagini in alta definizione con 300 punti per pollice, in formato JPG, EPS o TIF con base minima 10x15. Per i grafici usare i seguenti programmi: excel per le tabelle e word per i testi. Tale materiale potrà essere inviato tramite posta elettronica al seguente indirizzo: fausto.quintavalla@unipr.it. In questo caso si raccomanda la compressione dei files. Il materiale fotografico non sarà restituito.
4. I testi devono essere stampati in doppia spaziatura su una sola facciata di fogli di carta da lettere bianca di dimensioni convenzionali. Devono essere inviate tre copie del materiale illustrativo e del testo nella versione italiana.
5. Gli articoli originali devono comprendere introduzione, materiali e metodi, risultati, discussione e conclusioni. Ogni articolo deve inoltre essere corredato da un breve riassunto in italiano e in inglese oltre a 3-4 parole chiave (sempre in italiano e in inglese).
6. Bibliografia - Gli autori sono responsabili dell'accuratezza di ciascun riferimento bibliografico. Gli argomenti discussi nel testo devono fare riferimento a voci bibliografiche numerate. Fino a quattro autori vengono riportati tutti gli autori se sono di più, dopo i primi tre, si deve aggiungere et al.. I riferimenti alle riviste devono comprendere il loro titolo abbreviato secondo quanto previsto dall'Index Medicus.
7. Per ogni articolo sarà richiesto il giudizio di almeno due esperti di settore.
8. Lettere al direttore relative agli articoli della rivista o su argomenti pertinenti agli scopi culturali e scientifici della rivista stessa, di estensione non superiore a due pagine dattiloscritte, potranno essere pubblicate con relativa risposta.
9. Bozze di stampa verranno inviate all'autore per la revisione senza il manoscritto originale. Esse devono essere restituite alla segreteria.

Due nuovi ceppi di Calicivirus, associati e sinergici,
in grado di proteggere dalle varianti di campo.

Nuova Chlamydia viva attenuata,
per proteggere nelle situazioni a rischio.

Totale assenza di adiuvanti,
per una maggiore sicurezza.

Una gamma completa,
per la massima flessibilità.

Ampiamente testata,
per la massima efficacia.

Guarda la vaccinazione felina con occhi nuovi



PUREVAX®

Il nuovo modo di vedere la vaccinazione felina.

Da Merial, gli specialisti dei vaccini.



Merial Italia S.p.A - Strada 6 - Palazzo E/5 - 20090 Assago (MI).
Tel. 02/577661 - Fax 02/57766301 - Servizio Tecnico 02/57766328-330-329

1ª Parte

Trenta secondi per leggere cinque domande:

- 1- Ritengo che gli altri (clienti, colleghi, collaboratori) capiscano sempre quello che sto dicendo?
- 2- Riesco sempre a pensare secondo logica e con chiarezza ciò che voglio comunicare?
- 3- Tengo conto degli interessi e delle necessità altrui quando cerco di guadagnarmi la loro attenzione?
- 4- Qualche volta ho la tendenza ad ascoltare soltanto quello che voglio sentire?
- 5- Creo mai impressioni errate con il mio comportamento?

Se anche una sola di queste domande ha provocato una riflessione su situazioni pregresse o in atto, quanto segue potrebbe essere un contributo alla comprensione di un problema di comunicabilità in una quotidiana performance della quale siamo noi gli attori protagonisti, che però non sempre vengono gratificati dal meritato applauso. Qualche volta neanche al calar del sipario...

La comunicazione è essenzialmente una trasmissione di informazioni. Affinché questo processo avvenga, la fonte e il destinatario dell'informazione devono avere una base comune, che è la comprensione della sommatoria di immagini, parole o altre sensazioni impiegate per trasmettere una informazione.

Malintesi e incomprensioni, dai quali originano la maggior parte dei nostri cattivi rapporti con il prossimo, sono per lo più generati semplicemente da comunicazione impropria o inefficace.

Il comunicare correttamente è pertanto il presupposto essenziale per ridurre negli individui alcuni atteggiamenti negativi quali, per esempio, la litigiosità o l'aggressività.

Nel nostro caso, una efficace comunicazione ci aiuterà in momenti importanti della visita clinica quali la raccolta degli elementi anamnestici, la presentazione della diagnosi e della prognosi, la spiegazione della terapia... e della parcella.

La comunicazione è la condivisione di un significato, e una adeguata strategia informativa è in grado di accrescere l'efficacia della comunicazione stessa.

Per condividere con il suo destinatario un signifi-

LA COMUNICAZIONE IN AMBULATORIO VETERINARIO

Dr. Sandro Zucchetta
Cliniva Veterinaria S. Francesco
S. Donà di Piave (VE)



cato, la *fonte* deve convertirlo in un messaggio. Inizia così il flusso comunicativo che si rivelerà efficace soltanto se il messaggio sarà comprensibile e coerente con il linguaggio.

Il linguaggio, cioè tutti i modi di esprimere il messaggio (immagini e suoni, posture, atteggiamenti, parole, odori, colori e quant'altro sia in grado di suscitare sensazioni) deve essere adeguato al *destinatario*. In pratica il flusso comunicativo deve avvenire con i due interlocutori alla stessa altezza.

Ad esempio, l'uso di una terminologia rigorosamente tecnica con chi non è in grado di comprenderne il significato, sicuramente carica di importanza il messaggio ma altrettanto può creare una barriera comunicativa, cioè impedisce al flusso comunicativo di arrivare a destinazione.

Il messaggio pertanto deve subire da parte della *fonte* un processo di codifica, cioè gli viene data una struttura (un insieme di elementi quali, per esempio, tono della voce e scelta dei vocaboli, luogo e ora di emissione) che poi dovrà essere decodificata dal *destinatario*.

La risposta di un *destinatario* ad un messaggio rappresenta il feed-back alla *fonte*. Che diventa a sua volta *destinatario*.

Quindi, mentre il flusso di informazioni è lineare, il corretto percorso del messaggio ha un andamento circolare.

Quando il risultato della decodifica differisce da ciò che è stato codificato si genera il cosiddetto rumore, cioè qualunque cosa riduca la chiarezza e l'efficacia della comunicazione.

In pratica, è bene sapere a *chi* si comunica, che cosa si desidera comunicare, *come* lo si vuole fare.

Non esiste una regola fissa che assicuri la comunicazione perfetta. E' certo, però, che tra due individui che vogliono comunicare tra loro vi è maggiore possibilità che il messaggio "passi" ove esista una compatibilità tra chi lo invia e chi lo riceve (situazione ottimale) o, perlomeno se uno dei due conosce la tecnica di comunicazione.

La comunicazione viene accademicamente divisa in *verbale* (tutto ciò che è parola) e *non-verbale* (l'atteggiamento, la postura, la voce, lo sguardo, l'abbigliamento, la cura della persona e degli

ambienti, nonché tutti gli elementi in grado di provocare una emozione).

Molti studi sono stati eseguiti per quantificare l'una e l'altra caratteristica con delle percentuali che, sia pure con valori un po' diversi, hanno confermato la prevalente importanza della *comunicazione non-verbale* (visiva 55% + vocale 38% = 93%) rispetto alla *comunicazione verbale* (soltanto 7%).

Alcune ricerche portano ad altri valori (70% e 30%, rispettivamente), forse più realistici, ma che comunque non cambiano la valutazione nella sostanza.

Quando parliamo di *comunicazione visiva*, ci riferiamo a tutto ciò che l'occhio coglie nell'ambiente ma anche sulla persona. Postura, gestualità, abbigliamento, contegno...: una quantità di contatti visivi che contribuiscono a dare la prima impressione.

Si considera che i movimenti corporei e le espressioni facciali siano otto volte più decisivi delle parole usate.

La posizione eretta conferisce un messaggio di autorità. Le spalle abbassate, il volto portato verso l'avanti o le gambe accavallate esprimono un atteggiamento che va dall'informale all'amichevole, ma che esprime disponibilità o perlomeno neutralità.

L'abbigliamento adeguato alla circostanza favorisce l'interesse dell'interlocutore e dà credibilità al contenuto verbale. Per esempio, nel caso sia necessario comunicare una informazione importante al cliente, indossare sopra il green un camice bianco pulito con il cartellino di riconoscimento, serve a togliere in quel momento quell'aura di confidenzialità, che magari in altri momenti abbiamo avuto, ma che poco si addice alla serietà del momento.

Un contegno dignitoso, il rispetto per l'animale, per il cliente e per il loro disagio e/o sofferenza contribuiscono in modo determinante a creare il legame emozionale alla base del rapporto comunicativo.

I movimenti involontari possono far trapelare una serie di emozioni che vanno dal disinteresse all'ansia. Testa appoggiata sul pugno, braccia conserte, dita che tambureggiano, piedi che oscilla-

no, ginocchia che ondeggianno, sguardo rivolto altrove: indicano disinteresse, poca partecipazione, fretta. E sono potenti barriere comunicative, cioè un ostacolo al flusso di informazioni.

Stare troppo vicini, a meno di mezzo metro, può produrre una sensazione di invadenza. Essere posizionati a più di un metro e mezzo, invece, induce una sensazione di distacco e disinteresse. Gli atteggiamenti del corpo sostengono o screditano quanto viene detto!

Guardare l'interlocutore negli occhi significa considerarlo importante e la volontà di trasmettergli un messaggio sincero. Così come una carezza affettuosa al petto all'ingresso in ambulatorio, durante la visita e al momento del congedo, serve a comunicare più di qualsiasi parola la nostra partecipazione e la nostra disponibilità a risolvere il problema.

Sorridere sinceramente fa apparire disponibili e avvicinabili, fa sentire meglio gli interlocutori ed è, tra l'altro, una sensazione che viene comunicata istantaneamente.

La posizione ed il movimento delle mani enfatizzano il discorso. Movimenti lenti e gesti ampi dimostrano entusiasmo e interesse per quanto viene detto.

La voce deve essere di sostegno al messaggio da comunicare, poiché è un potente mezzo per guadagnare l'attenzione e incoraggiare l'interlocutore all'ascolto.

Usare un tono di voce ben impostato indica che si sa cosa si sta facendo e guadagna la fiducia altrui.

La voce bassa dà importanza al discorso. Alternare il tono della voce lo vivacizza.

Il ritmo rende difficile all'interlocutore seguire il messaggio fino alla comprensione, soprattutto se ci sono termini tecnici o difficili. D'altra parte, il ritmo lento è noioso e induce alla distrazione. Il ritmo esitante denuncia insicurezza. Le pause vanno intercalate alle parole per dare un ritmo armonico al discorso e sono importantissime per creare attenzione: determinate parole o a frasi importanti del discorso saranno precedute e seguite anche da adeguate pause.

Pertanto è utile, prima di iniziare un discorso, darsi il tempo necessario per impostarlo mental-

mente, magari prendendosi una breve sospensione facendo delle manualità sull'animale.

Esauriti gli effetti visivi e vocali, resta soltanto il messaggio verbale con il quale è necessario rispondere alle tre domande capitali: qual è il problema; se, come e quando avverrà la guarigione; quanto costa.

Il messaggio, in questa fase, deve essere chiaro, logico ed esauritivo.

Il linguaggio deve essere semplice e corretto. L'uso di esempi, similitudini o anche di citazioni o espressioni dialettali può essere utile per eliminare barriere comunicative. La terminologia tecnica può e deve essere usata, ma va anche spiegata a chi non la comprende.

Le parole devono esprimere un concetto: non contraddirlo, svalutarlo o enfatizzarlo.

Anche se le parole rappresentano solo una piccola parte del processo comunicativo, hanno un elevato peso specifico. E' necessario pertanto usarle correttamente, poiché sono il tramite ultimo con l'interlocutore.

Le parole "giuste" sono quelle che imprimeranno al messaggio comunicativo la spinta definitiva per la comprensione.

La comunicazione è efficace quando il messaggio viene decodificato in modo corretto. Chi riceve il messaggio è portato a filtrare selettivamente le informazioni. Le persone tendono infatti, secondo specifiche necessità individuali, a fare proprie le informazioni prestando attenzione soltanto agli aspetti particolari che hanno interesse per loro e interpretandole soggettivamente piuttosto che oggettivamente.

Spesso le persone leggono e sentono quello che si aspettano di vedere o sentire. Giudizi, pregiudizi e umore sono fattori che influenzano la precisione della ricezione del messaggio.

Quanto viene ricevuto dal *destinatario* nel processo di comunicazione, non sempre riflette ciò che la *fonte* intendeva comunicare. Inoltre, se la *fonte* trasmette informazioni filtrate ed il *destinatario*

le recepisce solo parzialmente, si può creare un divario enorme che potrebbe causare serie incomprensioni. La maggior parte dei conflitti relazionali, infatti, si innesca con questo meccanismo.



Ancora un minuto per rispondere a queste domande di verifica:

- 1- Riordino i pensieri prima di comunicarli?*
- 2- Presto la dovuta attenzione alle parole che uso?*
- 3- Scelgo termini comprensibili per l'interlocutore?*
- 4- Trasmetto le informazioni in modo tale che abbiano chiaramente il significato che intendo?*
- 5- Mi sforzo di ricevere i messaggi altrui in modo neutrale e senza pregiudizi?*
- 6- Tengo conto del fatto che è la risposta dell'interlocutore ad indicare che si è verificata una comunicazione efficace?*

Circolare del 18/01/2006 n. 3 Agenzia delle Entrate

Deducibilità dei costi sostenuti per l'acquisto di beni e servizi destinati a medici, veterinari, farmacisti

L'art. 2, comma 8, della legge n. 289 del 2002, commentato nella circolare n. 42/E del 26 settembre 2005, con riferimento a tutte le categorie di reddito di cui all'art. 6, comma 1, del TUIR, afferma l'indeducibilità di costi e spese riconducibili a fatti, atti o attività qualificabili come reato.

Il comma 9 del medesimo articolo 2, prevede testualmente che "sono indeducibili ai sensi dell'articolo 75 (ora art. 109) del citato testo unico di cui al decreto del Presidente della Repubblica n. 917 del 1986, e successive modificazioni, i costi sostenuti per l'acquisto di beni e servizi destinati, anche indirettamente, a medici, veterinari o farmacisti, allo scopo di agevolare, in qualsiasi modo la diffusione di specialità medicinali o di ogni altro prodotto ad uso farmaceutico."

Occorre ricordare che l'articolo 170 del testo unico delle leggi sanitarie, approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, sanziona penalmente il medico o veterinario che "ricevano per sé o per altri, denaro o altra utilità allo scopo di agevolare, con prescrizioni mediche o in altro modo, la diffusione di specialità medicinali o di prodotti ad uso farmaceutico" (c.d. reato di comparaggio). I successivi articoli 171 e 172 del citato testo unico, disciplinano la punibilità del medesimo reato a carico del farmacista e dei produttori e commercianti di specialità medicinali. Un'analoga disposizione, inoltre, è contenuta nell'art. 11 del decreto legislativo 30 dicembre 1992, n. 541, recante attuazione della direttiva 92/28/CEE concernente la pubblicità dei medicinali per uso umano. Tale disposizione prevede che, "nel quadro dell'attività di informazione e presentazione dei medicinali - svolta dagli informatori scientifici - è vietato concedere, offrire o promettere premi, vantaggi pecuniari o in natura, salvo che siano di valore trascurabile e siano comunque collegabili all'attività espletata dal medico e dal farmacista. I medici e i farmacisti non possono sollecitare o accettare alcun incentivo

vietato ...".

In caso di violazione di tale disposizione si rendono applicabili le sanzioni penali previste dagli articoli 170, 171 e 172 del citato testo unico delle leggi sanitarie.

Nel citato decreto legislativo n. 541 del 1992 sono contenute altre norme che regolano la pubblicità di medicinali presso gli operatori sanitari da parte delle imprese farmaceutiche, in particolare con riguardo alla organizzazione di convegni e congressi (art. 12) ed alla distribuzione di campioni gratuiti (art. 13).

Il citato art. 12, al comma 5, prevede che eventuali oneri per spese di viaggio o per ospitalità, sostenute in occasione dell'organizzazione di convegni e congressi devono essere limitati agli operatori del settore qualificati e non possono essere estesi ad accompagnatori, nè possono riguardare medici generici. La norma fissa, inoltre, limiti alla durata ed alle modalità dell'ospitalità, che non può eccedere il periodo di tempo compreso tra le dodici ore precedenti l'inizio del congresso e le dodici ore successive alla conclusione del medesimo, nè può presentare caratteristiche tali da prevalere sulle finalità tecnico-scientifiche della manifestazione.

L'art. 13 stabilisce le caratteristiche dei campioni gratuiti dei farmaci, le modalità di distribuzione e le quantità massime che possono essere consegnate ai medici. In particolare, i campioni gratuiti possono essere consegnati solo ai medici autorizzati a prescriverli e dietro richiesta scritta, recante data, firma e timbro del destinatario; inoltre, nei primi diciotto mesi di commercializzazione del medicinale, non possono essere consegnati più di due campioni per visita con un limite massimo di dieci campioni annui per ogni forma farmaceutica o dosaggio, mentre, per i medicinali in commercio da più di diciotto mesi, non possono essere consegnati più di cinque campioni per visita con un massimo di venticinque campioni annui. La violazione degli obblighi previsti da tali disposizioni comporta l'applicazione delle sanzioni amministrative pecuniarie di cui all'art. 201 del testo unico delle leggi sanitarie, come modificato dall'art. 70 del decreto legislativo 30 dicembre 1999, n. 507.



Alla luce della normativa speciale appena esaminata, la presente circolare fornisce chiarimenti in merito all'ambito di applicazione delle disposizioni del comma 2 della legge n. 289 del 2002 in esame, coordinando, in particolare, il regime di indeducibilità contenuto nella disposizione del comma 9, con specifico riguardo al settore farmaceutico, con il regime generale di indeducibilità dei costi e spese riconducibili ad illeciti penalmente rilevanti, di cui al comma 8.

Al riguardo, si ritiene che l'ineducibilità fissata dalla norma operi non solo in relazione ai costi riferibili a fattispecie che integrano il reato di comparaggio sanzionato dal testo unico delle leggi sanitarie, ma anche in relazione ai costi riferibili ad altri comportamenti che, pur non configurando ipotesi di reato, contrastano con la normativa speciale in materia di pubblicità dei prodotti farmaceutici presso gli operatori sanitari, di cui agli articoli 12 e 13 del decreto legislativo n. 541 del 1992.

Più precisamente, l'ineducibilità riguarda quelle fattispecie in cui i produttori e commercianti di farmaci e specialità medicinali offrano, direttamente o indirettamente, beni e servizi gratuiti agli operatori sanitari, oltre i limiti che il citato decreto legislativo n. 541 stabilisce con riferimento a:

- a) premi e vantaggi pecuniari o in natura, di cui all'articolo 11;
- b) spese relative all'organizzazione di convegni e congressi dell'articolo 12;
- c) distribuzione di campioni gratuiti di farmaci dell'articolo 13.

Le disposizioni in esame, in particolare, con la finalità evidente di disincentivare comportamenti che determinano una crescita patologica della spesa sanitaria, riflettendosi sui prezzi dei farmaci e sulle quantità prescritte, affermano l'ineducibilità delle spese sostenute per l'acquisto di quei beni e servizi destinati ai medici, veterinari e farmacisti, che configurano comportamenti illeciti vietati dalla norma penale oppure dalla disciplina speciale del settore.

In altre parole, l'ineducibilità riguarda tutti quei costi, normalmente riconducibili alla categoria delle spese di rappresentanza, relativi all'offerta a titolo gratuito di beni e servizi agli operatori

sanitari che superino il modico valore e, quindi, non "siano di valore trascurabile". Si ricorda che caratteristica fondamentale delle spese di rappresentanza, come quelle di cui trattasi, è proprio la loro gratuità, ossia la mancanza di corrispettivo o di un obbligo di dare o fare a carico dei soggetti che beneficiano dei beni o servizi cui le spese si riferiscono.

Per lo specifico settore, quindi, i costi in esame sostenuti da produttori e distributori di prodotti farmaceutici, in deroga alle disposizioni dell'art. 108 del TUIR, sono interamente indeducibili se superano il modico valore, perchè carenti, in virtù di una presunzione legale, del requisito di inerenza.

Di conseguenza, ai sensi delle norme in esame non sono deducibili, in particolare, i costi sostenuti per l'acquisto di beni e servizi di valore elevato, quali, ad esempio, le spese relative all'acquisto di beni durevoli, anche se strumentali all'attività medica (computer, telefoni cellulari, borse professionali, ecc.) e quelle relative all'acquisto di servizi per soggiorni ed ospitalità (spese per viaggi, alberghi e ristorazione), che non rientrano nell'organizzazione di convegni e congressi ai sensi dell'art. 12 del citato d.lgs. n. 541 del 1992.

A tale ultimo riguardo, si sottolinea che sono indeducibili anche i costi per soggiorni ed ospitalità sostenuti in violazione delle disposizioni dell'art. 12 del d.lgs. n. 541 del 1992 che disciplinano l'organizzazione di convegni e congressi scientifici, con particolare riferimento ai limiti - sopra richiamati - fissati al comma 5 in relazione alla durata del soggiorno ed ai soggetti in favore dei quali è ammesso il sostenimento di detti costi.

In applicazione dell'art. 36, comma 13, della legge 27 dicembre 1997, n. 449, come modificato dall'art. 2, comma 5, legge 28 dicembre 2001, n. 448, si ricorda che le spese sostenute per organizzare i convegni e congressi sono deducibili nei limiti del 20 per cento del relativo importo (ad esempio, le spese per l'affitto dei locali e di eventuali attrezzature, per il soggiorno dei relatori e dei partecipanti, ecc.).

Sono, invece, deducibili, a titolo esemplificativo, le spese di modico valore per l'acquisto di materiale di consumo (ad esempio, ricettari, cancelli-

ria) e di riviste a carattere scientifico destinati a medici, veterinari e farmacisti.

L'indeducibilità, infine, riguarda anche le spese relative alla distribuzione di campioni gratuiti di farmaci, effettuata in violazione delle anzidette modalità e condizioni, nonché dei precisi limiti quantitativi stabiliti dall'art. 13 del d.lgs. n. 541 del 1992.

Telefonare gratis via internet si può!

"Il telefono la tua voce", recitava un vecchio spot pubblicitario, poi sostituito da alcuni in ... "Il telefono la tua croce", per i ben noti costi che tutti dobbiamo sostenere quando utilizziamo sia il telefono fisso sia quello mobile.

E allora: tutti alla ricerca del mezzo migliore per spendere meno! Il libreria è appena uscito un libro a cura di Alessandro Longo *Come si fa a telefonare gratis o quasi con Internet* (Tecniche Nuove). Le tecniche descritte dall'autore sono diverse, tutte facilmente realizzabili. Occorre armarsi di computer, cuffia, microfono, webcam e una connessione a Internet. A questo punto basta andare sul sito www.skipe.com e scaricare il programma gratuito e installarlo. Per telefonare ci si collega alla Rete e se il computer di colui a cui vogliamo telefonare è acceso, squillerà e funzionerà come un normale videotelefono.

Ma quanto costa? Quando la voce corre su Internet si paga solo il costo della tariffa urbana se si accede ad Internet con un vecchio modem, mentre se utilizziamo una linea Adsl (veloce per intenderci) è gratis. Se dal computer invece chiamiamo un telefono fisso o un cellulare non si paga lo scatto alla risposta, e le tariffe interurbane e internazionali possono essere più basse anche del 90%. State comunque sempre attenti se chiamate i telefoni mobili.

Esistono altri mezzi per risparmiare. Contattando Parla.it (www.parla.it), con 9,89 euro al mese (se avete una connessione Adsl) si possono chiamare i telefoni fissi a costo zero, oppure chiamando il numero 130 di Tiscali (installando una linea Adsl e Tiscali Voce Free) con 20 euro al mese si può telefonare ovunque con tariffe a volte dimezzate.

WSAVA standards for clinical and histological diagnosis of canine and feline liver diseases.

Fresco di stampa, uscito con i tipi della Saunders, un'associata dell'universo editoriale Elsevier, la prima edizione di un'iniziativa del World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) che sicuramente sarà di estremo aiuto per tutti i patologi clinici e per gli specialisti in medicina interna nella pratica clinica veterinaria.

Il libro, di 144 pagine, riporta le guidelines standard per la diagnosi della malattie epatiche del cane e del gatto, utilizzando sia criteri istologici sia clinici. L'elaborato, a cura dello "WSAVA Liver Standardization Group", vede il contributo di illustri docenti americani ed europei, e in particolare: Jan Rothuizen (University Utrecht, Olanda), Susan Bunch (North Carolina State University, USA), Jenny Charles, John Cullen (North Carolina State University, USA), Valeer Desmet (Leuven University, Belgio), Viktor Szatmari (University Utrecht, Olanda), David Twedt (Colorado State University, USA), Ted van den Ingh (University Utrecht, Olanda), Tom van Winkle (University of Pennsylvania, USA), Robert Washabau (University of Minnesota, USA).

Il testo, la cui prefazione è a cura di Claudio Brovida e Hein Meyer, si sviluppa in 9 capitoli affrontando diversi aspetti che ciascun internista dovrebbe conoscere: come ottenere campioni di tessuto epatico, l'esplorazione ecografia, gli shunts porto-sistemici, le classificazioni morfologiche dei disturbi biliari e del parenchima e delle patologie a carattere neoplastico.

CURECAL[®]

ACIDIFICANTE URINARIO

FANNE
UN CAMPIONE
CON


ACME



In questa rubrica viene riportata la sintesi, curata dall'Autore, della propria Tesi di Laurea o di Specializzazione

IL GATTO COME INDICATORE DI SANITÀ AMBIENTALE

Sintesi della tesi di Laurea di Cristina Serventi
Anno Accademico 2003-2004
Facoltà di Medicina Veterinaria
Università degli Studi di Parma
Relatore Prof. Fausto Quintavalla

L'inquinamento ambientale rappresenta uno dei principali problemi che assillano la salute pubblica mondiale in quanto spesso gli inquinanti ambientali sono chiamati in causa come agenti di gravi patologie invalidanti per l'uomo e gli animali. Tra le diverse forme di inquinamento ambientale una delle più diffuse e pericolose è rappresentata dalla contaminazione dell'atmosfera, del suolo e delle acque con metalli pesanti.

Gli animali, sia terrestri che acquatici, sono spesso utilizzati come "sentinelle" di sanità ambientale, in particolare per studi epidemiologici da esposizioni croniche. Numerose ricerche sono state effettuate su diverse specie animali, pochissime per quanto riguarda il gatto.

Con il presente lavoro si è cercato di portare un contributo allo studio della qualità dell'ambiente urbano utilizzando il gatto randagio come indicatore di sanità ambientale in quanto condivide lo stesso ambiente degli uomini, ricalcando per molti aspetti il suo stile di vita.

Lo studio si è basato sulla valutazione ematica di tracce di metalli pesanti in gatti, come monitor dell'inquinamento ambientale, sul territorio parmense. In particolare sono state studiate le concentrazioni sieriche di tredici metalli pesanti: argento, alluminio, arsenico, cadmio, cobalto, cromo, ferro, magnesio, manganese, nichel, piombo, rame e zinco.

MATERIALI E METODI

Sono stati presi in esame 67 gatti randagi di entrambi i sessi, appartenenti a colonie di felini della provincia di Parma, apparentemente sani, di cui 36 vivono in città, 31 vivono in diverse zone rurali della provincia.

Il sangue, prelevato dalla vena giugulare o dalla cefalica dell'avambraccio di ciascun animale, è stato posto in provetta da siero senza anticoagulante; la separazione della frazione di siero è stata ottenuta mediante centrifugazione e il campione ottenuto è stato conservato a -20°C fino al momento delle analisi.

Al momento delle analisi i campioni di siero sono stati scongelati a temperatura ambiente e preparati per il dosaggio: a 0,5 ml di siero sono stati



aggiunti 7,5 ml di una soluzione al 2% di HNO_3 , in modo da ottenere un volume finale di 8 ml complessivi. Dai campioni in cui la quantità di siero era inferiore a 0,5 ml sono stati prelevati 0,1 ml di siero e portati al volume finale di 8 ml tramite aggiunta di 7,9 ml della stessa soluzione al 2% di HNO_3 .

Per la determinazione analitica di piombo e ca-

ne per ogni riga analitica.

RISULTATI

I valori medi delle concentrazioni sieriche dei metalli pesanti dei gatti che vivono in città ed in campagna sono stati messi a confronto tra loro e riportate in Tabella 1 e 2.

		ELEMENTO CHIMICO					
		Ag (mg/l)	As (mg/l)	Cd (mg/l)	Cr (mg/l)	Ni (mg/l)	Pb (mg/l)
Media	città	0,0261	0,1284	0,0009	0,0083	0,0251	0,0039
	campagna	0,0288	0,1223	0,0008	0,0395	0,0271	0,0039

Tabella 1. Concentrazioni medie di Ag, As, Cd, Cr, Ni, Pb dei gatti di città e campagna a confronto.

		ELEMENTO CHIMICO						
		Al (mg/l)	Co (mg/l)	Cu (mg/l)	Fe (mg/l)	Mg (mg/l)	Mn (mg/l)	Zn (mg/l)
Media	città	0,8017	-	1,1856	3,9379	24,9705	-	4,5125
	campagna	0,4127	0,0000	0,9809	5,2507	23,0016	-	2,0091

Tabella 2. Concentrazioni medie di Al, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn dei gatti di città e campagna a confronto.

dmio è stato utilizzato uno spettrofotometro ad assorbimento atomico Perkin Elmer Analyst 600, dotato di correttore di fondo ad effetto Zeeman. Prima dell'incenerimento il campione è stato adizionato di 5 μl di modificante di matrice costituito da una soluzione all'1% di $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e allo 0,06% di $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Il programma termico di incenerimento e atomizzazione utilizzato per la determinazione del piombo era il seguente: 110°C per 30s, 130°C per 30s, 850°C per 20s, 1600°C per 5s, 2450°C per 3s. Il programma termico impiegato per la determinazione del cadmio era il seguente: 110°C per 30s, 130°C per 30s, 500°C per 25s, 1500°C per 5s, 2450°C per 3s. Per la determinazione analitica di Ag, Al, As, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni e Zn è stata utilizzata la tecnica della spettrometria di emissione atomica con eccitazione a plasma ad induzione (ICP-AES). È stato utilizzato un ICP sequenziale Jobin Yvon Ultima 2 con configurazione della torcia radiale.

Il flusso del gas di trasporto era regolato a 12 l/min, la potenza del generatore di radiofrequenza era fissata 1100 W.

La configurazione sequenziale dello strumento ha permesso di ottimizzare i parametri di acquisizio-

Ferro, magnesio, rame e zinco sono presenti in tutti i soggetti (sono anche elementi essenziali).

Il manganese non è stato riscontrato in quantità determinabili con il metodo utilizzato in nessun soggetto.

Arsenico, cadmio, piombo, alluminio, rame, zinco e magnesio sono risultati in concentrazioni superiori nei gatti provenienti da ambiente cittadino rispetto a quelli di ambiente rurale.

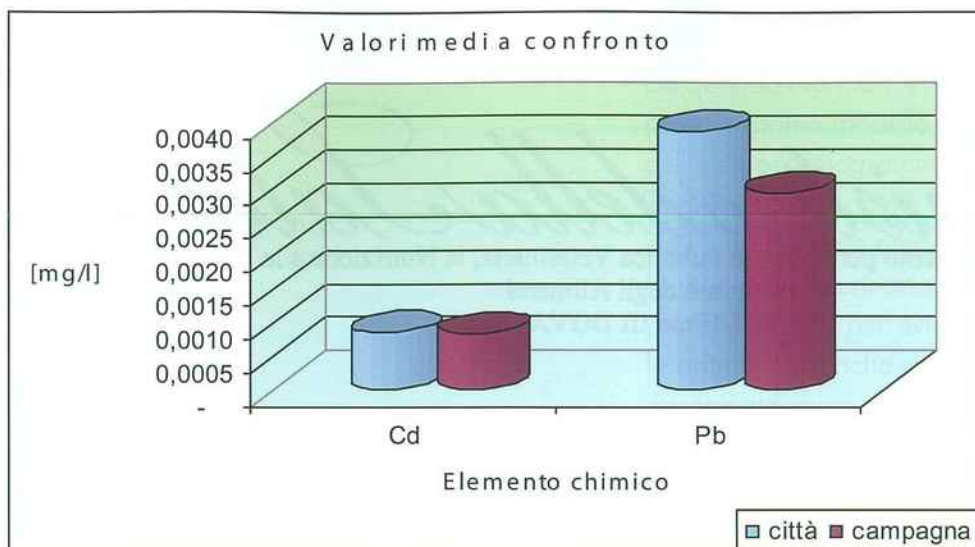
Le concentrazioni sieriche di argento e nichel sono risultate pressochè equivalenti nei gatti di entrambe le provenienze.

Le concentrazioni sieriche di ferro e cromo sono risultate invece maggiori nei gatti di ambiente rurale.

Nei gatti provenienti da ambiente urbano tutti i metalli pesanti, ad eccezione dell'argento, sono presenti in concentrazioni sensibilmente più alte nei soggetti di sesso maschile.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Nei gatti di città si registrano valori medi più elevati dei seguenti metalli pesanti: arsenico, piombo, cadmio, alluminio, rame, magnesio e zinco, rispetto ai gatti di zone rurali. La differenza



maggiore si osserva per il piombo (vedi grafico), probabilmente per la maggiore esposizione alle emissioni da parte dei veicoli a motore.

Nei gatti di campagna si registrano tuttavia valori sierici di argento, cromo, nichel e ferro superiori a quelli registrati per i felini che vivono in ambiente urbano.

Questo maggiore accumulo di metalli pesanti a livello ematico nei gatti che vivono in ambiente cittadino confermerebbe che in queste aree l'inquinamento ambientale sia superiore, seppure i valori non presentino variazioni macroscopiche. Da quanto emerso dalla presente indagine, inoltre, si evince che gli animali maggiormente a rischio di accumulo di metalli pesanti sono, nell'ambito della specie felina, i gatti maschi. Il motivo è presumibilmente da imputare al comportamento errante di tali soggetti indotto dall'attività sessuale. Il dato riguarda tutti i metalli pesanti presi in esame, ad esclusione dell'argento per quanto riguarda i soggetti che vivono in città, e del cadmio per i soggetti che vivono in campagna. Particolarmente rilevante è la differenza esistente per il ferro nei gatti maschi rispetto alle femmine che vivono in campagna; il dato è indicativo del tipo di alimentazione, rappresentata da una maggior quota di prede naturali.

Molte vie possono essere implicate nella biotrasformazione di una sostanza chimica tossica. La prevalenza di una via sull'altra può spiegare le differenze di tossicità e cancerogenicità che si osservano in saggi eseguiti su specie diverse, e le

variazioni legate al sesso e all'appartenenza a differenti gruppi di età.

Fattori endogeni, come lo stato nutrizionale e ormonale, possono modificare l'attività degli enzimi implicati nella biotrasformazione dei tossici di natura chimica.

Fattori esogeni (sostanze chimiche, farmaci, stress...) possono indurre o inibire le attività degli enzimi implicati nella biotrasformazione dei tossici di natura chimica.

Altre vie metaboliche di riparazione possono modificare l'interazione del metabolita terminale con la molecola bersaglio determinando una maggiore o minore sensibilità all'effetto tossico o cancerogeno degli xenobiotici.

I dati scaturiti da questa indagine devono indurre ad una riflessione ed essere di stimolo ad uno studio più approfondito del problema, investendo ulteriormente gli organi competenti del ruolo determinante nel controllo della salute pubblica, mappando le aree maggiormente a rischio tramite gli "animali sentinella" e nel valutare il grado di ricaduta degli inquinanti ambientali sulla salute umana richiedendo, dove possibile, la collaborazione con tutti gli operatori sanitari, compreso i Medici Veterinari liberi professionisti, che operano sul territorio nell'ottica degli studi di medicina comparata per il ben noto ruolo carcinogenetico di molti inquinanti.



Ministero della Salute

Dipartimento per la Sanità Pubblica Veterinaria, la Nutrizione e la
Sicurezza degli Alimenti
(ex Ufficio III DGVA)

Assessorati alla Sanità
delle Regioni e della
Provincia Autonoma di Trento
Servizi Veterinari

Assessorato all'Agricoltura
della Provincia Autonoma
di Bolzano

c.p.c. AIVPA

AIVPAFE

ANMVI

FNOVI

SCIVAC

26 GEN. 2006

Prot.: 3409/P-I.L.C.B/10

Oggetto: validità vaccinazione antirabbica per movimenti intracomunitari di animali domestici.

La Commissione europea ha informato questo Dipartimento di aver ricevuto numerose segnalazioni circa alcune difficoltà riscontrate da viaggiatori con cani e gatti al seguito nei loro movimenti all'interno del territorio comunitario, in particolare per quanto riguarda la validità della vaccinazione antirabbica.

La medesima Commissione ha sottolineato che la data di validità, da indicare e certificare nella parte IV del passaporto di cui alla Decisione 2003/803/CE, deve essere individuata dalle raccomandazioni della ditta produttrice di tali vaccini e non da disposizioni in vigore negli Stati membri in cui vengono effettuati i controlli.

Nel chiedere a codesti Assessorati di voler cortesemente informare di quanto sopra i Servizi Veterinari delle ASL territorialmente competenti, si ringrazia per la collaborazione.

IL DIRETTORE DELL'UFFICIO
(PIERGIUSEPPE FACELLI)

TD
TD

MONITORAGGIO HOLTER NEL GATTO: METODOLOGIA DI INDAGINE ED APPLICABILITÀ CLINICA

Sintesi della tesi di Laurea di Giulia Ramelli di Celle
Anno Accademico 2004-2005
Facoltà di Medicina Veterinaria
Università degli Studi di Perugia.
Relatore Prof. Francesco Porciello

INTRODUZIONE

Da quando Norman Jefferis Holter nel 1961 propose un primo modello di registrazione continua dell'elettrocardiogramma, a coronamento degli studi iniziati nel 1948, il monitoraggio Holter ha subito un notevole processo evolutivo.

In medicina veterinaria, tale metodica è sempre più apprezzata per evidenziare e caratterizzare le aritmie cardiache del cane, specie se transitorie, sporadiche o intermittenti, in modo da quantificarne la frequenza e la complessità, correlarle ai sintomi, e al tempo stesso valutare la necessità e l'efficacia di una terapia antiaritmica.

Vista l'importanza clinica rivestita da tale tecnica nella specie canina, negli ultimi anni, è cresciuto l'interesse per il monitoraggio Holter anche nel gatto. La metodica Holter, infatti, è in grado in questa specie animale, innanzitutto, di offrire un monitoraggio continuo dell'attività elettrica cardiaca, evidenziando anche quei disturbi del ritmo che possono sfuggire ad un attento esame clinico ed all'elettrocardiografia standard. Inoltre, poiché il paziente, durante l'esecuzione dell'esame Holter, si trova nel proprio ambiente viene evitato lo stress da "camice bianco", capace di alterare la frequenza ed il ritmo cardiaco.

Particolarmente interessante, risulta l'utilizzo dell'esame Holter come ausilio diagnostico in corso di episodi sincopali, in gatti affetti da cardiomiopatia ipertrofica e cardiomiopatia aritmogenica del ventricolo destro.

La genesi della sincope può riconoscere diverse cause, ma sicuramente notevole importanza rivestono le disfunzioni cardiache capaci di determinare tali episodi. Il monitoraggio Holter può mettere in evidenza modificazioni del ritmo cardiaco significative dal punto di vista emodinamico, tali da poter essere considerate causa dell'evento clinico e che sfuggono all'ECG standard a causa della loro sporadicità o transitorietà.

Anche nei gatti affetti da cardiomiopatia ipertrofica la metodica Holter può essere un valido ausilio per evidenziare possibili aritmie legate alla ipertrofia miocardica, alla riduzione relativa dell'apporto ematico ai tessuti e alle modificazioni istologiche e strutturali indotte dalla sindrome.



Goodwin e collaboratori (1992) hanno ipotizzato che l'incidenza di aritmie ventricolari, in gatti affetti da cardiomiopatia ipertrofica, viene sotto-stimata con l'impiego dell'elettrocardiogramma standard e che le aritmie occulte giocano un ruolo importante nel decorso della malattia. Atkins e collaboratori (1992) hanno suggerito ulteriori approfondimenti riguardo la valutazione della prognosi in base alla frequenza cardiaca rinvenuta al momento della diagnosi di cardiomiopatia ipertrofica del gatto. Tale studio, infatti, riporta che gatti con frequenza cardiaca inferiore a 200 battiti al minuto vivono significativamente più a lungo dei soggetti che presentano, al momento della diagnosi, una frequenza superiore a 200 battiti per minuto.

L'applicazione clinica del monitoraggio Holter assume, quindi, anche importanza prognostica e può, inoltre, essere di aiuto nella valutazione dell'efficacia di una terapia antiaritmica, eventualmente intrapresa.

In corso di cardiomiopatia aritmogenica del ventricolo destro, il monitoraggio Holter può essere utile al fine di dimostrare tutte quelle modificazioni del ritmo cardiaco che sono espressione dell'instabilità elettrica delle cellule miocardiche, a sua volta determinata dalla progressiva sostituzione del tessuto muscolare cardiaco con tessuto fibroadiposo. Le anomalie elettrocardiografiche rilevate in corso di cardiomiopatia aritmogenica del ventricolo destro, come blocchi atrioventricolari completi, complessi prematuri di origine ventricolare e tachicardie ventricolari, permettono, se associate a peculiari rilievi clinici, radiografici ed ecocardiografici, di pervenire alla formulazione della diagnosi di una malattia che rimane per molti aspetti ancora non completamente conosciuta anche sul piano eziologico.

In gatti affetti da displasia della valvola tricuspidale, vista la complessità delle anomalie elettrocardiografiche che possono essere rinvenute, l'applicazione del monitoraggio Holter potrebbe offrire spunti interessanti per caratterizzare i disturbi del ritmo e facilitarne l'interpretazione eziopatogenetica.

MATERIALI E METODI

Presso la Sezione di Medicina Interna del Dipartimento di Patologia, Diagnostica e Clinica Veterinaria dell'Università degli Studi di Perugia è stata applicata la metodica Holter a tre gatti adulti sani al fine di verificare le possibilità di impiego e le potenzialità diagnostiche nella specie felina.

I tre gatti esaminati comprendevano due maschi, rispettivamente di due anni e due anni e mezzo di età, e una femmina dell'età di tre anni e mezzo. La femmina pesava 3.8 kg, mentre i maschi, rispettivamente, 4.2 Kg e 5.6 Kg. Erano tutti gatti domestici a pelo corto (Europei) tranne uno, il maschio più giovane, il cui mantello era a pelo lungo. I soggetti sulla base dell'anamnesi e dell'esame clinico diretto sono stati giudicati sani.

Le registrazioni hanno avuto una durata di circa 24 ore, tranne quella del gatto maschio a pelo corto che per problemi tecnici, è durata solo 6 ore. I gatti maschi sono stati dimessi dopo l'applicazione del registratore, mentre la femmina è stata esaminata in gabbia.

Il monitoraggio è stato effettuato tramite l'impiego di un registratore digitale Braemer DL700 (dimensioni: 15.24 x 8.89 x 2.41 cm; peso 283 g), alimentato da comuni batterie da 1.5 V, che memorizza i tracciati elettrocardiografici su una flash card da 10 megabyte (fig. 1).

I soggetti sono stati sottoposti a tricotomia della regione precordiale di entrambi gli emitoraci usando una tosatrice elettrica; la cute così esposta è stata lavata e frizionata con garze imbevute di alcool per eliminare impurità e sebo, in modo da permettere una migliore conduzione elettrica tra gli elettrodi e la pelle. Una volta asciugata la superficie cutanea, gli elettrodi autoadesivi peridiatrici sono stati applicati in numero di cinque sul costato dell'animale, e non sette, come nel sistema di derivazioni XYZ comunemente utilizzato nel cane, ottenendo così due tracce di registrazione e non tre. Si è preferito apportare tali modifiche a causa delle ridotte dimensioni della regione precordiale del gatto.

Gli elettrodi sono stati collocati nella configurazione seguente: per la derivazione Y (dorso-ventrale), l'elettrodo negativo è stato posizionato nella



Figura 1. Registratore Holter inserito all'interno della custodia antiurto, fili conduttori ed elettrodi autoadesivi ad uso pediatrico.

porzione medio-dorsale destra, mentre il positivo in posizione parasternale sinistra in prossimità dell'apice cardiaco, per la derivazione X (latero-laterale), invece, l'elettrodo negativo è stato messo nella porzione ventrale destra e quello positivo nella porzione ventrale sinistra (fig. 2 e 3).

Tale configurazione si diversifica da quella ad "X" descritta in bibliografia, che prevedeva il posizionamento degli elettrodi in modo da indagare con una derivazione dal torace medio-dorsale sinistro a quello ventrale destro e, con l'altra, dal torace



Figura 2. Applicazione degli elettrodi sull'emitorace di sinistro. A sinistra viene posizionato anche l'elettrodo "terra" in un punto qualsiasi del torace.

medio-dorsale destro a quello ventrale sinistro, disegnando così una X immaginaria attraverso il torace dell'animale. La variante da noi operata è stata preferita a quella descritta in bibliografia, in quanto più simile alla configurazione delle de-



Figura 3. Patch elettrocardiografici posizionati sulla regione precordiale di destra. Un'attenta depilazione e deterzione della cute con soluzione alcolica facilita l'adesione degli elettrodi.

rivazioni X e Y impiegata nel cane, dove garantisce un'elevata sensibilità nell'indagare l'attività elettrica cardiaca in senso latero-laterale e dorso-ventrale.

Dopo aver inserito la flash card e le due batterie nel registratore, sono stati connessi i cavi di conduzione agli elettrodi e sono stati diretti dorsalmente, facendoli passare tutti dallo stesso lato del torace. Al fine di rafforzare ulteriormente l'adesione degli elettrodi alla cute e fissare bene i cavi di conduzione, è stato applicato un bendaggio con nastro adesivo di tela. Infine è stato effettuato un bendaggio con il Vetrap®. L'ultimo passaggio di Vetrap® è stato tagliato nel mezzo, in modo da ottenere due capi, che sono stati fatti passare ad incrocio lungo il petto e portati fin dietro al collo, al fine di rendere più stabile il bendaggio. I due capi sul petto sono stati legati fra loro, tramite un nodo eseguito con del nastro adesivo, perché non scivolassero sugli arti durante i movimenti dell'animale. Il registratore non è stato incorporato nella fasciatura, in quanto troppo ingombrante e pesante per la taglia del gatto, ma è stato portato a mano, seguendo passo passo i movimenti e gli spostamenti dell'animale, creando una sorta di guinzaglio con i fili delle derivazioni, che sono stati protetti con nastro adesivo (fig. 4).

Dopo aver controllato che gli animali sopportavano la nuova condizione e che la fasciatura non interferiva con i loro movimenti e la respirazione, i gatti maschi sono stati dimessi per il periodo del



Figura 4. L'apparato di registrazione Holter applicato al gatto sembra essere ben tollerato dall'animale.

monitoraggio a domicilio, mentre la femmina è stata sistemata nel suo trasportino, lasciato aperto, con lettiera, cibo ed acqua a disposizione, all'interno di una gabbia nei locali della Sezione di Medicina Interna. Il registratore è stato inserito all'interno di una tasca del trasportino del gatto, in modo che fosse protetto, ma permettesse, comunque, all'animale di uscire liberamente.

In sostanza sono stati effettuati tre diversi tipologie di registrazione, allo scopo di definire la metodica migliore in grado di accordare il rilievo di tracciati di buona qualità con condizioni di esame non troppo stressanti per l'animale. Sono stati, dunque, esaminati un gatto in piena costrizione all'interno di una gabbia, un altro in completa libertà, facendolo uscire anche in giardino e, infine, l'ultimo in una condizione che si pone come giusto compromesso tra le altre due, all'interno di un appartamento.

Terminate le 24 ore di monitoraggio, è stato rimosso con cura tutto l'apparato di registrazione ed è stata effettuata la lettura e l'analisi dei tracciati elettrocardiografici memorizzati sulla flash card, tramite analizzatore WIN P-V versione

5.41, caricato su Personal Computer portatile.

Le registrazioni sono state sottoposte successivamente ad analisi manuale a causa delle peculiarità morfologiche, di seguito descritte, che venivano interpretate in maniera errata e non completa dal sistema informatico calibrato per la medicina umana.

RISULTATI

Il gatto femmina di tre anni e mezzo e del peso di 3.8 kg, tenuto durante il monitoraggio in gabbia, ha risposto allo stress da ospedalizzazione, restando immobile per tutto il tempo dell'esame, uscendo dal suo trasportino solamente per fare i propri bisogni e mangiando solo se sollecitato. La frequenza cardiaca minima registrata è stata di 75 battiti al minuto, nelle ore notturne, probabilmente durante il sonno, mentre la frequenza cardiaca massima di 240-250 battiti al minuto, è stata riscontrata durante la fase di rimozione dell'apparecchio, quindi connessa ad uno stato di agitazione iatrogena. Il ritmo cardiaco durante la registrazione è stato un regolare ritmo sinusale, con presenza di frequenti periodi di aritmia sinusale respiratoria (RR min: 480 msec e RR max: 840 msec) associata a una pausa sinusale di durata pari a un secondo che si è verificata durante la notte (fig. 5 e 6).

Sono stati rinvenuti, inoltre, complessi QRS a polarità prevalentemente negativa.

Il gatto maschio a pelo corto di due anni e mezzo e del peso di 5.6 kg, è stato mandato nel proprio ambiente domestico ed è stato fatto uscire anche in giardino. Il soggetto, tuttavia, è riuscito

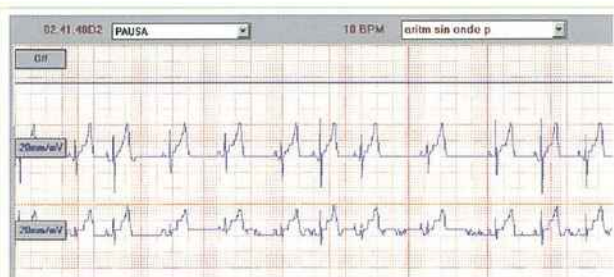


Figura 5. Aritmia sinusale respiratoria registrata nelle ore notturne, probabilmente durante il sonno dell'animale. Si evidenzia, inoltre, la presenza di onde T con voltaggi elevati.

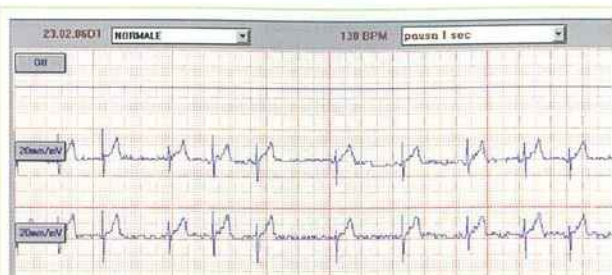


Figura 6. Pausa sinusale della durata di 1 secondo registrata durante la notte. In questo gatto i complessi QRS hanno polarità prevalentemente negativa.

a scappare e a togliersi il dispositivo di dosso, inducendo un danno irreversibile che ha portato alla cancellazione delle sei ore di registrazione fino ad allora effettuate.

Il gatto maschio a pelo lungo di due anni di età e del peso di 4.2 kg, è tornato a casa nel proprio ambiente, dove ha manifestato i suoi consueti comportamenti, compreso il gioco, il salto e la corsa, anche se ha modicamente ridotto la sua abituale attività, dormendo un po' di più nel corso della giornata. L'analisi ha rilevato una frequenza cardiaca minima di 88 battiti al minuto durante il sonno e una frequenza cardiaca massima di 266 battiti al minuto, in corrispondenza del momento in cui è stato rimosso il dispositivo (Fig. 7).

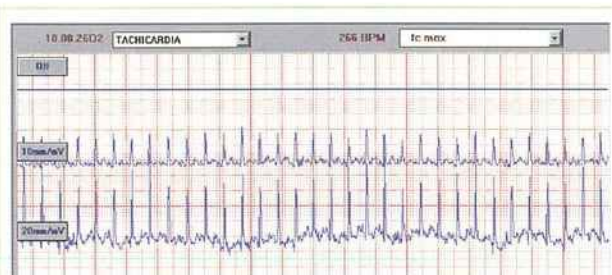


Figura 7. La frequenza cardiaca massima registrata in questo gatto è stata di 266 bpm. Tale rilievo è stato evidenziato durante la rimozione dell'apparato di registrazione Holter.

Durante l'intera registrazione è stato possibile osservare un regolare ritmo sinusale, con evidenti periodi di aritmia sinusale respiratoria (RR min: 360 msec e RR max: 520 msec), soprattutto durante la notte. Inoltre, è stata evidenziata la presenza di complessi QRS a polarità prevalentemente positiva e di onde P ben distinguibili (fig. 8).

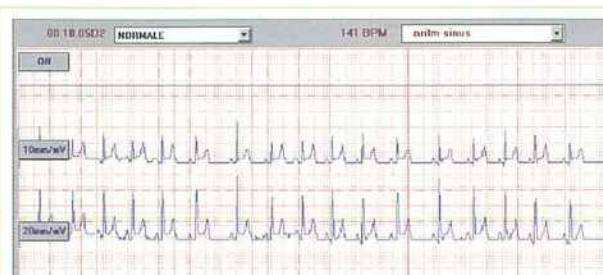


Figura 8. Il tracciato Holter mostra un periodo di aritmia sinusale respiratoria registrato durante la notte. In questo soggetto, a differenza dell'altro, si evidenziano complessi QRS a polarità positiva.

DISCUSSIONE

La metodica Holter impiegata in questo studio si è dimostrata valida per la specie felina ed applicabile alla pratica clinica. È stato, infatti, determinato un metodo di indagine, che si è dimostrato idoneo, riuscendo ad ottenere tracciati elettrocardiografici di buona qualità, con presenza relativamente bassa di artefatti nel corso delle 24 ore di monitoraggio. Risulta di fondamentale importanza per la riuscita di un corretto esame Holter, soprattutto per quanto riguarda la durata della registrazione, scegliere con attenzione le condizioni di monitoraggio a cui sottoporre l'animale; quindi, se esaminare il soggetto libero nel proprio ambiente oppure se monitorarlo in gabbia. Tale scelta deve basarsi essenzialmente sul temperamento del gatto in esame, vista la possibilità di dover effettuare l'esame Holter a soggetti dal carattere non mansueto. Dal nostro studio emerge, infatti, che i soggetti più docili e tranquilli hanno sopportato l'applicazione dell'Holter, mentre nel paziente meno collaborativo ed irrequieto non è stato possibile portare a termine l'esame. È auspicabile, quindi, per una buona riuscita del monitoraggio, che tali soggetti vengano esaminati in gabbia. Per gli animali più calmi, che sono mandati a casa per tutta la durata dell'esame, bisogna valutare attentamente l'ambiente in cui il gatto vive e porre eventuali limitazioni, quali il confinare l'animale all'interno della casa, in quanto si è visto che un ambiente troppo stimolante mal si concilia con un prolungato esame Holter. È necessario, inoltre, stimare la disponibilità del proprietario, il quale, se l'animale è esaminato nel proprio ambiente domestico, è tenuto, non es-



sendo il registratore incorporato nella fasciatura, a seguire in ogni istante il gatto.

Per quanto riguarda l'analisi dei tracciati elettrocardiografici, bisogna precisare che non è stato possibile eseguire una completa e corretta lettura automatica delle registrazioni. Nel primo gatto tale analisi non è stata possibile per la morfologia delle onde T, che venivano classificate dal computer come battiti prematuri ventricolari; nel secondo soggetto esaminato, invece, non è stato possibile effettuare la lettura automatica per i bassi voltaggi dei complessi QRS, tipici del gatto. Tale limite del software, programmato per la medicina umana e adattato al cane, non permettendo l'esecuzione di una lettura automatica del tracciato, ha impedito, ad esempio, di avere a disposizione i dati circa la frequenza cardiaca media nel corso delle 24 ore dei due soggetti esaminati.

La diversa polarità e morfologia degli elementi elettrocardiografici P-QRS-T rinvenuti nei 2 gatti è probabilmente da riferire alla differente posizione degli elettrodi, i quali potrebbero essere stati applicati in punti leggermente diversi del torace, oppure all'estrema variabilità dell'asse elettrico cardiaco nel gatto (Tilley, 1985).

Interessante il rilievo dell'aritmia sinusale respiratoria in entrambi i gatti. Infatti, a differenza del cane, nel quale tale rilievo è pienamente documentato anche all'esame ECG standard, nel gatto l'aritmia sinusale non è ancora pienamente dimostrata. Nel primo gatto del presente studio, frequenti periodi di aritmia sinusale, piuttosto marcata, sono stati riscontrati nel corso delle 24 ore; nel secondo soggetto tale aritmia appariva meno marcata, ma comunque presente nelle 24 ore, con maggiore frequenza durante la notte. Nel primo gatto è stata rinvenuta anche una pausa sinusale della durata di un secondo nelle ore notturne. Il riscontro di arresti sinusali e aritmia sinusale respiratoria marcata fanno propendere per una prevalenza del tono parasimpatico e di una scarsa attivazione adrenergica. Questo quadro elettrocardiografico, pertanto, mal si accorda con l'interpretazione di "condizione stressante", attribuita, in un primo momento, ai comportamenti del soggetto. Anche Ware (1999) nel suo studio sull'applicazione dell'Holter a 20

gatti sani, aveva riscontrato, nella maggior parte dei soggetti, periodi di lieve o moderata aritmia sinusale, soprattutto nelle prime ore del mattino; la pausa sinusale più lunga registrata era, invece, di 0.82 secondi. Nei 2 gatti esaminati, inoltre, non sono stati riscontrati, all'infuori dei periodi di aritmia sinusale respiratoria, altri disturbi del ritmo; ciò è probabilmente da riferire al ridotto numero e all'età dei soggetti sottoposti a monitoraggio Holter. Infatti, Ware, esaminando 20 gatti ha potuto evidenziare la presenza di complessi ectopici ventricolari (VEC) e infrequenti complessi prematuri sopraventricolari (SVCP), con una maggiore incidenza negli animali anziani. Tali rilievi necessitano, tuttavia, di ulteriori ricerche, per completare e verificare i dati raccolti, prima di poter attribuire loro un significato preciso, come sembra attualmente delinearsi nel cane. Nel cane, infatti, comunemente si rinvencono pause sinusali della durata da 2 a 4 secondi durante il sonno ed ectopie ventricolari (Goodwin, 1998; Ulloa et al, 1995).

Per quanto riguarda, infine, la frequenza cardiaca minima e massima, quelle riscontrate nei 2 gatti esaminati nel presente studio (primo gatto: $Fc \text{ min} = 75 \text{ bpm}$ e $Fc \text{ max} = 240-250 \text{ bpm}$; secondo gatto: $Fc \text{ min} = 88 \text{ bpm}$ e $Fc \text{ max} = 266 \text{ bpm}$), i valori non si discostano da quelli riportati da Ware ($Fc \text{ min media} = 105.4 \pm 4.3 \text{ bpm}$ e $Fc \text{ max media} = 267 \pm 5.4 \text{ bpm}$). Tuttavia, a differenza dei dati riferiti da Ware, che riporta di aver riscontrato valori di frequenza più elevati nelle femmine rispetto ai maschi, dal nostro studio emerge che la femmina ha presentato frequenze cardiache minori rispetto al maschio. Tale rilievo potrebbe essere correlato, però, anche alle diverse condizioni di monitoraggio cui sono stati sottoposti i due animali; la femmina, infatti, essendo stata confinata in gabbia per tutta la durata dell'esame, potrebbe aver manifestato frequenze più basse perché non sottoposta ad alcuna attività locomotoria. È da precisare, comunque, che anche durante il sonno, quindi a parità di condizioni, la femmina presentava una frequenza cardiaca minore rispetto al maschio.

Interessante notare, inoltre, che, mentre nel cane la frequenza cardiaca raggiunge durante il son-

no i 35 battiti al minuto e negli stati di agitazione o attività supera i 300 bpm, nel gatto, tale valore non scende sotto i 75 bpm durante il sonno e l'aumento, anche in stati di profonda agitazione, rimane misurato. Tale considerazione, tuttavia, deve tener conto della limitazione nei movimenti a cui il gatto è inevitabilmente sottoposto. L'animale non avendo il registratore incorporato nella fasciatura non può muoversi liberamente e, di fatto, non raggiunge livelli di attività locomotoria in grado di incrementare maggiormente la frequenza cardiaca.

CONCLUSIONI

Il monitoraggio Holter si è dimostrato essere una tecnica efficace e scarsamente invasiva di registrazione dell'elettrocardiogramma continuo e prolungato nel tempo, in soggetti che svolgono le consuete attività quotidiane.

Lo scarso impiego dell'elettrocardiografia 24 ore nel gatto ha dato origine, pertanto, all'esigenza di svolgere un approfondimento bibliografico e sperimentale in materia. In tal senso le ricerche relative all'elaborazione del presente studio hanno consentito la definizione di una metodica di registrazione Holter valida per la specie felina e realmente applicabile nella pratica clinica.

In due soggetti su tre, è stato possibile, infatti, ottenere registrazioni di buona qualità, con una relativamente bassa presenza di artefatti. Nel terzo soggetto, dato il temperamento irrequieto dell'animale e le particolari condizioni in cui è stato effettuato il monitoraggio, l'esame Holter non ha avuto buon esito. Dallo studio emerge, infatti, che, per una buona riuscita del monitoraggio, sarebbe meglio che i soggetti meno collaborativi venissero esaminati all'interno di una gabbia.

L'impiego nel gatto di registratori Holter di dimensioni e del peso minori rispetto a quelli usati comunemente nel cane e adoperati nel presente studio, consentirebbe condizioni più agevoli di monitoraggio. I registratori potrebbero essere posti, infatti, sul dorso dell'animale e poi incorporati nella fasciatura, in modo tale che il gatto sia totalmente libero di espletare le proprie abituali attività e in modo tale che la sicurezza dello stes-

so dispositivo sia maggiormente salvaguardata. Le registrazioni Holter ottenute dai gatti esaminati hanno permesso anche di raccogliere dati significativi riguardanti il ritmo e la frequenza cardiaca in soggetti sani nel corso delle 24 ore. L'analisi ha rinvenuto un regolare ritmo sinusale con presenza di periodi di aritmia sinusale respiratoria piuttosto marcata e maggiormente frequente durante la notte e il rilievo di una frequenza cardiaca minima di 75-88 bpm e una frequenza massima di 240-266 bpm. Tali rilievi non differiscono da quanto descritto in bibliografia. Tuttavia, l'esito dell'analisi è stato probabilmente condizionato dal ridotto numero di soggetti esaminati, per quanto riguarda la presenza di altri disturbi del ritmo. Non è stato rilevato, infatti, alcun evento aritmico, mentre in letteratura (Ware, 1999) viene riportato il riscontro di complessi ectopici ventricolari e complessi prematuri sopraventricolari anche in gatti sani.

La letteratura ci indirizza verso ulteriori sviluppi della metodica Holter soprattutto per quel che riguarda il suo impiego in gatti affetti da determinate patologie. Inserire tale metodica all'interno degli esami collaterali comunemente impiegati in medicina felina, potrebbe permettere l'acquisizione di informazioni importanti per quel che riguarda la diagnosi, la prognosi e la terapia di tutte quelle modificazioni dell'attività elettrica cardiaca presenti in alcune patologie di questa specie che tuttora sono ancora poco o per nulla conosciute.



Associazione Italiana Veterinari Patologia Felina

Affiliata AIVPA Associazione Italiana Veterinari Piccoli Animali

Affiliata ESFM European Society Feline Medicine

Corso Teorico Pratico di Radiologia Felina

PISA, 8-9 APRILE 2006

Facoltà di Medicina Veterinaria Via Livornese - S. Piero A Grado (Pi)

E.C.M. - assegnati n° 13 crediti Formativi per Medici Veterinari

con il Patrocinio del Dipartimento di Clinica Veterinaria - Università di Pisa

Docenti:

Dr.ssa SIMONA CITI - Specialista in Radiologia Veterinaria - Ricercatore presso l'Università degli Studi di Pisa
Prof. MAURO DI GIANCAMILLO - Professore Radiologia Veterinaria - Università degli Studi di Milano

Sabato 8 aprile 2006

- 09.00 Registrazione partecipanti
- 09.30 Saluto del Direttore Dipartimento - Saluto del Presidente AIVPAFE
- 09.45 Scelta dei materiali radiografici (cassette radiografiche, pellicole, schermi di rinforzo, radiologici, sviluppatrici) **Dr.ssa S. Citi**
- 10.15 Aspetti fisio-patologici del torace extrapolmonare: (trachea, pleure, mediastino, diaframma) **Prof. M. Di Giancamillo**
- 11.00 Coffee break
- 11.15 Aspetti fisio-patologici del polmone **Dr.ssa S. Citi**
- 12.15 Aspetti fisio-patologici del cuore e grossi vasi **Dr.ssa S. Citi**
- 13.15 Discussione
- 13.30 Pausa Pranzo
- 15.00 Tecnica radiologica del torace (scelta della qualità dei raggi, tempi e materiali) **Dr.ssa S. Citi**
- 15.30 Visione e discussione di reperti radiografici toracici (in tre gruppi a rotazione con ciascun docente)
- 18.15 Dal segno clinico alla diagnosi. Discussione di un caso clinico **Dr.ssa S. Citi**
- 18.30 Questionario di autovalutazione e chiusura dei lavori.

Domenica 9 aprile 2006

- 09.00 Aspetti fisio-patologici della cavità peritoneale e organi addominali: (fegato, milza, linfonodi, pancreas, surreni) **Dr.ssa S. Citi**
- 11.00 Coffee break
- 11.15 Aspetti fisio-patologici dell'apparato gastro-enterico **Prof. M. Di Giancamillo**
- 12.15 Aspetti fisio-patologici dell'apparato uro-genitale **Prof. M. Di Giancamillo**
- 13.15 Discussione
- 13.30 Pausa Pranzo
- 15.00 Tecnica radiologica dell'addome (scelta della qualità dei raggi, tempi e materiali) **Prof. M. Di Giancamillo**
- 15.30 Visione e discussione di reperti radiografici addominali (in tre gruppi a rotazione con ciascun docente)
- 18.00 Dal segno clinico alla diagnosi. Discussione di un caso clinico **Prof. M. Di Giancamillo**
- 18.15 Questionario di autovalutazione e verifica apprendimento
- 18.30 Termine del Corso

Informazioni Generali

Segreteria Scientifica: Dr. Fabio Spina Tel. / fax 06- 523.10.302

Sede: Facoltà di Medicina Veterinaria - Dipartimento di Clinica Veterinaria - Via Livornese - S. Piero A Grado (Pi)

Quote di iscrizione (IVA compresa) - da inviare entro il 24 marzo 2006: Soci AIVPAFE 250,00; Soci AIVPA-AIVDAO-SITOV e Soci Club Veterinario 280,00 - Iscritti Ordini dei Medici Veterinari della Toscana 280,00 - NON Soci 320,00.

Per permettere un miglior apprendimento pratico, il numero massimo di partecipanti è stato stabilito in 30 e verranno accettate le prenotazioni in base all'ordine cronologico d'arrivo delle schede complete del versamento. Gli organizzatori si riservano il diritto di cancellare il Corso e/o di spostarlo a data da destinarsi nel caso in cui non venisse raggiunto il numero minimo di iscrizioni 20. In questo caso l'importo versato verrà restituito ad ogni iscritto a mezzo assicurata o bonifico bancario.

Cancellazioni e Rinunce: eventuali disdette dovranno essere comunicate per iscritto entro 31 marzo 2006 ed avranno diritto ad un rimborso pari al 70% della quota versata. Oltre tale termine non potrà essere rimborsata la quota di iscrizione.

La quota di iscrizione dà diritto a: partecipare alle lezioni teoriche e pratiche; ricevere i testi delle relazioni dei casi esaminati; ricevere l'Attestato di frequenza

Regolamento E.C.M.: è stato richiesto l'accreditamento ECM per i Medici Veterinari. Solo ai partecipanti al 100% delle ore del Corso verrà riconosciuto il credito ECM. A tutti i partecipanti verrà rilasciato un attestato di presenza.

Prenotazione Alberghiera: gli interessati potranno rivolgersi direttamente presso gli hotel della zona (distanti km 5 dalla sede)

Hotel Incanto di Bocca D'Arno Via Barbolani - Marina di Pisa (km 5 da sede) tel. 050/311 084

Hotel Medusa Via Oleandri 37 - Tirrenia 050-37125

Hotel Royal victoria Lungarno Pacinotti 12 - Pisa tel. 050-940111

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

Viale dei Mille 140, 43100 Parma tel. 0521-290191 fax 291314 aivpafe@mvcongressi.it www.aivpa.it



Associazione Italiana Veterinari Patologia Felina
Affiliata AIVPA Associazione Italiana Veterinari Piccoli Animali - Affiliata ESFM European Society Feline Medicine

Corso Teorico-Pratico di ECOGRAFIA ed ECOCARDIOGRAFIA FELINA

Parma, 20 – 21 maggio 2006

Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma – Aule Clinica Medica

Docenti

Dr. Enrico BIGLIARDI Ricercatore Sezione Clinica Ostetrica Veterinaria – Università di Parma

Dr.ssa Cecilia QUINTAVALLA Ricercatore Sezione Clinica Medica Veterinaria – Università di Parma

Dr.ssa Fortunata FARINA Libero professionista - Salerno

ECM: Crediti Formativi Assegnati N° 10 per Veterinari

Sabato 20 maggio 2006

09.00 Registrazione dei Partecipanti

09.15 Saluto del Presidente AIVPAFE **Prof. Francesco Porciello**

10.00 Ecografia dell'apparato genitale del gatto **Dr. E. Bigliardi**

10.30 Pausa Caffè

11.00 Ecografia dell'apparato urinario **Dr. E. Bigliardi**

12.00 Ecografia del fegato-milza-linfonodi del gatto **Dr.ssa C. Quintavalla**

13.00 Pausa pranzo

15.00 Esercitazioni Pratiche con i Docenti

17.30 Presentazione e discussione casi clinici documentati dei partecipanti

18.00 Chiusura dei lavori della giornata

Domenica 21 maggio 2006

09.30 Ecografia del torace ed ecocardiografia **Dr.ssa C. Quintavalla**

11.00 Pausa Caffè

11.30 Ecografia dell'apparato gastroenterico, pancreas, surrene **Dr.ssa F. Farina**

12.30 Presentazione e discussione casi clinici documentati dei partecipanti

13.00 Pausa Pranzo

15.00 Esercitazioni Pratiche con i Docenti

17.30 Questionario di autovalutazione e verifica apprendimento

18.00 Chiusura del Corso

Informazioni Generali

Sede: Aule Clinica Medica - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma - Via del Taglio n° 8 - 43100 Parma

Modalità di partecipazione: inviare la scheda d'iscrizione con copia del pagamento a Medicina Viva, entro il 7 maggio 2006.

Prenotazione Alberghiera: Hotel Farnese - Via Reggio n° 51/A - tel. 0521-994247 - km 1

Hotel Astoria - Via Trento n° 9 - tel. 0521-272717 - km 4

ECM: sono stati assegnati dal Ministero della Salute n. 10 crediti formativi ECM per Medici Veterinari. E' obbligatoria la frequenza al 100% delle lezioni, in caso contrario non potranno rilasciati i crediti. L'attestato ECM verrà spedito successivamente per posta.

Corso a numero chiuso: n. 30 posti

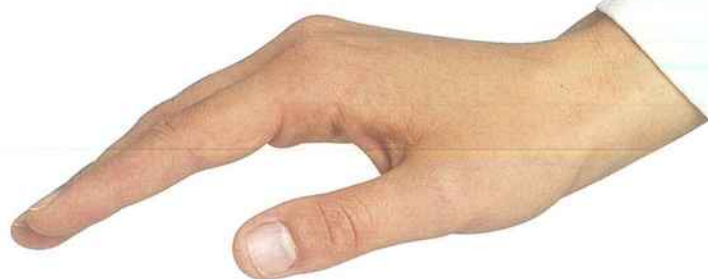
I partecipanti dovranno portare un camice per le esercitazioni pratiche.

Quote di Iscrizione: (Iva compresa)

- | | |
|--|-------------|
| • Soci AIVPAFE (in regola 2006) | Euro 250,00 |
| • Soci AIVPA – AIVDAO – SITOV (in regola 2006) | Euro 280,00 |
| • Iscritti al Club del Veterinario | Euro 280,00 |
| • Non appartenenti alle suddette categorie | Euro 320,00 |



Segreteria: Viale dei Mille 140, 43100 Parma - tel. 0521-290191 - fax 0521-291314
aivpafe@mvcongressi.it www.aivpa.it



Prendersi cura dell'animale non solo nella malattia.

- Nell'ambito della Nutrizione Clinica, è sempre stato importante accompagnare in modo ottimale le terapie mediche, con un approccio sia curativo che di prevenzione.
- Nata dalle ultime ricerche in campo nutrizionale, VETERINARY DIET unisce l'esperienza di Royal Canin e l'autorevolezza del Centro di Ricerca Waltham. Una gamma "nutrizione-salute", che copre numerose patologie, proponendo per ciascuna di esse la migliore soluzione nutrizionale.
- Oltre agli obiettivi terapeutici, VETERINARY DIET è stata concepita per prevenire i rischi associati a ciascuna patologia. Le innovazioni nutrizionali più importanti sono state integrate in questa gamma, che si presenta oggi come lo stato dell'arte della "nutrizione-salute".

WALTHAM®

Con i Veterinari
e **VETERINARY DIET**
Royal Canin,
i cani e i gatti non sono stati mai
così importanti.


ROYAL CANIN
VETERINARY DIET

