

Anno 10

Numero 2

2006

Cms. 24/7/06

# Rassegna di Medicina Felina



**A**ssociazione

**I**taliana

**V**eterinari

**PA**tologia

**FE**lina

In questo numero:

**Giardia duodenalis: studio di prevalenza e tipizzazione molecolare in gatti immunodepressi**

**Reperti clinici, ematologici ed istopatologici in corso di mastocitoma viscerale del gatto**

**La comunicazione in ambulatorio veterinario (parte II)**

**Caratterizzazione genomica di stipiti di coronavirus felino**

## 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

Il turismo congressuale in Italia

Quintavalla F.

## Lavori originali

Giardia duodenalis: studio di prevalenza e tipizzazione  
molecolare in gatti immunodepressi

Pag. 7

Veronesi F., Diaferia M., Pavone S., Macrì S., Piergili Fioretti D.

## Casi clinici

Reperti clinici, ematologici ed istopatologici in corso di  
mastocitoma viscerale del gatto

Pag. 15

Antognoni M.T., Spaterna A., Lepri E., Fruganti A., Laus F., Porciello F.

## Practice management

La comunicazione in ambulatorio veterinario (parte II)

Pag. 23

Sandro Zucchetta

## Letto per voi

Il mio gatto è proprio matto

Pag. 27

Dizionario pratico di terapia canina e felina

Viaggiare con gli animali da compagnia al seguito

Pag. 28

Gattaiola elettronica

Il gatto Humphrey

## La mia Tesi

Individuazione e caratterizzazione di stipiti di coronavirus  
da gatti con enterite

Pag. 29

Alba Maria Pesarese

Caratterizzazione genomica di stipiti di coronavirus felino

Pag. 33

Lucia Maldera

## Comunicato stampa ABCD

Nuovo Comitato Consultivo di esperti europei per la propo-  
sta di linee guida sulle malattie infettive dei gatti in Europa

Pag. 37

Influenza aviaria da H5N1

Pag. 39



### IL TURISMO CONGRESSUALE IN ITALIA



Il segmento congressuale dell'industria turistica è, nell'attuale fase storica, un'esperienza di successo: congressi, viaggi incentive, viaggi contest, riunioni di lavoro, incontri politici, scientifici, culturali, religiosi aumentano progressivamente il loro peso nel comparto dell'ospitalità (alberghi, palacongressi, residenze storiche, ristoranti, teatri, cinema) sia in Italia, sia nel resto del mondo. In Italia il 26,20% del

fatturato complessivo dell'industria turistica nel 2004 è attribuibile al comparto congressuale. Se valutiamo l'annata 2004, tra i promotori degli incontri, la parte del leone l'hanno fatta le convention aziendali (61,19%), il segmento politico e pubblico (enti, partiti, sindacati) invece promuove il 18,46% degli incontri.

Il segmento delle associazioni (scientifiche, religiose, culturali, sportive) ha realizzato il 20,35% degli eventi complessivi. Questi dati sono destinati ad essere stravolti nel 2005 e nel 2006, in quanto fortemente condizionati dalle campagne politiche elettorali.

Anche nel mondo veterinario sopravvivono forti cambiamenti. Nel settore degli animali da compagnia si assiste ad un fiorire costante di iniziative, di nuove società scientifico-culturali a carattere locale, regionale, nazionale che inevitabilmente poi vanno ad arricchire il segmento congressuale che a volte presentano un carattere ripetitivo degli argomenti (e a volte dei relatori), addirittura con sovrapposizioni di date, con il rischio di trasformare un'iniziativa lodevole in un flop nell'offerta dell'arricchimento professionale per gli utenti ed economico per gli organizzatori.

Il Prof. Attilio Gardini, direttore del Master in Gestione e Sviluppo Servizi Turistici dell'Università di Bologna ha redatto un quadro generale dell'attività congressuale in Italia (da "Impresa Turismo", ISNART novembre 2005) da cui emerge che nel 2004 il sistema congressuale italiano ha realizzato 109.792 incontri (congressi, meeting, convention, riunioni) ed ha ospitato più di 17 milioni di congressisti. L'analisi della provenienza dei congressisti ospitati nelle strutture italiane dimostra la debolezza del posizionamento internazionale dell'Italia in questo mercato: il 94% degli eventi congressuali coinvolge congressisti italiani, di provenienza regionale (66,70%) e nazionale (27,12%), e solo il 6% ha carattere internazionale. Uno spaccato che è quasi sovrapponibile alla situazione veterinaria ma con una percentuale ancor più ridotta per quanto riguarda il carattere internazionale degli eventi. Le destinazioni congressuali italiane prediligono le città d'arte (che comprendono tutte le grandi città italiane) per il 50,18%. Seguono i capoluoghi di provincia (non città d'arte) che ospitano il 34,64% degli eventi congressuali italiani e il 20,18% dei congressisti. In queste destinazioni gli eventi sono generalmente piccoli: la dimensione media è pari a 94 congressisti per evento. Le località turistiche hanno invece un posizionamento opposto: complessivamente assorbono il 14,18% del mercato congressuale in termini di incontri e il 26,69% in termini di partecipanti. La dimensione media degli eventi organizzati nelle località turistiche è elevata (438 partecipanti per evento nelle destinazioni marittime e 226 nelle altre località turistiche). Sono in particolare modo le località marine ad ospitare eventi di maggiori dimensioni. Un aspetto quest'ultimo che ricalca a pennello quanto si osserva nel comparto scientifico degli animali da compagnia. Evidentemente i veterinari sono tutti amanti della natura, solari!

Fausto Quintavalla

#### 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 Calcarà 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



## GIARDIA DUODENALIS: STUDIO DI PREVALENZA E TIPIZZAZIONE MOLECOLARE IN GATTI IMMUNODEPRESSI

Fabrizia Veronesi<sup>1</sup>, Manuela Diaferia<sup>1</sup>, Silvia Pavone<sup>2</sup>,  
Salvatore Macrì<sup>3</sup>, Daniela Piergili Fioretti<sup>1</sup>

Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle  
Produzioni Animali e Alimentari, Sezione di Parassitolo-  
gia-Università di Perugia.

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene del-  
le Produzioni Animali e Alimentari, Sezione di Patolo-  
gia e Igiene Veterinaria- Università di Perugia.

<sup>3</sup>Libero Professionista, Perugia

### ABSTRACT

Aim of this trial was to investigate the prevalence of *G. duodenalis* and related clinical aspects in two samples of feline subpopulations (immuno-competent and immunodeficient), coming from Perugia public cattery and to genotype the isolates harboured from cats by TPI gene sequence analysis. Faecal examinations revealed *G. duodenalis* infection in 8/120 cats; the infection didn't show any significative difference of prevalence between FIV+ and FIV - animals, but all the FIV+ cats showed an higher intensity of excretion and clinically apparent infections. Gene sequence analysis showed in all cases the Subgenotype A2 which was found to be associated with infections of humans, of dogs and of calves. The possible public health implications and the meanings of *Giardia* infection in immunodeficient cats will be discussed.

**Key words:** Gatto, *Giardia duodenalis*, Immunodeficienza Virale Felina, Gattile, Zoonosi.

### INTRODUZIONE

*Giardia duodenalis* (sin. *intestinalis*) è un protozoo flagellato a diffusione cosmopolita che colonizza l'intestino tenue dell'uomo e di numerose specie animali, sia domestiche che selvatiche<sup>(7,25)</sup>, sostenendo forme enteriche di gravità variabile in funzione dello stato fisiologico ed immunologico dell'ospite e della virulenza dei ceppi parassitari.

Il carattere zoonotico attribuito al parassita rende la giardiasi un importante problema di sanità pubblica non solo nei paesi in via di sviluppo, dove vengono riportati picchi di prevalenza altissimi, ma anche nei paesi industrializzati grazie alle numerose vie di contaminazione tra cui, rilevanti, quelle legate al consumo umano di acqua e cibi infetti.

Attualmente il più importante veicolo di diffusione dell'infezione nel contesto urbano è considerata proprio la trasmissione idrica, conseguente alla contaminazione delle falde acquifere di superficie da parte degli animali<sup>(1)</sup>.

Questi dati giustificano il crescente interesse verso l'individuazione delle specie animali coinvolte





nella dispersione in natura delle forme di resistenza e la necessità di definire per ciascuna di esse il relativo potenziale zoonotico.

La definizione del reale quadro epidemiologico dell'infezione da *G. duodenalis* è, tuttavia, ancora lontana in quanto poco si conosce sull'identità genetica delle cisti; gli studi di sequenziamento ed analisi filogenetica finora eseguiti hanno permesso di evidenziare almeno 7 differenti Assemblaggi, alcuni dei quali zoonotici (A e B) mentre altri strettamente specie-specifici<sup>(16)</sup>.

La definizione di nuovi protocolli per l'amplificazione in vitro di sequenze sempre più specifiche del DNA di *G. duodenalis*, sta apportando continue revisioni critiche nella genotipizzazione del parassita<sup>(14)</sup>; un esempio può essere fornito dal recente isolamento dell'Assemblaggio A2, ritenuto a valenza antropotica, dalle feci non solo dell'uomo ma anche del bovino e del cane, con conseguente suo riconoscimento zoonotico.

Tra le specie animali di interesse zootecnico risulta comprovato il potenziale zoonotico di bovini ed ovini<sup>(13,27)</sup> mentre, per gli animali da compagnia un importante ruolo è stato finora attribuito solo al cane<sup>(4,9,12,26,28,10,13,27)</sup>.

Scarsi i reports bibliografici riguardanti il gatto, che tuttavia rappresenta, potenzialmente un veicolo preferenziale di trasmissione all'uomo di Genotipi zoonotici di *G. duodenalis*; esso, infatti, condivide con l'uomo, più di qualsiasi altra specie, lo stesso ambito domiciliare e preda, inoltre, animali selvatici quali i roditori, che fungono da serbatoio di Genotipo zoonotici<sup>(3)</sup>.

Il riscontro, nella specie felina, di tassi di prevalenza dell'infezione variabili<sup>(18,15,19,22)</sup> a seconda del contesto considerato e di una morbilità complessivamente ridotta<sup>(2)</sup>, ha avvalorato l'ipotesi, analogamente a quanto osservato nell'uomo, della giardiasi felina come malattia condizionata, dove numerosi fattori tra cui il management, l'età dell'animale ed anche il suo sistema immunocompetente possono influenzare l'evoluzione e l'espressione clinica dell'infezione. L'elevata incidenza nella popolazione felina di sindromi immunodepressive ad andamento cronico quali l'Immunodeficienza virale (FIV), la Peritonite infettiva (FIP) e la Leucosi (Felv), potrebbero far assumere al gatto il ruolo di

serbatoio durevole ed amplificatore dell'infezione con la possibilità di trasmissione all'uomo di genotipi zoonotici di *G. intestinalis*.

Sulla base di quanto sopra, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di acquisire dati epidemiologici sull'infezione sostenuta da *G. duodenalis* nella popolazione felina tramite uno studio di prevalenza condotto su animali normoergici e affetti da FIV, ospitati in un gattile della regione Umbria e uno studio di analisi genotipica dei ceppi isolati al fine di definire il rischio sanitario correlato all'infezione in tale specie animale.

## MATERIALI E METODI

### 1. Animali

L'assenza di un'anagrafe ufficiale in grado di fornire una stima dell'entità della popolazione felina presente nel territorio umbro ha reso difficile l'individuazione di un campione numericamente significativo, rendendo più complesso lo studio ed il calcolo del rischio sanitario ad essa associato. Lo studio di prevalenza è stato condotto facendo riferimento al numero di gatti che gravitano annualmente attorno ad uno dei principali gattili della regione.

Nel periodo compreso tra Novembre 2004 e Febbraio 2005, 120 gatti (72 femmine e 48 maschi), di età compresa tra i 2 mesi ed i 12 anni di vita sono stati scelti casualmente tra un gruppo di 250 soggetti di nuova introduzione e sono stati suddivisi in due distinti gruppi (FIV + e FIV -) utilizzando come fattore discriminante l'infezione sostenuta dal Virus dell'Immunodeficienza felina (FIV).

La diagnosi di FIV è stata effettuata sia tramite prove sierologiche, utilizzando un test immunocromatografico a sandwich (Speed Duo FIV-FELV-Mediatec, Milano, Italia) che mediante ricerca dell'acido nucleico virale a partire da campioni biotipici linfonodali, secondo il protocollo descritto da Endo et al. (1997)<sup>(6)</sup>.

Per ogni gatto in esame è stata compilata una scheda con i dati relativi al segnalamento e anamnesi facendo particolare attenzione al dato presenza/assenza di una sintomatologia enterica. Al momento del campionamento, tutti i gatti



sono risultati sverminati e vaccinati nei confronti di Rinotracheite infettiva (FHV-1), Calicivirosi (FCV) e Virus Leucogeno Felino (Felv).

I soggetti diarroici in cui è stata fatta diagnosi di giardiasi sono stati sottoposti a terapia con Metronidazolo al dosaggio di 10 mg /kg SID per 7 giorni e quindi rivalutati.

## 2. Raccolta e conservazione campioni

Sono stati effettuati complessivamente 6 sopralluoghi a cadenza settimanale, durante ciascuno dei quali si è proceduto al campionamento di 20 soggetti. I campioni fecali raccolti (costituiti ciascuno da un pool delle feci presenti in lettiera) sono stati diluiti in 10 ml di PBS (pH 7,2), filtrati e centrifugati per 10 min. a 2000Xg. I pellets così ottenuti sono stati addizionati con Bicromato di Potassio ( $K_2Cr_2O_7$ ) al 5% e conservati a +4°C in attesa di essere utilizzati per la ricerca dei coproantigeni mediante Immunofluorescenza diretta (IF). I campioni positivi all'IF sono stati sottoposti ad estrazione di DNA, a Nested PCR ed a tipizzazione dei genotipi isolati mediante enzimi di restrizione e sequenziamento.

## 3. Immunofluorescenza diretta (IF)

I campioni conservati a +4, dopo 2 successivi cicli di lavaggio con PBS, sono stati risospesi in soluzione 1M di Saccarosio (rapporto 1:5), centrifugati per 10 min a 2000 Xg ed il flottato sottoposto a due ulteriori lavaggi. Il pellet, diluito in 0,5 ml di PBS, è stato utilizzato per la ricerca dei coproantigeni tramite il kit commerciale Merifluor Cripto-Giardia (Meridian Bioscience, Milano, Italia), utilizzando una miscela di anticorpi monoclonali diretti contro antigeni della parete cellulare delle cisti di *G. intestinalis*<sup>(26)</sup>.

Sulla base del numero di cisti repertate osservando un campo ottico di 0,11 mm<sup>2</sup> alla magnitudine di 400X, i campioni risultati positivi all'IF sono stati classificati secondo quattro distinti patterns d'escrezione: 0: Negativo; 1: 2-4 cisti; 2: 4-6 cisti; 3: 6-8.cisti; 4: >8 cisti.

## 4. Nested Pcr (Polymerase Chain Reaction)

L'estrazione del DNA genomico, in accordo con il protocollo operativo indicato dal kit QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAgen, S.p.a., Milano, Italia), è stata eseguita a partire da 200 µl della sospensione concentrata di cisti, ottenuta per

successivi lavaggi e precipitazioni del materiale fecale mantenuto in  $K_2Cr_2O_7$  al 5%.

Per amplificare la sequenza target del gene TPI-triosio-fosfato isomerasi di *G. duodenalis* è stata allestita, in accordo con quanto indicato da Sulaiman et al. (2003)<sup>(21)</sup>, una Nested-PCR; le reazioni di amplificazione sono state eseguite utilizzando rispettivamente i primers esterni (forward e reverse) in grado di amplificare un frammento di 605 pb del gene TPI ed i primers interni per l'amplificazione del frammento di 532 pb.

Entrambe le reazioni sono state condotte ad un volume finale di 50 µl contenente 5 µl di DNA ed 1X miscela di reazione costituita da 1,5 mM  $KCl_2$ , 10 pmol di ogni primer, 200 µM di dNTP's (Promega, Madison, USA), 2,5 U/100 µl di Go-TAQ DNA polymerase (Promega, Milano, Italia), portata al volume finale con H<sub>2</sub>O bidistillata.

La miscela di reazione è stata caricata in un DNA Thermal Cycler e sottoposta ad un ciclo iniziale di denaturazione a 94°C per 5 min. Successivamente sono stati eseguiti 35 cicli di amplificazione (per ogni ciclo 45 s di denaturazione a 94°C, 45 s di appaiamento a 55°C, 60 s di estensione a 72°C) ed un ciclo finale a 72°C per 7 min per permettere il completamento dell'estensione dei filamenti amplificati.

Aliquote da 16µl del prodotto amplificato dalla Nested-PCR sono state caricate insieme a 4 µl del tampone di caricamento, contenente 50 mg/ml di etidio bromuro in buffer TBE (Tris-Acido Borico-EDTA) su gel agarosio al 1% e sottoposte a migrazione elettroforetica a 90V per 1 ora. In parallelo sono stati caricati i rispettivi controlli ed un marcatore di peso molecolare di 100 pb.

Al fine di dedurre l'assemblaggio di *G. duodenalis* è stata eseguita una digestione del prodotto di PCR del gene TPI, mediante l'utilizzo dell'enzima di restrizione DdE; l'assemblaggio di *G. duodenalis* è stato dedotto sulla base del numero e della dimensione dei frammenti prodotti dall'enzima.

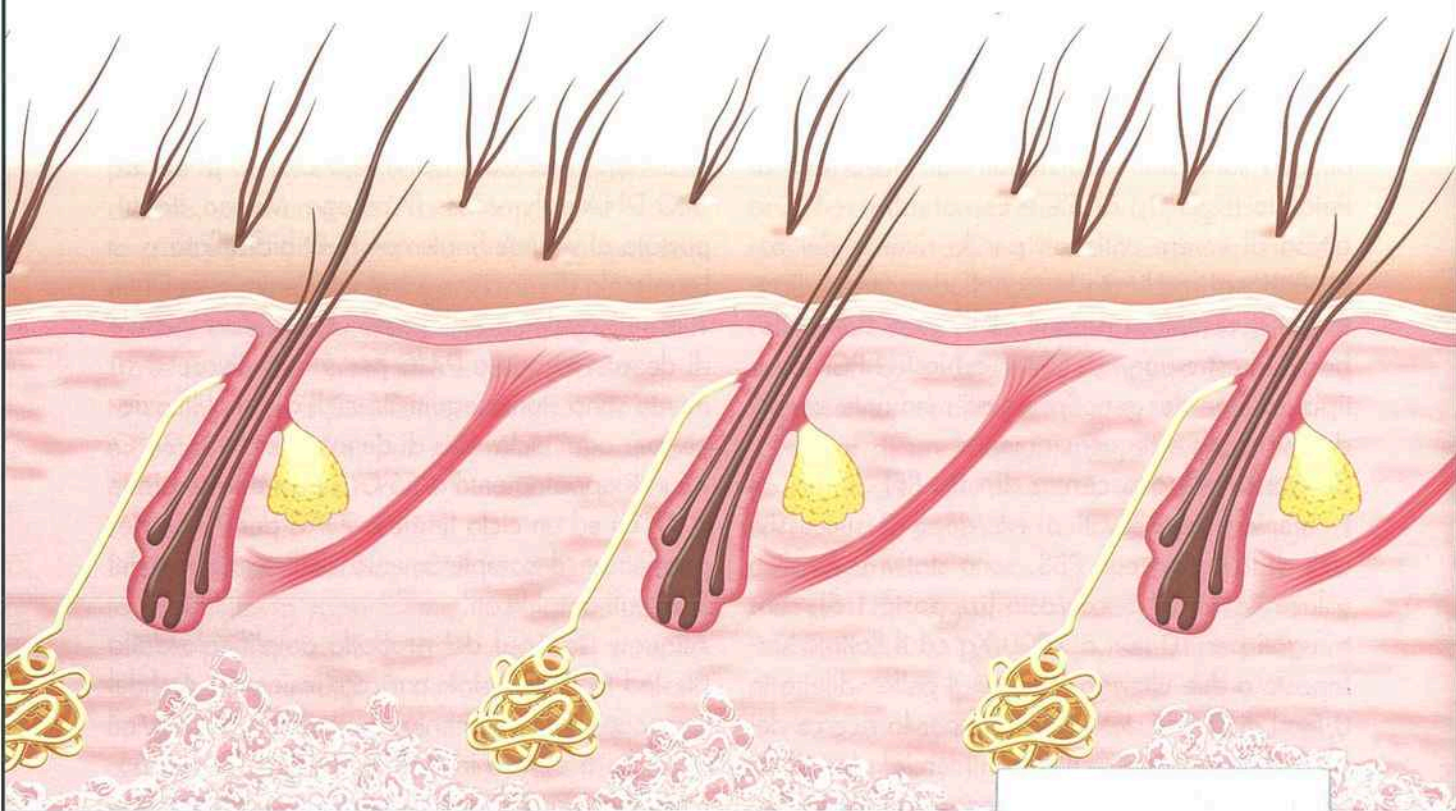
I prodotti di PCR, inoltre, sono stati purificati utilizzando il kit Qiaquick (QIAgen S.p.a., Milano, Italy) e sequenziati usando ABI Prism Big Dye<sup>TM</sup> Terminator Cycle Sequencing kit ed un sequenziatore automatico (ABI 31000-Biosystems, Foster, CA). Le sequenze sono state assemblate



Conosci  ?

La nuova gamma migliorata Hill's™ Prescription Diet™ d/d™

## La scelta migliore ai primi sintomi di patologia cutanea



Prove cliniche hanno dimostrato che la nuova gamma Prescription Diet™ d/d™ riduce la sintomatologia clinica di allergie alimentari e di dermatiti atopiche in soli 28 giorni.<sup>1</sup>

- Il 75% dei pazienti presenta una riduzione dell'eritema<sup>1</sup>
- Il 76% dei pazienti presenta una riduzione della lichenificazione<sup>1</sup>
- Il 60% dei pazienti presenta una riduzione delle lesioni autoinflitte<sup>1</sup>
- Oltre il 70% dei proprietari è soddisfatto dei risultati<sup>1</sup>

Quindi, la nuova formulazione Prescription Diet d/d riduce i sintomi correlati alle patologie cutanee.

### Ecco cosa Hill's può fare per i tuoi pazienti

Potete contattare il vostro Informatore Scientifico Hill's, chiamare il Servizio Consumatori Hill's 800 701 702 o visitare il nostro sito web [www.HillsVet.it/persapernedipiu/novita](http://www.HillsVet.it/persapernedipiu/novita)



La Dietetica Clinica che  
Migliora la Qualità della Vita

<sup>1</sup> Allen T, Fritsch D, Jewell D, Lowry S. Nutrition and Non-Seasonal Pruritic Dermatitis in Dogs Caused by Atopy and/or Adverse Reactions to Food. A Multi-Centre Clinical Study. Hill's Pet Nutrition, Inc., Topeka, Kansas data on file.



mediante il software SeqMan II (DNASTAR, Madison WI, USA) e confrontate con quelle presenti in GenBank.

### 5. Elaborazione dati

I risultati ottenuti sono stati elaborati calcolando la prevalenza complessiva dell'infezione da *G. intestinalis* all'interno del gattile, la prevalenza presente nel gruppo di animali normoergici (FIV-) e nel gruppo di gatti immunodepressi (FIV+), il tasso di infezione da FIV.

La comparazione tra il tasso di prevalenza osservato nel gruppo dei gatti FIV+ e quello dei FIV- è stata valutata attraverso Fisher Exact Test. Analoga procedura statistica è stata utilizzata per valutare la differenza tra la prevalenza dei differenti patterns d'escrezione e quella delle sindromi diarroiche nei due gruppi animali.

Applicando la procedura statistica Corr del Software SAS e calcolando i Coeff. di Pearson è stata stimata, inoltre, la correlazione tra intensità d'escrezione, diarrea e stato immunitario dei gatti.

## RISULTATI

Dei 120 gatti oggetto di campionamento, 43 soggetti (35,83 %) sono risultati immunodepressi (FIV+) mentre il restante 64,17 % (77 animali) ha mostrato negatività all'infezione da FIV.

Il test IF ha evidenziato una prevalenza complessiva dell'infezione sostenuta da *G. duodenalis* del 6,66%. Il tasso d'infezione nei gatti immunodepressi e nei soggetti normoergici è risultato rispettivamente del 9,32% e del 5,19% (Tabella n. 1).

| Prevalenza d'infezione (%) | Gruppo animale |        | (Fisher's statistic test) |
|----------------------------|----------------|--------|---------------------------|
|                            | FIV +          | FIV -  |                           |
|                            | 9,32 %         | 5,19 % | (p)                       |
| Prevalenza complessiva (%) | 6,66 %         |        | > 0,05                    |

Tabella n.1- Distribuzione dell'infezione sulla base della condizione immunitaria degli animali e confronto statistico tra i due gruppi.

\*p< 0,05= significatività

\*\*p>0,05= assenza di significatività

La diagnosi di giardiasi basata sui risultati di IF (Foto n. 1) è stata successivamente confermata dalla Nested-PCR. L'utilizzo di enzimi di restrizione (Foto n. 2) ed il sequenziamento dei frammenti amplificati hanno mostrato che tutti gli isolati provenienti dai gatti del rifugio appartenevano al Genotipo A2 di *Giardia duodenalis*; l'Assemblaggio F, specifico per il gatto, non è stato indi-

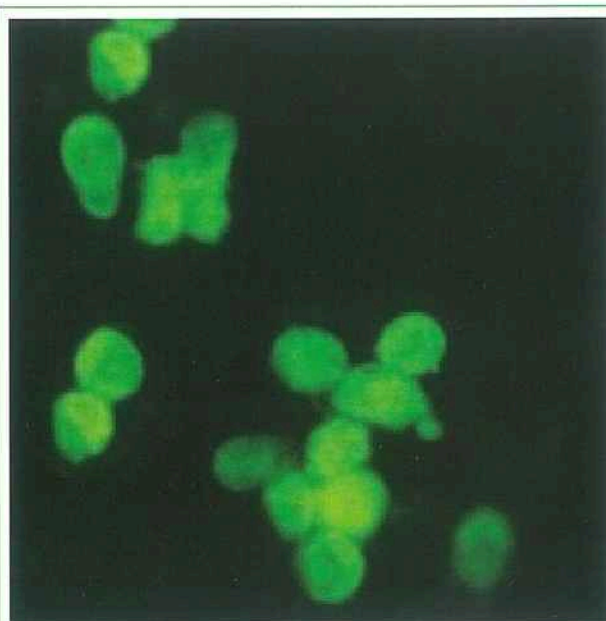


Foto n. 1: Cisti di *Giardia duodenalis* su striscio fecale (Immunofluorescenza diretta).

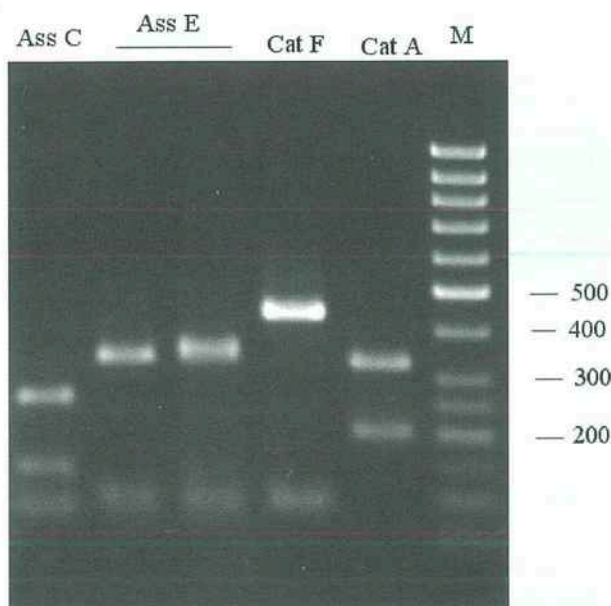


Foto n. 2: Elettroforesi del prodotto di PCR del gene TPI, dopo digestione con l'enzima DdeI. È possibile dedurre l'Assemblaggio di *G. duodenalis* sulla base del numero e della dimensione dei frammenti prodotti dall'enzima.





viduato.

Relativamente ai patterns d'escrezione ed alla frequenza delle sindromi dissenteriche, i gatti normoergici hanno mostrato nel 75% dei casi un'intensità d'escrezione pari +2 ed assenza di diarrea; negli animali immunodepressi sono stati osservati sia livelli d'escrezione più alti (+3 e +4) che associazione, nel 100% dei casi, con sindromi dissenteriche (Tabella n.2).

| Patterns d'escrezione | Gruppo animale Infetto da Giardia |             | Analisi univariata               |                     |
|-----------------------|-----------------------------------|-------------|----------------------------------|---------------------|
|                       | FIV + % (n)                       | FIV - % (n) | Fisher's statistic Statistic (P) | C. Pearson, Pr >  r |
| L 1                   | (0) 0%                            | (0) 0%      | > 0,05                           | < 0,05              |
| L 2                   | (0) 0%                            | (3) 75%     | < 0,05                           |                     |
| L 3                   | (2) 50%                           | (1) 25%     | < 0,05                           |                     |
| L 4                   | (2) 50%                           | (0) 0%      | < 0,05                           |                     |

Tabella n. 2- Distribuzione dei patterns d'escrezione sulla base della condizione immunitaria degli animali ed analisi statistica univariata.

\*p< 0,05= significatività

\*\*p>0,05= assenza di significatività

La condizione immunosoppressiva è risultata positivamente associata sia alle sindromi dissenteriche che all'elevata escrezione cistica (p<0,05) (Tabella n. 3).

| Gruppo animale Infetto da Giardia | Diarrea          |                  | Analisi univariata |                     |
|-----------------------------------|------------------|------------------|--------------------|---------------------|
|                                   | Presenza         | Assenza          | Fisher Test (P)    | C. Pearson, Pr >  r |
|                                   | N. animali (n) % | N. animali (n) % |                    |                     |
| Gatti FIV +                       | (4) 100%         | (0) 0%           | < 0,05             | < 0,05              |
| Gatti FIV -                       | (0) 0%           | (4) 100%         |                    |                     |

Tabella n. 3- Prevalenza di sindromi dissenteriche nei gatti normoergici ed in quelli immunodepressi. Confronto statistico tra i 2 gruppi.

\*p< 0,05= significatività

\*\*p>0,05= assenza di significatività

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati della presente indagine evidenziano valori di prevalenza dell'infezione abbastanza contenuti (6,66%) nonostante il carattere "randagio", e quindi a maggiore rischio d'infezione, della popolazione felina saggia<sup>(11)</sup>.

Tale tasso di prevalenza è in linea con i valori

riportati in indagini analoghe effettuate in diversi paesi europei ed extraeuropei (range compreso tra il 2,4% ed il 7,3%)<sup>(8,20,5,22)</sup>.

Il confronto tra i risultati dello studio di prevalenza condotto sul gruppo di gatti normoergici (FIV-) e gatti immunodepressi (FIV +), pur non rilevando differenze statisticamente significative (p>0,05), ha messo in rilievo un dato epidemiologico importante per la contaminazione ambientale quale quello della maggiore intensità d'escrezione parassitaria negli animali FIV+.

Tale dato assume ancora più rilevanza se messo in rapporto con i risultati dello studio genotipico che testimoniano la suscettibilità della specie felina verso genotipi ad impatto zoonotico come l'Assemblaggio A<sup>(23,24)</sup>. L'isolamento del Assemblaggio A2 dal gatto, da noi effettuato, risulta il primo segnalato in Italia.

Relativamente al significato che l'infezione da *G. duodenalis* riveste per il gatto, l'alta frequenza delle turbe gastro-enteriche osservate nei felini FIV + e la forte affinità eziopatogenetica tra il virus dell'Immunodeficienza Felina ed il virus dell'HIV umano (entrambe le infezioni si traducono nella progressiva diminu-

zione della sottopopolazione linfocitaria CD4+), inducono a ritenere che, al pari di quanto accade in campo umano, l'infezione da *G. intestinalis* possa essere una delle cause eziologiche di tali disturbi.

La completa remissione della sintomatologia ottenuta in tali soggetti in seguito a somministrazione di Metronidazolo, unitamente alla mancata risposta alle terapie antibiotiche precedentemente instaurate, comprovano ulteriormente il ruolo patogeno di *G. intestinalis*.

Sebbene i risultati ottenuti necessitino di ulteriori conferme, dal presente studio si evidenzia come lo stato immunosoppressivo indotto dalla FIV sia in grado non solo di modulare le manifestazioni cliniche dell'infezione sostenuta da *G. intestinalis* ma, anche, di condizionare il ruolo del gatto come reservoir e/o amplificatore (a parità di prevalenza i gatti immunodepressi sono risultati maggiori escretori) dell'infezione per l'uomo.



Le implicazioni di sanità pubblica correlate alla giardiasi felina, evidenziano la necessità di una gestione accurata di tali animali, soprattutto di quelli affetti da patologie immunodepressive, e la necessità di un'attenta sorveglianza epidemiologica sul territorio ad iniziare dai gattili pubblici; i gattili, infatti, rappresentano una situazione in cui le condizioni igienico-sanitarie a volte precarie ed il veloce turnover di animali di varia provenienza favoriscono la diffusione dell'infezione e l'instaurarsi di una condizione di endemia.

## BIBLIOGRAFIA

1. Adam RD, 2001: Biology of *Giardia lamblia*. Clin Microbiol Rev, 14: 447-475.
2. Barr SC e Bowman DD, 1994: Giardiasis in dogs and cats. The Compendium for Continuing Education of the Practising Veterinarian. Small Anim, 16: 603-10.
3. Bemrick WJ, Erlandsen SL, 1988: Giardiasis-it is really a zoonosis. Parasitol Today, 4: 69-71.
4. Capelli G, Paletti B, Iorio R et al., 2003: Prevalence of *Giardia* sp. in dogs and humans in Northern and Central Italy. Parasitol Res, 90: 154-55.
5. Collins GH, Pope SE, Griffin DL, et al, 1987: Diagnosis and prevalence of *Giardia spp* in dogs and cats. Aust Vet J, 64: 89-90.
6. Endo Y, Cho K, Nishigaki K et al., 1997: Molecular characteristics of malignant lymphomas in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. Vet Immun and Immunopat, 57: 153-167.
7. Filippich LJ, McDonnell PA, Munoz E et al., 1998: *Giardia duodenalis* in budgerigars. Aust Vet J, 76: 246-9.
8. Hill SL, Cheney JM, Taton-Allen GF et al, 2000: Prevalence of enteric zoonotic organisms in cats. J Am Vet Med Assoc, 216: 687-92.
9. Hopkinz RM, Meloni BP, Groth DM et al, 1997: Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotype of *Giardia* isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. J. Parasitol., 83: 44-51.
10. Itoh N, Muraoka N, Aoki M, Itagaki T, 2001: Prevalence of *Giardia lamblia* infection in house dogs. Kans Zass, 75 (8): 671-7.
11. Kirkpatrick CE e Laczak JP, 1985: "Giardiasis in a cattery". J Am Vet Med Assoc 187 (2): 161-2.
12. Lalle M, Jimenez-Cardosa E, Cacciò et al., 2005: Genotyping of *Giardia duodenalis* from humans and dogs from Mexico using a beta-giardin nested polymerase chain reaction assay. J Parasitol. 91(1): 203-5.
13. Lalle M, Pozio E, Capelli G et al., 2004: *Giardia duodenalis* isolates from humans, dogs and calves: molecular genotyping and the role of zoonotic transmission. Parasitol 110 (1): 176.
14. Lalle M, Pozio E, Capelli G et al., 2005: Genetic heterogeneity at the  $\beta$ -giardin locus among human and animals isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. Int J Parasitol, 35: 207-213.
15. McGlade TR, Robertson ID, Elliot RCA, Thompson RCA al., 2003: High prevalence of *Giardia* detected in cats by PCR. Vet Parasitol, 110: 197-205.
16. Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL, 2003: Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. Infection Genetics Evolution 3: 28-39.
17. Meloni BP, Thompson RC, Hopkins et al., 1993: The prevalence of *Giardia* and other intestinal parasites in children, dogs and cats from aboriginal communities in the Kimberley. Med J Aust, 158 (3): 157-9.
18. Pospisilova D e Svobodova V, 1992: Giardiasis in dogs and cat owners. Cask Epid Mikrob Immunol, 41:106-8.
19. Sargent KD, 1997: Molecular characterization of *Cryptosporidium* from selected hosts. Honours Thesis. Murdoch University, Perth.
20. Spain CV, Scarlett JM, Wade SE et al., 2001: Prevalence of enteric zoonotic agents in cats less than 1 years old in Central New York State. J Vet Intern Med, 15: 33-8.
21. Sulaiman LM, Fayer R, Bern C et al., 2003: Trisphosphate isomerase gene characterization and potential zoonotic transmission of *Giardia duodenalis*. Emerg Infect. Dis, 9: 1444-52.
22. Swan JM and Thompson RCA, 1986: The prevalence of *Giardia* in dogs and cats in Perth, Western Australia. Austra Vet J 63: 110-12.
23. Thompson RC, Meloni BP, Lymbery AJ, 1988: Humans and cats have genetically-identical forms of *Giardia*: evidence of a zoonotic relationship. Med J Aust, 148 (4): 207-9.
24. Thompson RCA, Hopkins RA, Homan WL, 2000: Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. Parasitol 108: 97-107.
25. Thompson RCA, Hopkins RM, Homan WL, 2000: Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. Parasitol Today, 16: 210-3.
26. Traub RJ, Monis PT, Robertson I et al., 2004: Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. Parasitol 124: 179-86.
27. Trout JM, Santin M, Greiner E, Fayer R, 2004: Prevalence of *Giardia duodenalis* genotypes in pre-weaned dairy calves. Vet Parasitol 124: 179-86.
28. Van Keulen H, Macechko PT, Wade S et al., 2002: Presence of *Giardia* in domestic, farm and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. Vet Parasitol 108(2): 97-107.



# REPERTI CLINICI, EMATOLOGICI ED ISTOPATOLOGICI IN CORSO DI MASTOCITOMA VISCERALE DEL GATTO

Antognoni M.T.,\* Spaterna A.,\*\*Lepri E.,\* Fruganti A.,  
\*Laus F., Porciello F.

Dip.to di Patologia, Diagnostica e Clinica Veterinaria  
Sezione Medicina Interna

\*\*Dip.to di Scienze Biopatologiche Veterinaria  
Università degli Studi di Perugia

\*Dip.to di Scienze Veterinarie - Sezione Clinica.  
Università degli Studi di Camerino

## RIASSUNTO

La presente nota descrive quattro casi di mastocitoma viscerale, in considerazione del raro riscontro di neoplasie di origine mastocellulare nella specie felina. Si tratta di tre forme sistemiche ed una di tipo intestinale così differenziate sulla scorta degli aspetti clinici diretti e collaterali, nonché anatomoistopatologici.

**Parole chiave:** neoplasia mastocitica, gatto, sangue

## SUMMARY

*Given the low incidence of mast cell proliferative disorders in the cat, we describe 4 cases of visceral mast cell tumor. Based on physical examination and laboratory findings 3 systemic and 1 intestinal mast cell tumors were identified and characterized. Diagnosis was confirmed by necropsy and histopathology.*

**Key words:** mast cell tumors, cat, blood

## INTRODUZIONE

I tumori di origine mastocitica rappresentano nel cane circa il 20-25% fra le neoplasie cutanee e sottocutanee, con predisposizione delle razze brachicefale (boxer, bull mastiff, bulldog inglese). Nel gatto, invece, hanno un'incidenza dello 0,8% rispetto a tutte le altre neoplasie (Weller, 1978; Morgan, 1998). I soggetti vecchi sono i più esposti a questo tipo di patologia tumorale, senza predisposizione di sesso mentre, in riferimento alla razza, quella siamese sembra essere la più colpita (Nelson e Couto, 2003).

Il mastocitoma nel gatto si manifesta in forma cutanea e viscerale; questa, a sua volta, si differenzia in *sistemica* ed *intestinale* (Fritz et al., 2004; Moulton e Harvey, 1990; Nelson e Couto, 2003). La forma sistemica è dominata da un coinvolgimento del sistema ematopoietico (leucemia mastocellulare) con prevalente interessamento splenico, epatico, nonché midollare. Quella intestinale, peraltro di ancor più raro riscontro, è invece caratterizzata dalla presenza di neoformazioni, isolate o multiple, a livello addominale, in particolare interessanti le anse del piccolo in-





testino, con partecipazione o meno dei linfonodi regionali (Howl e Peterson, 1995; Weller, 1978). In questa nota vengono descritti i risultati delle indagini cliniche, dirette e di laboratorio, nonché di quelle anatomo-istopatologiche che hanno consentito di emettere diagnosi di mastocitoma viscerale in 4 gatti pervenuti alla nostra osservazione, in tre dei quali (C1, C2, C3) la neoplasia era di tipo sistemico e nel quarto (C4) in forma intestinale.

## MATERIALI E METODI

**CASO n. 1:** gatto europeo femmina di 13 anni di età che da 4 giorni presentava depressione del sensorio, vomito, anoressia, poliuria e polidipsia. L'animale mostrava segni di disidratazione, pallore delle mucose apparenti ed ipotermia (36.5°C). L'addome era leggermente aumentato di volume; alla palpazione si apprezzava splenomegalia e si evocava dolore a livello di anse intestinali, peraltro ispessite e lievemente meteoriche. Il gatto, ricoverato per essere sottoposto ad accertamenti del caso e a terapia intensiva con soluzioni idro-elettrolitiche e cortisone, è morto il giorno dopo l'ospedalizzazione.

**CASO n. 2:** gatto europeo maschio di 15 anni. L'anamnesi riferiva la presenza, da circa 20 giorni, di sensorio depresso, anoressia, vomito a carattere sporadico e un progressivo dimagrimento. All'esame clinico diretto erano evidenti segni di disidratazione e mucose apparenti pallide nonché milza aumentata di volume, a superficie irregolare.

**CASO n. 3:** gatto europeo femmina di 10 anni che da circa 10 giorni manifestava disoressia, vomito ricorrente, feci diarroidiche con muco e dimagrimento progressivo. I segni clinici erano caratterizzati da pallore delle mucose apparenti, modico aumento di volume dei linfonodi del pacchetto intestinale e marcata splenomegalia.

**CASO n. 4:** gatto europeo maschio di 14 anni. L'anamnesi riferiva che circa un mese prima l'animale aveva presentato disoressia e vomito, regrediti con la somministrazione di ranitidina, ma ricomparsi dopo la sospensione del farmaco. La sintomatologia gastroenterica si era ulteriormente

aggravata, associata ad emissione di feci picee. L'esame clinico evidenziava marcata depressione e grave essiccasi, nonché linfadenomegalia sistemica. Alla palpazione dell'addome, peraltro aumentato di volume, oltre alla epato-splenomegalia e ad anse intestinali a contenuto liquido e gassoso, si apprezzava una formazione rotondeggiante a consistenza duro carnosa e superficie irregolare, rugosa. La grandezza della massa era assimilabile a quella di un mandarino e non dolente, verosimilmente in stretta continuità con un'ansa intestinale.

Il riscontro, nei quattro soggetti, dei segni clinici sopra menzionati, ha comportato l'esecuzione di indagini collaterali allo scopo di completare l'iter diagnostico. Sono stati eseguiti prelievi ematici, esami ecografici dell'addome e, nei casi 1 e 4, anche la paracentesi; nel terzo soggetto è stato inoltre effettuato un agoaspirato splenico.

**I campioni ematici** sono stati raccolti in provette vacutainer contenente anticoagulante (EDTA) ed utilizzati per eseguire l'emogramma (contaglobuli automatico System 9020-Serono). Sono stati allestiti strisci da sangue periferico e dal buffy coat e sottoposti a colorazione con May Grunwald Giemsa (MGG). Inoltre, gli strisci ematici dei casi C1, C2 e C3 sono stati colorati anche con il Blu di Toluidina, colorazione specifica per i mastociti.

Su siero sono stati valutati i seguenti parametri ematochimici: glucosio, urea, creatinina, proteine totali, bilirubina totale e diretta, calcio, fosforo, lattato deidrogenasi (LDH), alanina ed aspartato aminotrasferasi (ALT e AST), fosfatasi alcalina (ALP),  $\gamma$ -glutamilttrasferasi ( $\gamma$ -GT) e creatinfosfochinasi (CK) (Hitachi 704 e Kits Roche). Il siero è stato utilizzato anche per effettuare i test sierologici nei confronti dell'immunodeficienza (FIV) e della leucosi felina (FeLV) (SNAP Combo Plus IDEXX).

**I campioni di liquido peritoneale**, ottenuti dai casi 1 e 4, sono stati raccolti in provette contenente EDTA. Di questi è stata valutata la citologia del sedimento, previa centrifugazione (1500/rpm per 5 minuti) e colorazione, prima, con MGG e successivamente con Blu di Toluidina.

**L'indagine ecografia addominale** è stata eseguita utilizzando una sonda da 6,5 MHz microcon-



vex (SA 8800 Sonoace Medison Kretz).

**L'agoaspirato splenico**, ecoguidato, è stato effettuato con ago da 20 G e il materiale ottenuto, è stato strisciato e colorato con MGG.

In considerazione del giudizio prognostico sfavorevole emesso sulla scorta dei rilievi clinici, i soggetti 2-3-4 sono stati sottoposti ad eutanasia per volontà del proprietario.

**L'esame necroscopico** è stato eseguito in tutti e quattro i pazienti.

**L'esame istologico** è stato eseguito su campioni prelevati, in sede necroscopica, da organi e tessuti (apparato gastroenterico, respiratorio, genito-urinario, emolinfopoietico, tegumentario e sistema nervoso centrale). Questi sono stati fissati in formalina neutra tamponata al 10% per essere successivamente processati secondo le metodiche istologiche usuali; sono stati inoltre colorati con Ematossilina Eosina, P.A.S., Giemsa e Blu di Toluidina.

## RISULTATI

I risultati dei parametri emocromocitometrici e biochimico-clinici vengono riportati nella tabella 1, mentre, quelli relativi alle indagini collaterali, dei singoli soggetti, sono di seguito descritti.

**CASO n. 1:** l'emogramma ha mostrato anemia normocitica e normocromica, di tipo iporigenerativo, nonché marcata piastrinopenia. L'esame della popolazione leucocitaria ha evidenziato oltre a granulociti neutrofili (69% ), linfociti (6%) e monociti (2%), anche un'altra componente cellulare in percentuale pari a 23, la cui morfologia era caratterizzata da forma rotonda, nucleo in posizione centrale, provvisto di uno o più nucleoli, che occupava gran parte del citoplasma. In esso erano evidenti granuli basofili e, talvolta, uno o due grandi vacuoli. Alcuni di questi elementi ematici mostravano evidenti segni di eritrofagocitosi (foto n 1 e 2).

I caratteri morfologici appena descritti e la positività alla colorazione con Blu di Toluidina, ci hanno permesso di classificare queste cellule come mastociti.

Fra i valori sierici sono risultati elevati quelli rela-

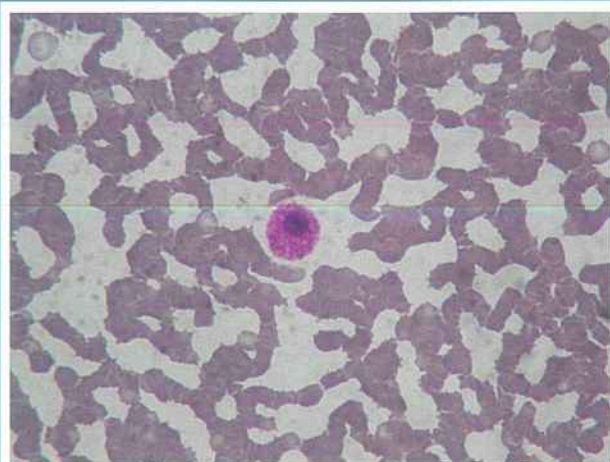


Foto n 1: mastocita nel sangue circolante. (MGG x1000). Caso n1

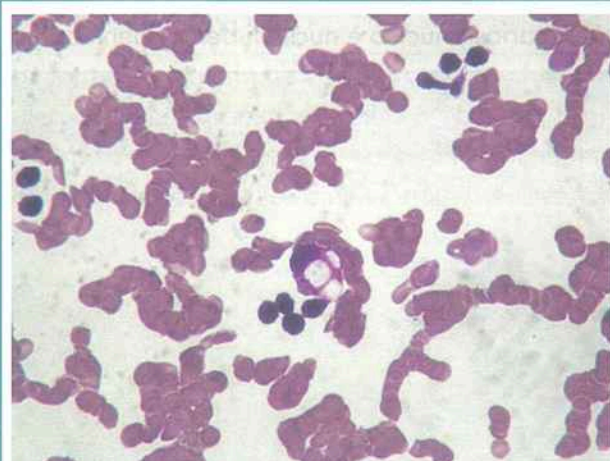


Foto n 2: mastocita nel sangue circolante; nel citoplasma sono evidenti vacuoli ed un globulo rosso. (MGG x1000). Caso n1

tivi ad urea, ALT ed AST.

I test sierologici nei confronti di FIV e FelV hanno dato esito negativo.

La citologia del versamento peritoneale, di aspetto siero emorragico, ha permesso il rilievo di numerosi granulociti neutrofili, rari macrofagi, attivati e non e di qualche mastocita avente gli stessi caratteri morfologici di quelli ematici.

L'esame ecografico dell'addome ha evidenziato versamento peritoneale, imponente splenomegalia ed epatomegalia. Questi elementi sono stati confermati anche in sede necroscopica (foto n 3). All'esame istologico è stato riscontrato un infiltrato neoplastico in tutti i tessuti esaminati, con particolare severità per il tessuto linfopoietico (milza e linfonodi) ed epatico. Gli elementi neoplastici costituivano una popolazione pleomorfa "a cel-



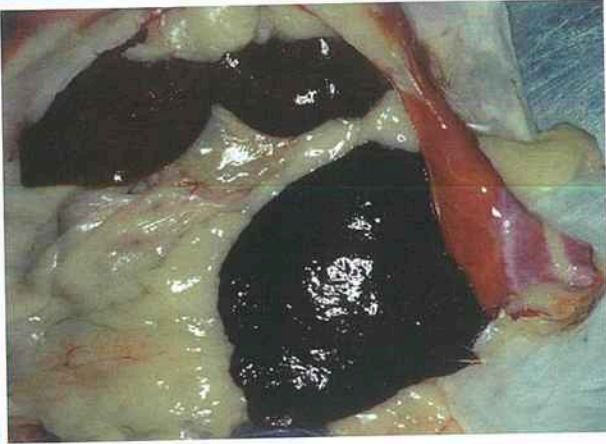


Foto n 3: spleno-epatomegalia in sede necroscopica. Caso n 1

lule rotonde" caratterizzata da anisocitosi ed anisocariosi, nucleo e nucleoli ben evidenti ed un rapporto nucleo/citoplasma piuttosto elevato. La gran parte delle cellule conteneva numerosi granuli citoplasmatici che risultavano metacromatici con le colorazioni Giemsa e Blu di Toluidina (foto n 4).

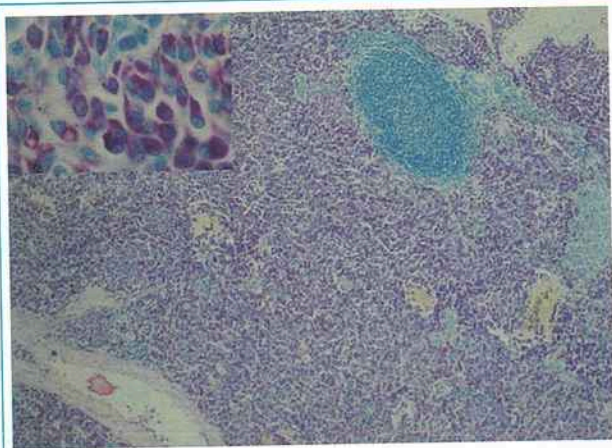


Foto n 4: esame istologico della milza. (Giemsa x 20 e x 40). Caso n 1

**CASO n. 2:** l'anemia marcata, era di tipo normocromica e normocitica, iporigenerativa. Era presente leucopenia; la frazione cellulare più rappresentata era costituita da granulociti neutrofili (80%). Anche in questo soggetto, l'osservazione degli strisci ematici ha evidenziato una popolazione cellulare (12%) con caratteri morfologici e tintoriali sovrapponibili a quella descritta nel caso n. 1.

I valori delle attività enzimatiche di ALT ed AST si mostravano modicamente aumentati.

Negativi sono risultati i test sierologici nei confronti di FIV e FeLV.

All'esame ecografico la milza, oltre ad essere aumentata di volume, mostrava una superficie e un parenchima a trama grossolanamente irregolare. Si evidenziava anche una modica linfadenomegalia ed epatomegalia.

All'esame necroscopico la milza, aumentata di volume e a superficie irregolare, si presentava disseminata di piccoli noduli, a dimensioni variabili da 2 a 5-6 mm così come il fegato. Si apprezzava una lesione ulcerativa di pochi mm, a livello pilorico ed una enterite emorragica in forma grave.

L'esame istologico ha rilevato un infiltrato di cellule di origine mastocitica, in tutti i tessuti esaminati, in particolare a livello splenico ed epatico.

**CASO n. 3:** era presente anemia, con gli stessi caratteri sopra descritti, accompagnata da marcata piastrinopenia, nonché leucopenia e un numero di granulociti neutrofili e di mastociti rispettivamente pari all'80% e al 7%.

Le sierodiagnosi nei confronti di FIV e FeLV sono risultate negative.

La citologia relativa al campione splenico ottenuto per agoaspirato, era caratterizzata da un tappeto di cellule mastocitiche che mostravano numerosi granuli intracitoplasmatici, a volte vacuoli e segni di eritrofagocitosi (foto n 5).

L'indagine ultrasonografica addominale ha rile-

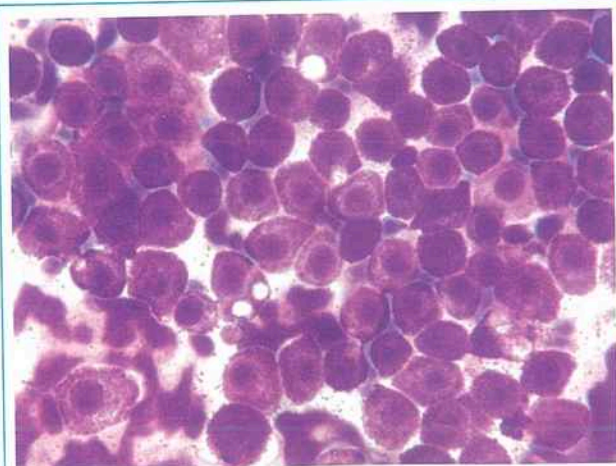


Foto n 5: citologia agospirato splenico. (MGG x 1000). Caso n 3

vato l'aumento di volume del fegato e della milza con uno scarso coinvolgimento dei linfonodi me-



seraici. I risultati ottenuti dall'esame necroscopico ed istologico sono sovrapponibili a quelli descritti nei due casi precedenti.

**CASO n. 4:** in questo era palese una granulocitosi neutrofila. Inoltre, l'osservazione degli strisci ematici ha consentito di evidenziare numerosi granulociti eosinofili (38%), anche a stadi di maturazione diversa; si distinguevano, infatti, forme a nucleo segmentato, a band, nonché mielociti, morfologicamente normali (foto n 6 e 7).

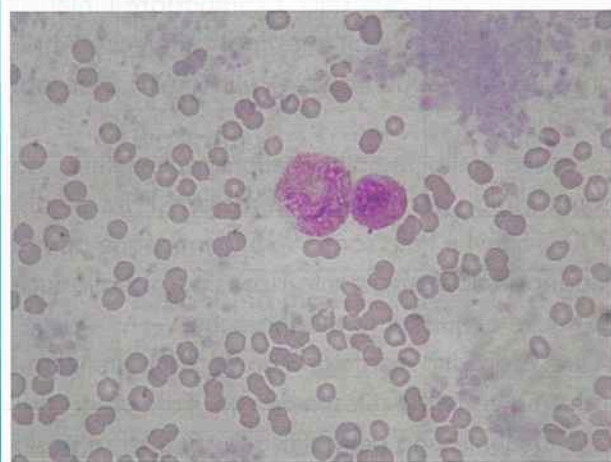
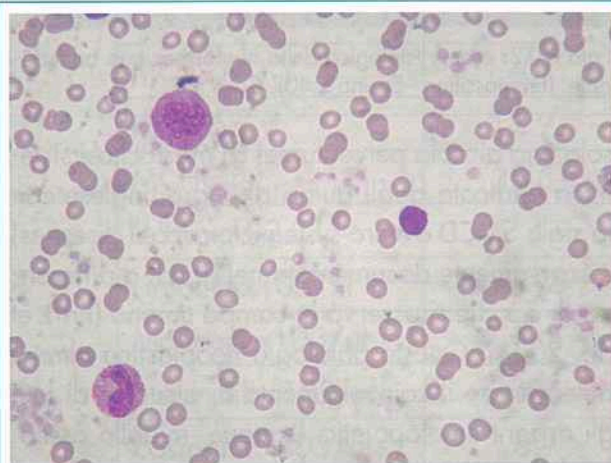


Foto n 6 e n 7: eosinofili a diverso stadio di maturazione nel sangue circolante. (MGG x 1000). Caso n 4

L'esame citologico del liquido siero-emorragico ottenuto per paracentesi ha rilevato la presenza di eosinofili, rari granulociti neutrofili, macrofagi, mastociti provvisti di pochi granuli basofili citoplasmatici e la presenza di cellule indifferenziate di notevoli dimensioni, con nucleo provvisto di 2-3 nucleoli, diversi per grandezza e forma e, un abbondante citoplasma contenente scarse granulazioni (foto n 8).

Queste ultime cellule hanno mostrato la positività

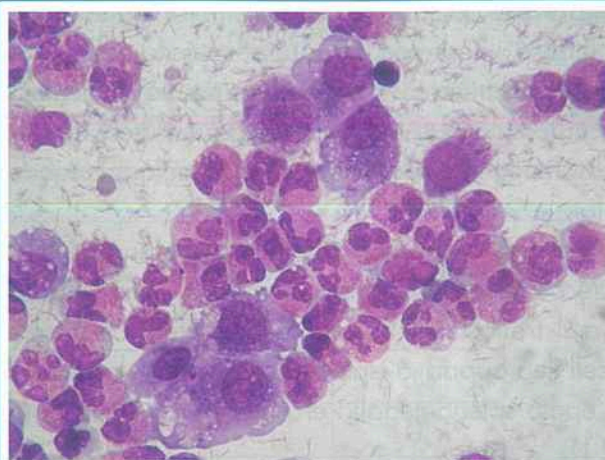


Foto n 8: essudato peritoneale eosinofilo. (MGG x1000). Caso n 4

al Blu di Toluidina.



Foto n 9 e n 10: neoformazione addominale all'esame ecografico. Caso n 4

L'ecografia addominale oltre che evidenziare linfadenomegalia e presenza di liquido endocavitario, confermava l'esistenza di una neoformazione di 5 cm di diametro, circoscritta e con una superficie irregolare, bernoccoluta. Nella





sua parte dorsale, prendeva stretto contatto con un'ansa intestinale, a parete ispessita, che sembrava, almeno in parte, essere avvolta dalla massa stessa. Questa presentava una ecogenicità disomogenea ed una propria vascolarizzazione (foto n 9 e n 10).

All'esame anatomopatologico, il linfonodo ileo-cieco-colico, aumentato di volume, imprigionava il tratto intestinale corrispondente. La parete dell'ileo appariva ispessita e di aspetto lardaceo. L'epato-splenomegalia era di modica entità (foto 11).

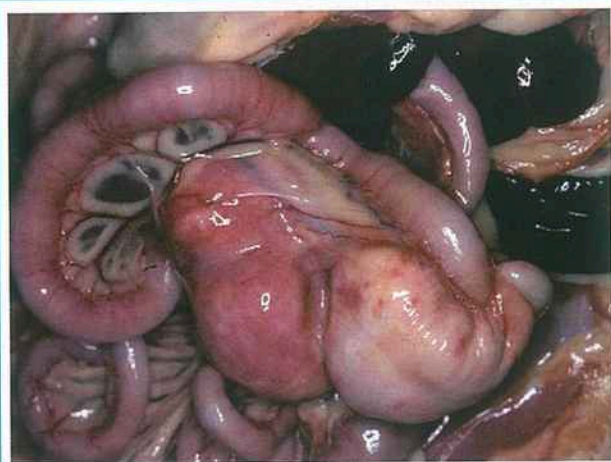


Foto n 11: neof ormazione addominale in sede necroscopica. Caso n 4

L'esame istologico ha evidenziato quanto fosse massiva l'infiltrazione neoplastica, proprio a livello dei linfonodi meseraici, con scomparsa dei follicoli linfatici corticali e dei seni sottocapsulari. Anche la parete intestinale era coinvolta dal processo neoplastico, nonché la polpa rossa e gli spazi periportal epatici.

Le cellule tumorali presentavano caratteri di anaplasia più spiccati, rispetto a quelli osservati nei soggetti precedenti; il citoplasma, scarso e leggermente basofilo, conteneva pochi granuli polimorfi, debolmente metacromatici e P.A.S. positivi. Il nucleo mostrava evidenti nucleoli (foto n 12). Negli stessi campioni istologici, notevole era l'infiltrazione da parte di granulociti eosinofili.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONE

Le proliferazioni mastocellulari rappresentano, fra i disordini ematologici riscontrabili nel gatto,

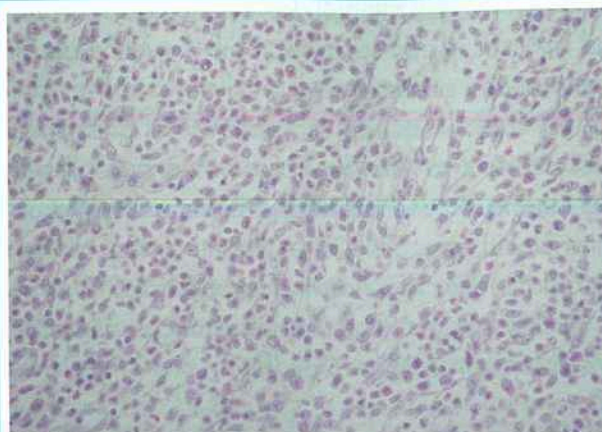


Foto n 12: esame istologico della neof ormazione addominale. (Ematossilina -Eosina x 40). Caso n 4

solo una piccola percentuale. La mastocitosi sistemica (indicata dagli autori di lingua inglese con la sigla SMCD ovvero systemic mast cell diseases) è scarsamente documentata nel gatto, a differenza di ciò che si osserva in campo umano (Fritz et al., 2004). Questa patologia neoplastica oltre a determinare il coinvolgimento di alcuni o di tutti gli organi ematopoietici (sangue, midollo osseo, fegato e milza), può anche comportare l'interessamento di altri, quali intestino, rene ecc. (Antognoni et al., 2003; Fritz et al., 2004; Morgan, 1998).

La rarità della malattia nella specie felina, ha comportato, per alcuni ricercatori (Fritz et al., 2004; Howl e Peterson, 1995) l'emissione di una diagnosi successivamente riconsiderata alla luce di nuove acquisizioni diagnostiche.

A tale proposito merita una particolare attenzione la forma viscerale intestinale che, tra i tumori primari dell'intestino nel gatto occupa il terzo posto dopo il linfoma e l'adenocarcinoma. (Bortnowski e Rosental, 1992; Jubb et al., 1993). La difficoltà diagnostica relativa a tale forma riconosce, secondo Howl e Peterson, (1995) e Fritz et al., (2004), diversi motivi, primi fra questi il quadro sintomatologico che, soprattutto nella prima fase della malattia è prevalentemente di natura gastroenterica; inoltre, gli stessi autori sottolineano come il riscontro di numerosi granulociti eosinofili sia a livello ematico che su sezioni istologiche, potrebbe indirizzare verso entità patologiche di altra natura.

Nel quarto soggetto, i rilievi ematologici rappre-



sentati da leucocitosi e marcata eosinofilia nonché l'assenza di mastocitemia, sono in accordo con quelli riportati in altri lavori (Antognoni et al., 2003; Bortnowski e Rosental, 1992; Howl e Peterson, 1995). In merito all'ipereosinofilia, ca-

ratterizzata da elementi cellulari in diverse fasi maturative, si potrebbe sostenere che il richiamo chemiotattico da parte delle cellule mastocitiche giustificerebbe la presenza di un elevato numero di granulociti eosinofili sia nel sangue circolante

| Parametri                | Caso n 1 | Caso n 2 | Caso n 3 | Caso n 4 |
|--------------------------|----------|----------|----------|----------|
| RBC x106/ $\mu$ l        | 4.65     | 3.64     | 4.36     | 7.37     |
| Hct %                    | 18.4     | 17.7     | 21.6     | 33       |
| Hgb g/dl                 | 6.0      | 5.5      | 6,8      | 10,9     |
| MCV f/l                  | 40       | 48.6     | 50       | 44.8     |
| MCH pg                   | 12.9     | 15.1     | 15.7     | 14.8     |
| MCHC %                   | 32.5     | 31.1     | 31.6     | 33.0     |
| WBC x103/ $\mu$ l        | 9.4      | 4.9      | 5.4      | 27.3     |
| Linfociti x103/ $\mu$ l  | 0.564    | 0.245    | 0.54     | 0.546    |
| Monociti x103/ $\mu$ l   | 0.188    | 0.147    | 0.054    | 0.819    |
| Neutrofili x103/ $\mu$ l | 6.486    | 3.920    | 4.32     | 15.561   |
| Eosinofili x103/ $\mu$ l | 0        | 0        | 0.108    | 10.374   |
| Basofili x103/ $\mu$ l   | 0        | 0        | 0        | 0        |
| Mastociti x103/ $\mu$ l  | 2.162    | 0.588    | 0.378    | 0        |
| Piastrine x103/ $\mu$ l  | 36       | 204      | 18       | 209      |
| Glicemia mg/dl           | 88.6     | 114      | 84.3     | 99.7     |
| Urea mg/dl               | 71.7     | 42       | 55.8     | 51.3     |
| Creatinina mg/dl         | 1.6      | 0.58     | 0.98     | 1.7      |
| Proteine totali g/dl     | 5.9      | 7.3      | 6.1      | 7.1      |
| Bil. T. mg/dl            | 0.72     | 0.61     | 0.69     | 0.64     |
| Bil. D. mg/dl            | 0.34     | 0.42     | 0.39     | 0.39     |
| AST UI/l                 | 95.0     | 56       | 42       | 14       |
| ALT UI/l                 | 67       | 87       | 80       | 19       |
| $\gamma$ -GT UI/l        | 1        | 2        | 2        | 1        |
| LDH UI/l                 | 240      | 142      | 209      | 254      |
| ALP UI/l                 | 26       | 45       | 67       | 57       |
| CK UI/l                  | 35       | 17       | 25       | 32       |
| Ca mg/dl                 | 9.3      | 8.71     | 9.5      | 9.7      |
| P mg/dl                  | 5.6      | 5.3      | 4.9      | 4.4      |

Tabella1: risultati delle determinazioni emocromocitometriche ed ematochimiche.





che nel versamento peritoneale, come riferito anche da Bortnowski e Rosental (1992), Fossum et al. (1993), Peaston e Griffey, (1994) e da Plier e McWilliams (2000).

Nei casi 1, 2 e 3, l'imponente splenomegalia e le correlate modificazioni istopatologiche, testimoniano quanto la milza sia particolarmente coinvolta in questa forma tumorale. A tale proposito, diversi studi (Confer e Langloss, 1978; Guerre et al., 1979; Madewell et al., 1983) riportano come la splenectomia, consenta la remissione della sintomatologia. Fritz et al. (2004) consigliano, se le condizioni cliniche del soggetto lo consentono, di sottoporre l'animale, oltre che a splenectomia anche a chemioterapia, in quanto ciò comporterebbe un tempo di sopravvivenza di oltre due anni. Il riscontro di mastociti nel sangue circolante, anche in atteggiamento di eritrofagocitosi, caratterizzano il quadro ematologico dei gatti sopra considerati. Tali rilievi sono in accordo con altri dati bibliografici (Madewell et al., 1983; Fritz et al., 2004) dove peraltro l'eritrofagocitosi, sia da parte dei mastociti circolanti che di quelli splenici, viene considerata importante nel determinismo dell'anemia. È importante ricordare che tali reperti si discostano da quelli osservati nel gatto colpito dalla forma intestinale.

In conclusione si può affermare che il riscontro dei segni clinici, di quelli ematologici nonché dei reperti istopatologici sono stati peculiari e significativi per formulare la diagnosi di mastocitoma viscerale e, in particolare, per differenziare la forma sistemica (casi 1, 2, 3) da quella intestinale (caso 4).

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Antognoni M.T., Spaterna A., Lepri E., Fruganti A. and Laus F., (2003): Characteristic clinical, haematological and Histopathological findings in feline mastocytoma, *Veterinary Research Communication*, 27 Suppl. 1, 727-730
- 2) Bortnowski H.B., Rosental R.C.: Gastrointestinal mast cell tumors and eosinophilia in two cats, *J.A.A.H.A.* (1992) 28, 271-275
- 3) Confer A.W., Langloss J. M. *J.A.V.M.A.* (1978): Long-term of two cats with mastocytosis, 172, 160-161
- 4) Fossum T. W., Wellman M., Relford R. L., Slater M. R. (1993): Eosinophilic pleural or peritoneal effusion in dogs and cats: *J.A.V.M.A.* 14 cases (1986-1992), 11, (1) 1873-1876
- 5) Fritz D., Hopfner C. L., Guilhot-Chrétien J. C. (2004): Systemic mast cell diseases in cats. Retrospective study of seven cases, bone marrow biopsy, comparative, *Revue Méd. Vét.* 155, (7) 362-370
- 6) Guerre R., Millet P., Groulade P. (1979): Systemic mastocytosis in a cat: remission after splenectomy, *J. Smal Anim. Pract.* 20, 769-772
- 7) Howl J. H., Petersen M. G. (1995): Intestinal mast cell tumors in a cat: presentation as eosinophilic enteritis, *J.A.A.H.A.* 31, 457-461
- 8) Jubb K. V. F., Kennedy P., C., Palmer N.: *Pathology of domestic animals* (1985): Academic Press, 3<sup>rd</sup> Ed. 727-729
- 9) Madewell B. R., Gunn C., Gribble D. H. (1983): Mast cell phagocytosis of red blood cells in a cat, *Vet. Pathol.* 20, 638-640
- 10) Morgan R. V., (1998): *Small animal practice*, 3<sup>rd</sup> Ed. W. B. Saunders Company, 369-370
- 11) Moulton J. E. e Harvei J. W.: *Tumors in Domestic Animal* (1990): 3<sup>rd</sup> Ed. California, 295-296
- 12) Nelson R. W., Couto C., G. (2003): *Small animal internal medicine*, 3<sup>rd</sup> Ed. Mosby, 1146-1149
- 13) Peaston A. E., Griffey S., M. (1994): Visceral mast cell tumor with eosinophilia and eosinophilic peritoneal and pleural effusions in a cat, *Aust. Vet. J.* 71, (7) 215-217
- 14) Plier M.L., McWilliams P.S.: *Schalms-Veterinary Hematology* (2000): 5<sup>th</sup> Ed. Lippincott W.W., 747-753
- 15) Weller R.E. (1978): Systemic mastocytosis and mastocytosis in a cat, *Modern Vet. Pract.* (1978), 41-43



## 2ª Parte

*Qualche riflessione:*

*1 – Ricordo persone e ambienti che hanno provocato in me una sensazione di sgradevolezza?*

*2 – Ho provato qualche volta sensazioni sgradevoli in un ambiente sanitario?*

*3 – Questa sensazione l'ho provata anche in una struttura veterinaria?*

La comunicazione non verbale riguarda dal 50% al 70% del flusso informativo.

In questo contesto si inserisce anche il nostro ambiente di lavoro che, nel suo insieme, parla per tanto di noi più delle nostre parole.

Dato per scontato un buon livello professionale, la differenza tra una struttura ed un'altra sta proprio nella struttura stessa, cioè nei messaggi che manda al cliente.

Le caratteristiche edilizie e i requisiti minimi richiesti per le strutture veterinarie sono contemplati nei regolamenti edilizi comunali e nelle normative regionali.

Queste non prevedono però quelle peculiarità gestionali che soltanto la scrupolosità, il buon senso e l'esperienza possono suggerire.

Il primo contatto che avviene con l'utente si ha con l'accesso di questo all'ambiente di lavoro.

Nel rispetto della legislazione vigente, l'insegna e la targa dovranno essere predisposte e posizionate in maniera adeguata a trasmettere le informazioni utili che la clientela cerca.

Le adiacenze e l'eventuale parcheggio saranno tenuti curati e puliti.

Un cartello richiederà gentilmente la collaborazione del cliente nel porre attenzione che gli animali non sporchino e, nel caso lo facciano, di avvisare il personale della struttura che provvederà subito alla pulizia.

Questo ci aiuterà ad avere un buon rapporto con le attività o gli abitanti dell'edificio ove è collocata la nostra sede lavorativa.

Non dimentichiamo che i rumori molesti e la mancanza di igiene sono motivazioni impugnabili dall'amministrazione condominiale che possono portare, se adeguatamente argomentate e testimoniate, anche alla sospensione dell'attività sanitaria.

## LA COMUNICAZIONE IN AMBULATORIO VETERINARIO

Sandro Zucchetto  
Clinica Veterinaria S. Francesco  
S. Donà di Piave (VE)





La sala d'attesa, quando possibile, avrà due aree distinte per cani e per gatti. Gli arredi saranno essenziali, possibilmente ergonomici e comunque facilmente rimovibili per effettuare efficacemente la pulitura.

Saranno a disposizione, in appositi contenitori, cartacei informativi sull'attività professionale svolta ed inoltre sulla prevenzione, alimentazione, igiene e profilassi, norme di comportamento ed altre informazioni utili.

Eventuali poster troveranno collocazione in spazi adeguati sulle pareti e saranno rinnovati spesso, così come le riviste per la lettura. Queste, in particolare, non dovranno datare più di un mese.

La dinamicità ambientale trasmette una sensazione di efficienza.

Il microclima è pure in grado di evocare sensazioni più o meno gradevoli. Una temperatura appropriata e un adeguato ricambio d'aria soccorrono alla percezione di benessere.

Talvolta lo spazio fa difetto, e a questo non si può porre rimedio più di tanto. La razionalità delle disposizioni e soprattutto l'ordine aiuteranno pertanto a sopperire alla mancanza di superficie.

Anche l'illuminazione sarà curata in modo che, naturalmente o artificialmente, sia sempre sufficientemente appropriata.

Un accenno ai colori. Questi dipendono molto dal gusto personale, ma è inevitabile che condizionino l'atmosfera che si otterrà. L'importante è che l'ambiente ispiri una sensazione di calda accoglienza.

Si ribadisce il concetto che la sala d'attesa, oltre che pulita, dovrà essere quindi sempre in ordine. Per ottenere questo, è necessario più volte nel corso della giornata verificare di persona, o delegando il compito agli eventuali ausiliari, che tutto sia a posto.

Lo stesso criterio va applicato alla sala visita.

È una regola aurea, ma ampiamente disattesa, quella di ripulire subito e rimettere al loro posto le strumentazioni adoperate e di ricostituire le scorte dei materiali in via di esaurimento. La spiegazione o giustificazione nel non seguire questo precetto è di solito riferita alla mancanza di tempo... Dimenticando che se ne perde molto di più nel cercare qualcosa che non si trova, ed inoltre

contribuendo allo scadimento della qualità di esecuzione della prestazione, che viene comunque percepito negativamente dall'utenza. Soprattutto in momenti particolari quali, ad esempio, la gestione di una emergenza o l'effettuazione di una eutanasia.

Soprattutto chi lavora senza appuntamento, può ricevere da parte del cliente la richiesta di poter utilizzare i servizi igienici. Sarebbe auspicabile che ci fosse un locale a questo scopo adibito solo al pubblico.

Purtroppo spesso non è così e questo locale talvolta è utilizzato in modo promiscuo: magazzino, camera oscura, ecc. Se non si può fare diversamente è necessario allora avere particolare cura non solo della pulizia, ma ancora una volta dell'ordine.

Non è uno scaffale di scatole o contenitori vari ben impilati a dare sensazioni sgradevoli, ma il disordine, la polvere, le macchie, le ragnatele, gli schizzi, gli asciugamani sporchi: tutto ciò che evoca la sgradevole sensazione di trascuratezza.

Non dimentichiamo che nell'inconscio delle persone di solito le sensazioni evocate dall'ambiente vengono inevitabilmente trasposte sugli individui che vi operano e sulle prestazioni effettuate.

Una particolare attenzione merita il controllo degli odori.

Negli umani l'olfatto non è un senso particolarmente sviluppato, ma nella nostra cultura abbiamo codificato la percezione degli odori in gradevoli o sgradevoli.

Purtroppo per noi, tra questi ultimi ci sono gran parte delle percezioni olfattive che si possono provare in una struttura veterinaria.

Tralasciando le emissioni "classiche" di feci, urine e vomito, altre fonti maleodoranti sono rilevabili in caso di paradontosi, otiti, sacculiti, dermatiti, ascessi...

La rimozione immediata del materiale, il suo allontanamento dal locale e la detersione delle aree contaminate interessate nonché una adeguata ventilazione contribuiscono a ripristinare una accettabile condizione.

Può essere necessario inoltre l'ausilio di presidi igienici quali i deodoranti ambientali, che vanno usati comunque con moderazione.



È ricorrente il richiamo alla pulizia e alla eliminazione degli odori sgradevoli, perchè sono questi i problemi "fisici" più importanti rilevabili in una struttura veterinaria.

Molti di noi non sono naturalmente portati all'organizzazione e, pur bravissimi professionisti, si muovono con qualche difficoltà in un caos gestionale quotidiano.

Questo aspetto viene percepito in modo sfavorevole dall'utente e va a svalutare, per certi versi ingiustamente, la qualità della prestazione.

È opportuno pertanto che, proprio per dare un *valore globale* al nostro lavoro ci sia l'impegno ad ottimizzare le situazioni relazionali che si esplicano anche con i messaggi che vengono trasmessi dall'ambiente operativo.

Quando parliamo di comunicazione e di relazione, compaiono spesso termini quali *percezione* e *sensazione*.

È infatti a livello emotivo che avviene la decodificazione del messaggio informativo, suscitando soddisfazione o insoddisfazione. Quindi, ancora una volta sono le emozioni positive o negative a condizionare il giudizio finale.

Ai clienti farà sicuramente piacere ricevere l'impressione di aver portato i propri animali in un posto pulito ed efficiente.

Non dimentichiamo che la percezione della congruità della parcella che il cliente è tenuto a pagare è riferita non tanto alla cifra in assoluto quanto - a parità di professionalità - alla sommatoria di molti elementi extraprofessionali, quindi anche ambientali, che alla fine possono contribuire a portare o meno alla sensazione di soddisfazione ricercata.

*Alcuni spunti di autovalutazione:*

- 1 - Nel lavoro sono sufficientemente ordinato?
- 2 - Sulla mia scrivania o sui piani di lavoro ci sono documenti o strumentazioni ai quali non metto mano da più di due mesi?
- 3 - Farei entrare una persona alla quale tengo molto nei servizi igienici della mia struttura?
- 4 - I miei clienti sorridono sempre, compatibilmente con le situazioni, quando li congedo?
- 5 - Mi sono mai pervenute, anche indirettamente, osservazioni negative sulla struttura dove opero?

l'ultima  
innovazione  
nella  
micologia  
veterinaria

MARCHIO REGISTRATO

**Triazolico di ultima generazione**

**Specifico per gatti, facile somministrazione**

**Ampio spettro:** testato su **252** specie fungine

**Bassa tossicità**

Prolungata persistenza, **effetto long acting**



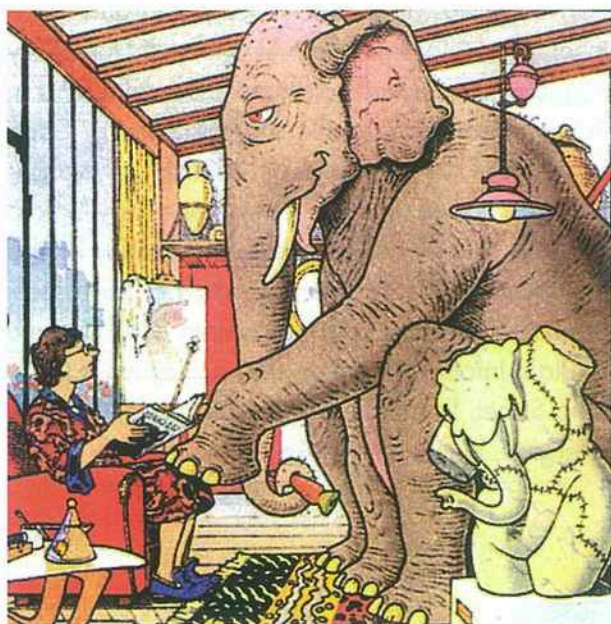
3772005



## IL MIO GATTO È PROPRIO MATTO

Il panorama editoriale è ricco di molte iniziative che vedono il gatto citato in modi diversi. Tra gli scaffali delle librerie potete trovare un esilarante libro illustrato di Gilles Bachelet <<Il mio gatto è proprio matto>> (Il Castoro, pp. 24, € 12,90), premiato al Salon du Livre et de la Presse Jeunesse.

Il testo riporta, con brevi didascalie, una grafica raffinata, volta a raccontare la vita del gatto dell'autore. Un gatto folle, con vezzi e vizi tipici di questo animale; ma il gatto di Gilles ha una caratteristica unica: oltre a essere <<molto grosso, molto dolce e molto matto>>, ha anche la proboscide e le zanne. Difatti Bachelet, come ogni genitore che vede il proprio bambino bellissimo ed intelligentissimo, non riesce a distinguere un gatto da un elefante. Questo amore accecante per il proprio animale lo porta a concludere il suo cartooning con la frase <<qualche giorno fa un amico mi ha regalato un libro sui gatti, ma non sono riuscito a capire esattamente che razza di gatto sia il mio>>.



## DIZIONARIO PRATICO DI TERAPIA CANINA E FELINA

Tra le novità editoriali di questo inizio di primavera merita citare il DIZIONARIO PRATICO DI TERAPIA CANINA E FELINA di Robert Moraillon e Yves Legeay, uscito con i tipi della Masson an Elsevier Company, un volume di oltre 550 pagine. Il "Dizionario" è divenuto negli anni un testo cult della medicina veterinaria europea, un testo fondamentale per la professione medico-veterinaria. Il suo successo è decretato dal raggiungimento della quinta edizione francese e dalla quarta italiana.

L'Opera è cresciuta nel tempo, come sono cresciuti professionalmente anche i suoi numerosi estimatori. I lemmi sono stati ampliati, approfonditi e integrati, arricchiti dal contributo di nuovi prestigiosi autori francesi, sia di estrazione accademica sia libero professionale, che hanno selezionato le patologie di maggior riscontro nella pratica clinica quotidiana degli animali da compagnia. La consultazione è facilitata dall'inserimento di soluzioni iconografiche suppletive (grafici, tabelle, algoritmi). Il curatore dell'opera è il Prof. Fausto Quintavalla che per la quarta volta ha tradotto il testo rendendolo "palatabile" alla classe medico-veterinaria italiana, inserendo dei chiari riferimenti utili a chi opera sul nostro territorio, come per esempio i richiami legislativi ed i nomi commerciali dei farmaci disponibili in Italia.

Il testo si presenta come una enciclopedia organizzata per voci ordinate alfabeticamente ma dalle dimensioni contenute. In maniera semplice, estremamente ricca e completa nei contenuti e nello stesso tempo facile da consultare, mette in risalto l'aspetto clinico-sintomatologico, le più moderne manualità diagnostiche e terapeutiche, scremando ciò che è secondario ed effimero. Di particolare utilità pratica è la lunga tabella, posta alla fine del volume, dove sono elencati i principi attivi in commercio, con i relativi nome commerciale, dosaggio e vie di somministrazione, sia per il cane sia per il gatto.

Un libro informativo e formativo adatto al veterinario pratico, "generico" come da alcuni viene





denominato, e allo specialista. Uno strumento in più, insostituibile, nell'esercizio dell'arte veterinaria.



## VIAGGIARE CON GLI ANIMALI DA COMPAGNIA AL SEGUITO

Per chi possiede un pet l'avvicinarsi delle vacanze, sia estive sia invernali, può diventare un problema. La questione, come un boomerang, spesso si ripercuote anche sul Medico Veterinario in quanto chiamato in causa per fornire consigli non solo per quesiti sanitari ma anche per motivi logistici. Evolution Travel, agenzia viaggi on line, ha pensato alla soluzione ideale: <<Cani in viaggio>>, il portale dedicato a tutti coloro che vogliono prenotare la propria vacanza in una struttura che possa ospitare anche i cani e/o gatti. Il sito presenta un'accurata selezione di differenti tipologie di strutture (hotel, agriturismo, bed & breakfast, case vacanze) situate in tutta Italia. Per informazioni consultare il sito [www.evolutiontravel.it](http://www.evolutiontravel.it).

## GATTAIOLA ELETTRONICA

Chi possiede gatti liberi di uscire all'esterno sa bene che quanto ci si stanca ad aprire e chiudere la porta ai gatti che insistentemente cercano di entrare in casa, specialmente se non si è installato la porticina per paura che in casa entrino altri mici o altri animali. Ora è disponibile sul mercato una gattaiola elettronica che si apre solo con una piastrina magnetica (costa 72 euro) che deve essere appesa al collare del proprio gatto. Se poi ci si assenta per pochi giorni e non si sa a chi affidare il gatto sono disponibili delle mangiatoie per gatti automatiche (Cat mate C50) che si basano sullo stesso principio della piastrina magnetica. Per avere ulteriori notizie consultare il sito [www.recordit.com](http://www.recordit.com)

## IL GATTO HUMPHREY

A marzo è deceduto, all'età di 18 anni, il gatto Humphrey, il felino del numero 10 di Downing Street. La notizia la riprendiamo da Panorama del 30/3/2006 nella rubrica "La cerimonia degli addii" a firma di Elisabetta Burba.

Il gatto Humphrey è stato il felino più importante della vita politica britannica, superando, riporta l'estensore dell'articolo, perfino il gatto di Dick Whittington, l'antenato del Gatto con gli Stivali che nel 1300 aiutò Richard Whittington a diventare sindaco di Londra per ben tre volte.

Arrivato a Downing Street ai tempi Margaret Thatcher, era stato battezzato in onore di Humphrey Appleby, machiavellico funzionario della sit-com *Yes, minister*. Grazie alla sua posizione di Capo eliminatopi del Consiglio dei Ministri, aveva goduto di un punto di osservazione privilegiato durante la c.d. rivoluzione thatcheriana, la sua parabola politica era proseguita nei burrascosi anni di John Major era tramontata con l'avvento di Blair. Infatti sei mesi dopo il suo arrivo a Downing Street, la moglie Cherie, riferendo di essere allergica, lo cacciò di casa.



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

## INDIVIDUAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI STIPITI DI CORONAVIRUS DA GATTI CON ENTERITE

Sintesi della tesi di Laurea di Alba Maria Pesarese  
Anno Accademico 2001-2002  
Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali  
Facoltà di Medicina Veterinaria di Bari  
Relatore: Prof.ssa Annamaria Pratelli

Il coronavirus felino (FCoV), appartenente alla famiglia delle *Coronaviridae*, è un virus di grandi dimensioni, provvisto di envelope da cui si dipartono caratteristiche proiezioni peduncolate con terminazione sferica che conferiscono al virus l'aspetto di una corona. In base alle caratteristiche antigeniche e all'analisi filogenetica delle sequenze delle diverse specie di coronavirus, è possibile distinguere tre gruppi antigenici. FCoV appartiene al gruppo I che include anche i due genotipi del coronavirus del cane (CCoV) (Pratelli et al., in press), i coronavirus del maiale (il virus della gastroenterite trasmissibile, TGEV, il virus della diarrea epidemica, PEDV, e il virus respiratorio, PRCoV) e il coronavirus dell'uomo, HCoV-229E. È stato dimostrato che è possibile la trasmissione interspecie tra i virus appartenenti allo stesso gruppo antigenico, virus che infatti vengono considerati come mutazioni ospite-specifiche di uno stesso virus (Horzinek et al., 1982). I coronavirus sono virus ad RNA monocatenario a valenza positiva che codifica per una serie di proteine strutturali e non di diversa importanza e funzione. Le proteine strutturali più importanti sono: la glicoproteina S, che presiede a numerose funzioni tra cui il riconoscimento recettoriale e la stimolazione della risposta immunitaria; la proteina M, quasi interamente integrata nell'envelope virale, indispensabile per la gemmazione del virus dalla cellula infetta e per la formazione dell'envelope; e la nucleoproteina N. I coronavirus sono caratterizzati da un meccanismo di replicazione unico con un numero elevato di ricombinazioni e mutazioni ad ogni ciclo replicativo, che si traduce nella generazione di nuovi tipi e subtipi virali. Nell'ambito dei coronavirus felini ad esempio si possono distinguere due sierotipi, FCoV tipo I e FCoV tipo II, sulla base delle correlazioni sierologiche e genomiche con CCoV. Test di neutralizzazione *in vitro* hanno infatti dimostrato come gli anticorpi specifici per CCoV sono in grado di neutralizzare FCoV tipo II e solo parzialmente FCoV tipo I (Rottier, 1999). L'analisi delle sequenze di questi virus ha chiarito che FCoV tipo II è il risultato di una ricombinazione genetica, che ha avuto luogo prevalentemente a livello del gene che codifica per la proteina S, tra





CCoV e FCoV tipo I (Herrewegh et al., 1998).

FCoVs sono virus con tropismo prettamente enterico e viene quindi diffuso nell'ambiente dalle feci dei gatti infetti. Dopo infezione attraverso la via oro-nasale, il virus raggiunge l'intestino dove replica nelle cellule epiteliali dell'apice dei villi del duodeno fino al cieco, dove causa disepitelizzazione della mucosa e accorciamento dei villi. Clinicamente si osserva diarrea per fenomeni di malassorbimento e deficienza di enzimi digestivi, che tuttavia perdura per un breve periodo ed è seguita dalla remissione della sintomatologia. La guarigione clinica non è tuttavia seguita dalla sterilizzazione dell'infezione. I gatti infatti continuano ad albergare il virus e ad eliminarlo con le feci in modo continuo o intermittente per periodi lunghi di mesi o addirittura anni (Pedersen, 1995; Herrewegh et al., 1997).

In questi soggetti clinicamente sani ma infetti, come conseguenza degli errori che si verificano durante i cicli replicativi del virus, si può verificare un'importante mutazione che trasforma il virus in uno stipite altamente virulento. Questo nuovo virus è in grado di attraversare la barriera intestinale, raggiungere il torrente circolatorio e, attraverso l'infezione dei monociti/macrofagi, dare luogo ad un'infezione sistemica molto grave ad esito letale, la peritonite infettiva (De Groot and Horzinek, 1995).

Lo scopo della tesi è stato quello identificare e caratterizzare, attraverso esami virologici e biomolecolari, gli stipiti di coronavirus dalle feci di gatti clinicamente sani e con sintomatologia enterica nella provincia di Bari e di Taranto. Sono stati raccolti un totale di 53 campioni di feci durante un periodo di quattro mesi, da gatti che vivevano in colonia (47 campioni) e in ambienti domestici (6 campioni). Trentacinque soggetti avevano un'età inferiore ad 1 anno, 18 soggetti avevano un'età compresa tra 1 e 3 anni e solo un gatto aveva un'età superiore ai tre anni. I gatti con sintomatologia clinica riferibile ad un'enterite erano 6, mentre i restanti animali erano clinicamente sani. Un gatto era positivo per la leucemia felina (FeLV). Su tutti i campioni è stata effettuata la ricerca per parvovirus del gatto (FPV) e del cane (CPV2) utilizzando il test di emoagglutinazione

(EA) in presenza di globuli rossi di suino all'1%. Ogni campione è stato testato in doppio utilizzando una soluzione salina tamponata (PBS), pH 6, per la identificazione di FPV, e PBS pH 7.2 per la evidenziazione di CPV2. Le prove di isolamento di FCoV sono state effettuate a partire da tutti i campioni sulla linea cellulare di adenocarcinoma mammario di cagna, A72, e sulla linea cellulare di feto di gatto, fcwf-4. Ogni campione è stato passato su cellule tre volte ed è stato considerato negativo in assenza di effetto citopatico fino al terzo passaggio seriale. Su tutti i passaggi seriali è stato parallelamente eseguito il test di immunofluorescenza indiretta con anticorpi monoclonali specifici per coronavirus. Per le analisi biomolecolari sono stati eseguiti alcuni test RT-PCR che permettono di riconoscere e caratterizzare i due sierotipi di FCoV e i due genotipi di CCoV. La sequenza e la posizione dei primers utilizzati sono riportati nella tabella 1. Dopo una retrotrascrizione con primers random, su tutti i campioni è stata eseguita una prima PCR di screening, che amplifica un frammento del gene che codifica per la proteina M di CCoV, in grado di riconoscere indistintamente i coronavirus del gatto e quelli del cane (Pratelli et al., 1999).

I campioni risultati positivi sono stati successivamente testati con altre coppie di primers per la caratterizzazione dello stipite virale (Pratelli et al., 2002; Pratelli et al., 2003; Pratelli et al., in press). Per la identificazione dei ceppi FCoV tipo I, la PCR è stata eseguita con una coppia di primers selezionata in una regione molto conservata all'estremità 3' del gene che codifica per la proteina S di FCoV tipo I. I ceppi CCoV tipo I sono stati ricercati attraverso l'impiego di due distinte coppie di primers, selezionate in regioni molto conservate, rispettivamente del gene M e del gene S di CCoV tipo I. Per la identificazione di CCoV tipo II è stata utilizzata un'altra coppia di primers selezionata a livello del gene M sulla base dei *mismatch* tra i due genotipi di CCoV. Gli amplificati della prima PCR di screening dei campioni risultati positivi, previa purificazione, sono stati sottoposti a sequenziamento diretto e analisi delle sequenze utilizzando gli strumenti di analisi dell'NCBI (*National Center for Biotechnologies*



and Information) e dell'EMBL (European Molecular Biology Laboratories). Le sequenze degli stipiti identificati e sequenziati sono stati allineati con le sequenze degli stipiti di riferimento di CCoV e FCoV, mediante programma CLUSTAL W (Thompson et al., 1994).

Tutti i campioni esaminati mediante test EA sono risultati negativi sia per FPV che per CPV2. Anche le prove di isolamento per coronavirus su colture cellulari di cane e di gatto hanno avuto esito negativo. Il test PCR di screening per la identificazione dei coronavirus è risultato positivo solo per un campione, ceppo 44/03, prelevato da un gatto maschio di 9 mesi che viveva in una colonia felina e con anamnesi di diarrea intermittente. Testato successivamente con le altre coppie di primers per la caratterizzazione, è stato possibile identificarlo come FCoV tipo II. L'analisi di sequenza e il confronto con gli stipiti di riferimento hanno permesso di confermare il risultato.

L'infezione da FCoV è generalmente asintomatica o associata a lieve diarrea nei giovani cui segue sieroconversione con la produzione di anticorpi neutralizzanti. Le indagini epidemiologiche condotte negli Stati Uniti hanno dimostrato che il virus è ampiamente diffuso tra i felini grazie anche alla sua lunga persistenza nell'intestino dei gatti infetti che garantisce una continua escrezione e diffusione di virus nell'ambiente (Herrewegh et al., 1997).

Queste osservazioni, tra l'altro, fanno ritenere che l'eradicazione di FCoV, una volta penetrato in un ambiente, sia alquanto difficile se non impossibile. Essendo nota la possibile trasmissione interspecie di CCoV e FCoV a causa delle strette correlazioni esistenti tra virus dello stesso gruppo antigenico, la situazione epidemiologica appare

alquanto più complessa dal momento che anche CCoV circola ampiamente tra i cani, così come dimostrato da indagini condotte in Italia e in altri Paesi (Pratelli et al., 2000). Ricordiamo a questo riguardo che FCoV tipo II si è originato in seguito ad un processo di ricombinazione tra FCoV tipo I e CCoV, anche se non è chiaramente nota la specie animale, cane o gatto, nella quale il processo abbia avuto luogo (Herrewegh et al., 1998). Alla luce di queste osservazioni, i risultati della presente indagine preliminare, sono stati inaspettati. Prima di tutto la percentuale di positività è stata alquanto modesta dal momento che solo un campione su i 53 analizzati è risultato positivo, e solo in PCR. Questo dato è in evidente contrasto con quanto detto in precedenza sulla diffusione dei coronavirus tra le popolazioni feline e canine. Il ceppo identificato inoltre è stato caratterizzato come FCoV tipo II e questo contrasta con i dati riportati da altri ricercatori in altri Paesi del mondo che invece segnalano una maggior prevalenza di FCoV tipo I rispetto al tipo II (Rottier, 1999). FCoV tipo II inoltre si adatta alla replicazione *in vitro* senza grandi difficoltà rispetto al tipo I che si isola con difficoltà nelle colture cellulari (Pedersen et al., 1984). Le prove di isolamento del ceppo 43/03 invece hanno dato esito costantemente negativo. Tutte queste osservazioni, anche se basate su un numero di campioni estremamente ridotto, inducono a ritenere che la patologia da coronavirus, e in particolare l'infezione da FCOVs, richieda ancora ulteriori e più approfonditi studi per meglio chiarire alcuni aspetti ancora poco noti.

#### Legenda:

\*Pratelli et al., 1999.

°Pratelli et al., 2002.

| Primer             | Gene | Sequenza 5' to 3'          | Senso | Posizione  | Amplificato |
|--------------------|------|----------------------------|-------|------------|-------------|
| CCoV1*             | M    | TCCAGATATGTAATGTTCCG       | +     | 6729-6748° | 409bp       |
| CCoV2*             |      | TCTGTTGAGTAATCACCAGCT      | -     | 7138-7118° |             |
| CCoV1a°            | M    | GTGCTTCCTCTGAAGGTACA       | +     | 6900-6920° | 239bp       |
| CCoV2*             |      | TCTGTTGAGTAATCACCAGCT      | -     | 7138-7118° |             |
| UCD1F <sup>a</sup> | S    | CAGAATGGGAAGAAGTGACG       | +     | 3704-3723° | 502bp       |
| UCD1R <sup>a</sup> |      | CACACATACCAAGGCCAATTT      | -     | 4185-4205° |             |
| ELMO1F             | S    | CAAGTTGACCGTCTTATCTGGTAG   | +     | 3469-3494° | 346bp       |
| ELMO1R             |      | TCATATACGTACCATATAGCTGAAGA | -     | 3788-3814° |             |
| ANTO 1F            | M    | TCTATTGGCATCTTGCAAAAC      | +     | 6539-6560° | 382bp       |
| ANTO 1R            |      | CACACCTCAAGAGGAAGCA        | -     | 6901-6920° |             |

Tabella 1. Primers utilizzati per il test PCR.

<sup>a</sup> La posizione dei primers è riferita alla sequenza di CCoV ceppo Insavc-1 (numero di accesso nel database: D13096).

<sup>b</sup> La posizione dei primers è riferita alla sequenza di FCoV tipo I ceppo UCD1 (numero di accesso nel database: AB088222).





## Le aziende informano

### Azione prebiotica + azione probiotica per un corretto funzionamento intestinale

I *Fruttoligosaccaridi* (FOS) e i *Mannanoligosaccaridi* (MOS), catene oligosaccaridiche formate da molecole di glucosio e fruttosio, rappresentano un eccellente substrato per la crescita e lo sviluppo dei batteri saprofiti intestinali. I FOS in particolare mostrano un notevole potere bifidogenico e un'elevata capacità di sintesi di acido butirrico, indispensabile al corretto funzionamento delle cellule intestinali. Questi oligosaccaridi resistono alla digestione gastrica e pancreatica e rappresentano un supporto nutritivo selettivo per i microorganismi saprofiti, a scapito dei patogeni, incrementando in tal modo l'efficacia dei probiotici contenuti in **FLORENTERO**.

In seguito alla fermentazione intestinale dei FOS e MOS si producono acidi grassi a corta catena e acido lattico, che inducono un abbassamento del pH nel grosso intestino con conseguente inibizione allo sviluppo dei batteri patogeni, associata ad una rapida diminuzione della quantità di tossine da essi prodotte.

L'azione prebiotica svolta dai FOS e dai MOS consente una rapidissima attivazione e moltiplicazione dei fattori probiotici introdotti con **FLORENTERO**, fungendo inoltre da indispensabile supporto alla crescita e replicazione dei saprofiti intestinali nelle fasi successive del trattamento. In tal modo l'efficacia del prodotto si manifesta con la sua attività di riequilibrio sia nella fase iniziale della somministrazione sia in quelle successive, così da poter essere efficacemente utilizzato in tutti gli stadi del disturbo gastro-enterico.

I microorganismi vivi contenuti in **FLORENTERO** sono microincapsulati secondo moderne tecnologie brevettate, e sono pertanto in grado di raggiungere inalterati il lume intestinale grazie alla loro elevata stabilità e resistenza ai succhi gastrici. Sono inoltre assai più stabili, rispetto ai ceppi non protetti, alle abituali condizioni di produzione e conservazione (temperatura, umidità, etc).

Il *Lactobacillus sporogenes*, (*Bacillus coagulans*), rappresenta il **probiotico ideale** perché, a differenza di molti altri fermenti lattici, possiede alcune caratteristiche peculiari che lo contraddistinguono: è stabile a temperatura ed umidità elevate, è naturalmente microincapsulato sotto forma di spora, è estremamente resistente al calore, agli acidi gastrici ed alle secrezioni biliari, ha una spiccata capacità di proliferazione e fissazione nell'ambiente intestinale, durante la fermentazione produce solo acido L-lattico, metabolita benefico nei confronti dei batteri saprofiti e inibitore dei batteri patogeni. In seguito ad ingestione orale, le spore sono attivate dai succhi gastrici e germinano nel duodeno dove iniziano a moltiplicarsi rapidamente. Questo processo normalmente inizia da 2 a 4 ore dopo l'ingestione. La produzione di acido lattico abbassa il pH del contenuto intestinale (4,0-5,0), prevenendo così la crescita dei patogeni gram - che richiedono un pH più elevato (6,0-7,0). In aggiunta *Lactobacillus sporogenes*, essendo semi-residente a livello intestinale, viene escreto lentamente dall'organismo (fino a 7 giorni dopo l'interruzione del trattamento), proseguendo così la sua attività più a lungo di molti altri *Lactobacilli*.

*Enterococcus faecium* e *Lactobacillus acidophilus* hanno mostrato evidenti capacità di promuovere il buon funzionamento intestinale e di incrementare la funzione immunitaria nei cani giovani. Il *Lactobacillus acidophilus* unitamente ai suoi prodotti metabolici (acido lattico e batteriocine in particolare) inibisce l'adesività dei patogeni (virus e batteri) ai villi intestinali.

In caso di trattamenti antibiotici più o meno prolungati la popolazione di *Lactobacillus acidophilus* normalmente presente a livello intestinale subisce drastiche riduzioni e rimane a livelli molto bassi per tutta la durata del trattamento farmacologico; è stato sperimentalmente dimostrato che la contemporanea presenza di *Enterococcus faecium* protegge significativamente la popolazione di *Lactobacillus acidophilus* dall'azione negativa degli antibiotici, consentendole così di svolgere le sue funzioni benefiche anche in concomitanza a questi trattamenti.

Più in generale i *Lactobacilli*, nel corso della loro proliferazione a livello gastro-enterico, producono metaboliti ad azione antibiotico-simile definiti **batteriocine** che sopprimono la crescita dei batteri putrefattivi. Inoltre essi controllano la produzione di ammoniaca, di amine tossiche, fenoli e idrogeno solforato, condizione metabolica associata a elevati livelli ematici di ammoniaca, ad alterata funzionalità epatica e a forme di intossicazione intestinale.

L'elevata appetibilità del prodotto ne consente una comoda somministrazione anche ai soggetti più difficili.





## CARATTERIZZAZIONE GENOMICA DI STIPITI DI CORONAVIRUS FELINO

Sintesi della tesi di Laurea di Lucia Maldera  
Anno Accademico 2002-2003  
Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali  
Facoltà di Medicina Veterinaria di Bari  
Relatore: Prof.ssa Annamaria Pratelli

Il coronavirus felino (FCoV) è un virus ubiquitario nella popolazione felina ed è responsabile di un'enterite subclinica soprattutto negli animali giovani. I coronavirus possiedono un ampio genoma e replicano attraverso un meccanismo peculiare che esita in un'elevata frequenza di processi di ricombinazione e mutazione per errori di lettura della polimerasi, generando una grande quantità di variazioni genetiche nella progenie virale. Le proteine più importanti del virus sono la proteina S, che presiede a molteplici funzioni biologiche del virus, la proteina transmembranaria M, indispensabile per la gemmazione del virus dopo la replicazione nella cellula infetta, e la nucleoproteina N. Analisi molecolari e test di neutralizzazione *in vitro* utilizzando sieri di gatto specifici e anticorpi monoclonali diretti verso la proteina S, hanno permesso di identificare e distinguere due sierotipi di FCoV: il sierotipo I, il precursore dei coronavirus felini, e il sierotipo II, originatosi in seguito ad un processo di ricombinazione tra FCoV tipo I e il coronavirus del cane (CCoV) (Herrewegh et al., 1998). I coronavirus del gatto sono inclusi nel gruppo antigenico I della grande famiglia delle *Coronaviridae*, che include anche il coronavirus dell'uomo HCoV-229E, tre coronavirus del maiale (il virus della gastroenterite TGEV, il virus respiratorio PRCoV e il virus della diarrea virale PEDV) e i due genotipi di CCoV, tipo I e tipo II, strettamente correlati con FCoVs. CCoV tipo I è un nuovo genotipo di CCoV recentemente identificato nelle feci di cuccioli con diarrea, mentre CCoV tipo II è lo stipite classico. L'analisi della sequenza del gene che codifica per la proteina S del nuovo genotipo di CCoV, ha messo in evidenza una più stretta correlazione con FCoV tipo I (identità aminoacidica del 74-75%) rispetto a CCoV tipo II e FCoV tipo II (identità aminoacidica del 44%) (Pratelli et al., 2003).

FCoVs sono virus ampiamente diffusi nella popolazione felina e le feci dei gatti infetti rappresentano la principale forma di contagio. Dopo la penetrazione attraverso la via oronasale, il virus supera la barriera gastrica e invade le cellule apicali dei villi della porzione caudale del duodeno fino al cieco (Pedersen et al., 1984). A livello intestinale causa disepitelizzazione della mucosa ed





accorciamento dei villi con conseguenti fenomeni di malassorbimento e diarrea. Clinicamente l'enterite evolve in forma lieve caratterizzata da vomito transitorio e diarrea soprattutto nei giovani. Tuttavia, superata la forma clinica dell'infezione, il gatto continua ad albergare il virus in forma asintomatica ed ad eliminarlo con le feci in modo continuo o intermittente per mesi o anni (Pedersen, 1995; Herrewegh et al., 1997). In questi gatti che albergano il virus, durante i molteplici cicli replicativi è possibile che si verifichi un'importante mutazione del genoma del virus responsabile di un radicale cambio di virulenza. Il virus acquisisce così la capacità di superare la barriera intestinale, infetta i monociti/macrofagi e raggiunge il letto vascolare con conseguente diffusione sistemica e sviluppo della peritonite infettiva felina, una grave patologia sistemica immuno-mediata ad esito letale (De Groot and Horzinek, 1995). Essendo nota la trasmissione interspecie di FCoV e CCoV in conseguenza della stretta correlazione esistente tra i virus, lo scopo della tesi è stato quello di individuare e caratterizzare stipiti di coronavirus da campioni di feci di gatti con e senza sintomatologia enterica raccolti nella provincia di Bari. Sono stati prelevati 80 campioni da gatti di età variabile da pochi mesi a due anni, di cui 44 presentavano sintomi di enterite. In particolare, 40 campioni provenivano da gatti che

vivevano in ambienti domestici e 40 campioni da gatti che vivevano in colonie più o meno affollate. Per l'identificazione del coronavirus nelle feci dei gatti, tutti i campioni sono stati sia inoculati su colture cellulari di cane (A72) e di gatto (fcwf-4) per tentare l'isolamento virale, sia sottoposti a test RT-PCR. Per quanto riguarda l'isolamento sulle colture cellulari, ogni campione è stato considerato negativo se, dopo tre passaggi seriali, non è stato osservato l'effetto citopatico del virus e il test di immunofluorescenza con anticorpi monoclonali specifici per coronavirus, ha dato costantemente esito negativo. Per la identificazione dell'RNA virale nei campioni di feci, è stato effettuato un test RT-PCR, la cui sequenza target è rappresentata un frammento del gene che codifica per la proteina transmembranaria M del coronavirus, in grado di amplificare indistintamente sia i coronavirus felini che quelli di cane (Pratelli et al., 1999). I campioni risultati positivi a questo preliminare test sono stati successivamente sottoposti ad un test RT-PCR differenziale utilizzando altre coppie di primers in grado di caratterizzare e differenziare lo stipite virale (Pratelli et al., 2004). Dopo una retrotrascrizione con primers random, per l'amplificazione di FCoV tipo I è stata utilizzata una coppia di primers selezionata in una regione molto conservata all'estremità 3' del gene che codifica per la proteina S di FCoV

| Primers            | Gene | Sequenza 5' to 3'       | Senso | Posizione              | Amplificato |
|--------------------|------|-------------------------|-------|------------------------|-------------|
| CCoV1*             | M    | TCCAGATATGTAATGTCGG     | +     | 6729-6748 <sup>a</sup> | 409bp       |
| CCoV2*             |      | TCTGTTGAGTAATCACCAGCT   | -     | 7138-7118 <sup>a</sup> |             |
| UCD1F <sup>^</sup> | S    | CAGAATGGGAAGAAGTGACG    | +     | 3704-3723 <sup>b</sup> | 502bp       |
| UCD1R <sup>^</sup> |      | CACACATACCAAGGCCATTTT   | -     | 4185-4205 <sup>b</sup> |             |
| EL1F               | S    | CAAGTTGACCGTCTTACTGCTAG | +     | 2611-2636 <sup>b</sup> | 346bp       |
| EL1R               |      | TGCATACGTGTCATTAACACAA  | -     | 2930-2956 <sup>b</sup> |             |
| S5                 | S    | TGCATTGTGTCTCAGACTT     | +     | 3991-4010 <sup>a</sup> | 694bp       |
| S6                 |      | CCAAGGCCATTTACATAAG     | -     | 4665-4684 <sup>a</sup> |             |

**Tabella 1.** Sequenza e posizione dei primers utilizzati nel presente studio.

Legenda:

\*Pratelli et al., 1999

<sup>^</sup>Pratelli et al., 2003

<sup>a</sup> La posizione dei primers è riferita alla sequenza di CCoV tipo II ceppo di riferimento Insavc-1 (numero di accesso nel database: D13096).

<sup>b</sup> La posizione dei primers è riferita alla sequenza di CCoV tipo I ceppo di riferimento Elmo/02 (numero di accesso nel database: AY170345).



tipo I. Per l'identificazione di CCoV tipo I è stata invece selezionata una coppia di primers in una regione molto conservata del gene S di CCoV tipo I, ceppo di riferimento Elmo/02. Una coppia di primers, selezionata sulla base dei *mismatch* a livello del gene S tra FCoV tipo II, CCoV tipo I e tipo II, è stata utilizzata per l'identificazione di FCoV tipo II e CCoV tipo II (Tabella 1).

Gli amplificati PCR dei campioni risultati positivi, previa purificazione, sono stati sottoposti a sequenziamento diretto e analisi delle sequenze utilizzando gli strumenti di analisi dell'NCBI (*National Center for Biotechnologies and Information*) e dell'EMBL (*European Molecular Biology Laboratories*).

L'allineamento delle sequenze degli stipiti identificati e sequenziati è stato eseguito mediante programma CLUSTAL W (Thompson et al., 1994).

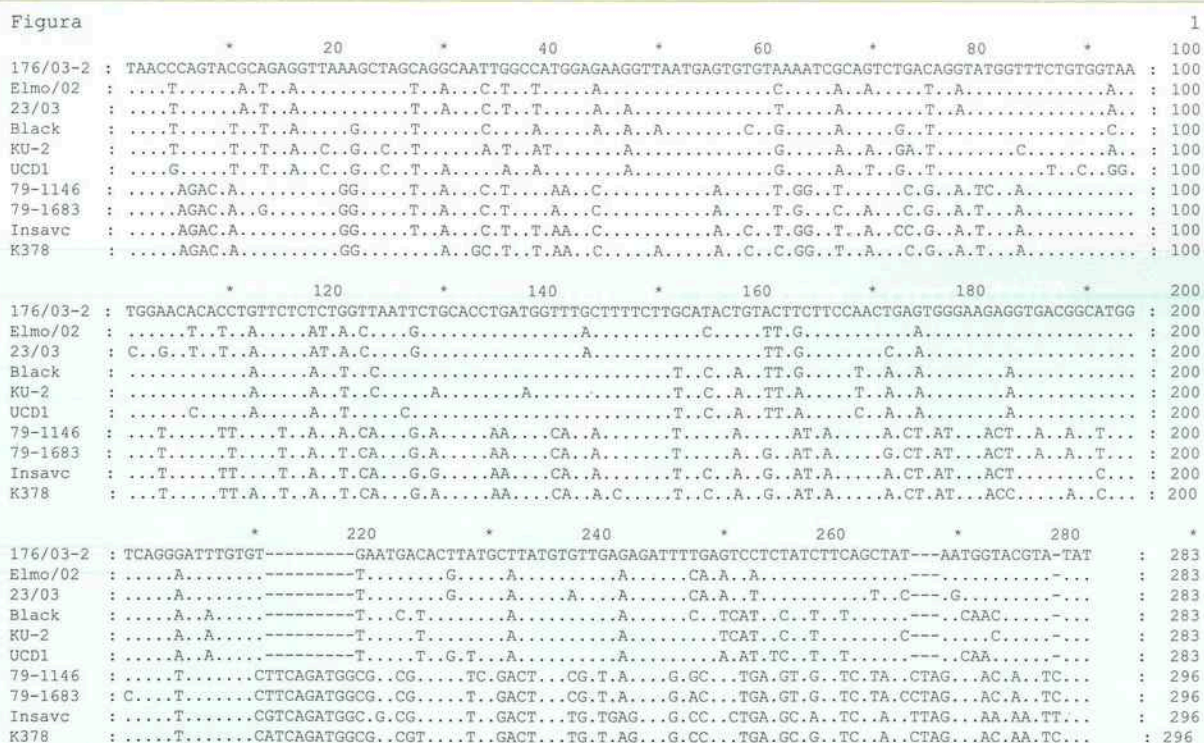
| Campioni | Campioni positivi |        |        |         |
|----------|-------------------|--------|--------|---------|
|          | Totale            | FCoV I | CCoV I | FCoV II |
| 80       | 15                | 14     | 1      | 0       |

**Tabella 2.** Risultati della caratterizzazione mediante PCR dei campioni testati.

Le prove di isolamento per FCoVs su colture cellulari hanno dato esito negativo per tutti i campioni esaminati. Il test RT-PCR in grado di svelare sia i coronavirus felini che i coronavirus del cane è risultato positivo per 15 degli 80 campioni di feci testati. Sottoposti a PCR differenziali per la identificazione del ceppo, 14 campioni sono risultati FCoV tipo I, mentre solo un campione (176/03-2) è stato amplificato dalla coppia di primers in grado di svelare il virus CCoV tipo I. Nessun campione è stato caratterizzato come FCoV tipo II e CCoV tipo II (Tabella 2).

L'analisi di sequenza dei 14 campioni identificati come FCoV tipo I, ha confermato la stretta identità di questi con i ceppi FCoV tipo I di riferimento (UCD-1, Black, KU-2). L'analisi di sequenza del campione 176/03-2, caratterizzato come CCoV tipo I, ha evidenziato un'elevata identità nucleotidica e aminoacidica con il ceppo CCoV tipo I di riferimento (Elmo/02) (Pratelli et al., 2003) (Figura 1).

L'infezione da FCoVs è largamente diffusa nelle comunità feline di tutto il mondo, anche se spesso sottovalutata perché responsabile di una patologia enterica subclinica o comunque caratterizza-



**Figura 1:** Allineamento della sequenza nucleotidica del frammento del gene S del ceppo 176/03-2 con CCoV tipo I, ceppi di riferimento Elmo/02 e 23/03, FCoV tipo I, ceppi di riferimento UCD1, Black and KU-2, FCoV tipo II, ceppi di riferimento 79-1146 e 79-1683, e CCoV tipo II (Insavc e K378).



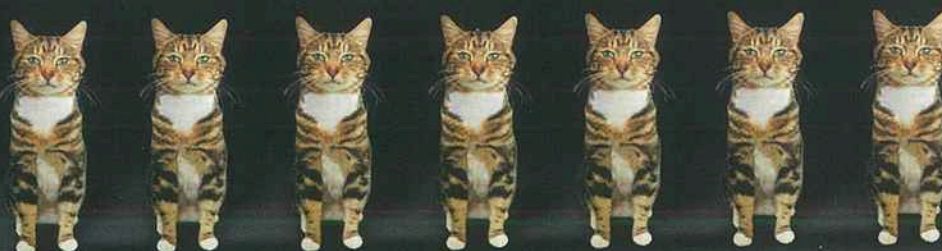


ta da remissione spontanea. Tuttavia, l'importanza di questo patogeno dovrebbe essere rivalutata per la sua potenzialità nell'indurre la peritonite infettiva. Le indagini epidemiologiche condotte in USA hanno messo in luce un'elevatissima percentuale di sieropositività verso FCoV tra i gatti ed è stata anche dimostrata e confermata l'elevata persistenza del virus nell'intestino del gatto infetto. I risultati ottenuti nella presente indagine, sebbene condotta su un numero limitato di campioni, sono interessanti. Abbiamo confermato una ampia diffusione di FCoV tipo I tra i gatti della provincia di Bari, in accordo con quanto rilevato da analoghe indagini condotte in altri paesi per valutare la diffusione di FCoV tra i gatti (Addie and Jarret, 1995). Inoltre, in analogia con quanto osservato da altri ricercatori relativamente alle difficoltà di isolamento *in vitro* di FCoV tipo I e CCoV tipo I

(Pratelli et al., 2003), nessun campione identificato è stato isolato su colture cellulari. Un altro dato interessante che emerge dal presente studio è la caratterizzazione di uno stirpe CCoV tipo I nelle feci di un gatto. CCoV tipo I è stato infatti solo recentemente identificato nei cani con infezione da CCoV (Pratelli et al., 2003), e questa è la prima segnalazione della sua presenza anche tra i gatti.

I nostri risultati, anche alla luce delle patologie emergenti nell'uomo causate da coronavirus, inducono ritenere che l'infezione da coronavirus del gatto, e degli animali in generale, richieda ulteriori e più approfonditi studi. Sarà necessario acquisire ulteriori informazioni di tipo epidemiologico e genomico sui coronavirus per meglio comprendere i meccanismi biologici e patogenetici dell'infezione da SARS-CoV nell'uomo.

**Aiutiamo i gatti a godersi tutte le loro 7 vite**

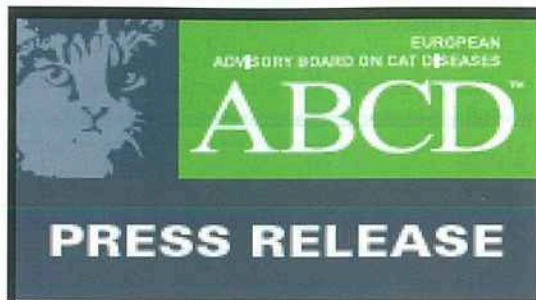


**FORTEKOR**  
Una vita migliore per i gatti

Una diagnosi precoce e un trattamento ogni giorno  
per tutta la vita fanno la differenza.

 **NOVARTIS**  
ANIMAL HEALTH





Venerdì 28 aprile 2006

## Nuovo Comitato Consultivo di esperti europei per la proposta di linee guida sulle malattie infettive dei gatti in Europa

28 Aprile 2006. È stata annunciata oggi la costituzione di un nuovo Comitato Consultivo sulle malattie dei gatti (European Advisory Board on Cat Diseases, ABCD) formato da diciassette esperti europei, conseguenza del fatto che esiste una certa preoccupazione tra gli esperti per la salute dei circa sessanta milioni di gatti che vivono in Europa a causa di un tasso inadeguato di vaccinazione<sup>(1)</sup>.

Una ricerca condotta tra oltre 30.000 proprietari di gatti in cinque nazioni europee ha evidenziato che quasi sei proprietari di gatti giovani su dieci non ha vaccinato il proprio gatto, il 30% dei proprietari di gatti adulti non lo ha mai vaccinato e meno della metà lo vaccina regolarmente<sup>(2)</sup>.

Durante i recenti focolai di afta epizootica in Europa, la vista delle carcasse dei bovini abbattuti che bruciavano sottoforma di enormi pire ha provocato pubbliche proteste a favore della vaccinazione degli animali. Sorprendentemente, nel campo degli animali da compagnia sta succedendo l'opposto ed i proprietari spesso contestano la necessità della vaccinazione.

Il professor Marian Horzinek, presidente del neonato ABCD ha detto: "La vaccinazione è divenuta vittima del proprio successo. I significativi benefici della vaccinazione si apprezzano con difficoltà, poiché le malattie sono ben controllate e quindi osservate raramente. Un obiettivo fondamentale di ABCD è quello di contribuire ad una maggior consapevolezza dell'opinione pubblica relativamente alla prevenzione e al controllo delle malattie infettive dei gatti, promuovendo la vaccinazione come momento fondamentale della scelta responsabile di diventare proprietario di un gatto".

"Con la presenza di oltre 60 milioni di gatti in Europa vi è un'evidente necessità di linee guida basate su evidenze scientifiche per la prevenzione e la gestione delle principali malattie infettive feline, inclusi i protocolli vaccinali, la scelta dei vaccini come pure il rischio di eccessi vaccinali" ha aggiunto il professor Horzinek.

I membri del Comitato sono veterinari provenienti da dieci nazioni europee, con esperienza in immunologia, vaccinologia e/o malattie infettive feline. Essi si prefiggono di redigere linee guida basate sulle attuali

conoscenze scientifiche per la prevenzione e la gestione delle principali malattie infettive feline in Europa, quali panleucopenia, rabbia, leucemia felina, corizza e sui recenti casi di influenza aviaria nei gatti.

Definito anche "Serbatoio di conoscenza sulle malattie feline", il Comitato proporrà anche programmi di vaccinazione individuali da definire all'atto della visita sanitaria annuale del gatto, utilizzata al fine di valutare il rischio individuale di ciascun soggetto. Il professor Horzinek ha affermato che: "Un protocollo di vaccinazione dovrebbe essere basato su una decisione razionale presa da veterinari e proprietari di gatti e non dettata da informazioni raccolte su internet".

"Sebbene l'American Association of Feline Practitioners (AAFP) ha già sviluppato raccomandazioni di questo tipo, in Europa si osservano significative differenze nell'incidenza delle malattie, virulenza dei ceppi, epidemiologia, vaccini disponibili, popolazione felina e suo stile di vita. Tutto ciò si rifletterà in maniera considerevole sulle valutazioni di ABCD", ha affermato il dott. Jean-Christophe Thibault, Scientific and Technical Manager per i prodotti biologici della Merial in Europa, che è stato attivamente impegnato nella creazione di ABCD. La casa farmaceutica di prodotti veterinari Merial è impegnata nel supportare le attività in corso del Comitato.

"Noi prevediamo di completare le linee guida sulle principali malattie infettive dei gatti<sup>(3)</sup> entro il 2008. Come gruppo di scienziati, siamo orgogliosi della nostra indipendenza. Noi siamo molto grati a Merial il cui supporto rende possibili le riunioni" ha detto il prof. Horzinek.

L'ABCD terrà incontri tre volte l'anno e ad ogni meeting prevede di discutere una o due delle principali malattie infettive dei gatti. Questa primavera, il Comitato si è riunito a Barcellona per formulare le linee guida sulla vaccinazione nei confronti della panleucopenia felina. Inoltre, ha anche costituito una task force per valutare i rischi e la gestione della possibile trasmissione al gatto dell'influenza aviaria dovuta al virus H5N1. Le linee guida formulate saranno rese note al più presto.

### Note per gli editori:

- Biografie dei membri dell'ABCD incluse
- Interviste disponibili su richiesta
- Informazioni disponibili a richiesta sullo status delle vaccinazioni in ogni nazione europea
- Visitare il sito [www.abcd-vets.org](http://www.abcd-vets.org) per informazioni dettagliate di base

Per ulteriori informazioni contattare:

Karin de Lange - Press officer/Professional press:

Telefono: + 33 299078710

Email: [karin.delange@abcd-vets.org](mailto:karin.delange@abcd-vets.org)

oppure

Mars Webb - Communications officer/Consumer media:

Telefono: + 44 208 835 0372

Email: [mars.webb@abcd-vets.org](mailto:mars.webb@abcd-vets.org)





## Membri dell'ABCD

### Marian Horzinek

Ex-Direttore, Dip. di Malattie Infettive, divisione di Immunologia & Virologia, Facoltà di Medicina Veterinaria; Direttore, Graduate School Animal Health; Direttore, Institute of Veterinary Research; Utrecht, Olanda. Presidente fondatore dell'European Society of Feline Medicine. Interessi di ricerca: Coronavirus felini, evoluzione virale.

### Diane Addie

Institute of Comparative Medicine in Glasgow, Regno Unito. Interessi di ricerca: coronavirus felini (peritonite infettiva felina), infezioni naturali.

### Sandor Bélak

Professore, Dip. di Virologia, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Uppsala; Esperto OIE per la diagnosi di malattie virali, Svezia. Interessi di ricerca: PCR, calicivirus, sviluppo di vaccini, basi genetiche della patogenesi virale, ricombinazione ed interazione virus-ospite.

### Corine Boucraut-Baralon

Professore associato, Malattie Infettive, Scuola Veterinaria di Toulouse; Direttore, Laboratorio Diagnostico Scanelis, Francia. Interessi di ricerca: poxvirus, calicivirus felini, coronavirus felini, analisi in real-time PCR.

### Herman Egberink

Professore associato, Dip. di Malattie Infettive e Immunologia, divisione di Virologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Utrecht; membro del comitato nazionale per la registrazione del farmaco, Olanda. Interessi di ricerca: coronavirus felini (FIP) e virus dell'immunodeficienza felina (FIV), sviluppo ed efficacia dei vaccini, antivirali.

### Tadeusz Frymus

Professore, Direttore, Divisione di Malattie Infettive ed Epidemiologia, Dip. di Scienze Cliniche, Facoltà di Veterinaria di Varsavia, Polonia. Interessi di ricerca: vaccini, virus della leucemia felina (FeLV), virus dell'immunodeficienza felina (FIV), coronavirus felino (FCoV/FIP), infezione da Bordetella bronchiseptica, cimurro.

### Tim Gruffydd-Jones

Direttore, The Feline Centre, Professor in Feline Medicine, Bristol University, Regno Unito; socio fondatore dell'European Society of Feline Medicine. Interessi di ricerca: malattie infettive del gatto, in particolare coronavirus e Chlamydia.

### Katrin Hartmann

Direttore, Dipartimento di Medicina Interna degli Animali da Compagnia & professore di Medicina Interna, Facoltà di Veterinaria di Monaco, Germania; componente del comitato per la stesura delle linee guida sulle vaccinazioni dell'AAFP. Interessi di ricerca: malattie infettive degli animali da compagnia.

### Margaret J. Hosie

Institute of Comparative Medicine in Glasgow, UK. Interessi di ricerca: patogenesi e sviluppo di vaccini nei confronti dell'immunodeficienza felina.

### Albert Lloret

Medico Veterinario, Ospedale Veterinario Didattico, Università Autonoma di Barcellona, Spagna. Interessi di ricerca: medicina felina, diagnosi molecolare delle malattie feline, sarcoma felino da iniezione.

### Hans Lutz

Direttore, Laboratorio Clinico, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Zurigo, Svizzera.

Interessi di ricerca: retro- e coronavirus felini (patogenesi e vaccinazione), epidemiologia e diagnosi molecolare delle malattie infettive feline.

### Fulvio Marsilio

Dipartimento di Scienze Biomediche Compare, Sezione di Malattie Infettive, Università di Teramo, Italia. Interessi di ricerca: PCR quale sistema diagnostico per le infezioni delle vie aeree superiori, vaccino ricombinante per calicivirus felino.

### Maria Grazia Pennisi

Professore Ordinario di Clinica Medica Veterinaria. Responsabile dell'ambulatorio di Clinica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Messina, Italia. Interessi di ricerca: immunologia clinica, Bordetella bronchiseptica nei gatti, virus dell'immunodeficienza felina.

### Alan Radford

Lecturer & Researcher, Dept Small Animal Studies, Liverpool Veterinary School, Regno Unito. Interessi di ricerca: calicivirus felino, geni della virulenza dell'herpesvirus felino, vaccini ricombinanti, Bordetella bronchiseptica nei gatti, variazioni della risposta immunitaria.

### Andy Sparkes

Direttore, Feline Unit, Animal Health Trust; presidente, Feline Advisory Bureau, Regno Unito; Editore fondatore e attuale co-editor dell'European Journal of Feline Medicine and Surgery; componente del comitato per la stesura di linee guida sulla vaccinazione dell'AAFP. Interessi di ricerca: malattie infettive feline, malattie delle vie aeree profonde, oncologia.

### Etienne Thiery

Direttore, Dipartimento di Malattie Infettive e Virologia, Facoltà di Veterinaria, Liegi, Belgio; membro della Commissione per i prodotti medicinali veterinari dell'UE. Interessi di ricerca: herpesvirus, interazioni ospite-virus, vettori adenovirali.

### Uwe Truyen

Professore, Dipartimento di Sanità Animale & Sanità Pubblica Veterinaria, Università di Leipzig, Germania. Interessi di ricerca: parvovirus, calicivirus felino.

(1) CPL - J2020 Piano di mercato per il dry petfood in Europa.



<sup>(2)</sup> Ricerca di mercato Merial pubblicata nel 2002

<sup>(3)</sup> Panleucopenia felina, rabbia, leucemia felina, rino-tracheite felina (sostenuta da feline herpesvirus e calicivirus), immunodeficienza felina, peritonite infettiva felina e infezioni da Chlamydia/Bordetella

Comunicato stampa ABCD sull'influenza aviaria nel gatto 24/05/06

## INFLUENZA AVIARIA DA H5N1

LE RACCOMANDAZIONI DELL'ABCD PER AFFRONTARE NELLA PRATICA I CASI DI GATTI SOSPETTI DI INFEZIONE

L'aggiornamento bibliografico e le linee guida sono state redatte da Etienne Thiry (Liege/B), coadiuvato da Diane Addie (Glasgow/UK), Herman Egberink (Utrecht/NL), Katrin Hartmann (Munich/D), Hans Lutz (Zurich/CH) e Hervé Poulet (Lyon/F), membri dell'unità operativa dell'ABCD sull'influenza aviaria.

L'ABCD è un Comitato indipendente costituito per formulare linee guida per la prevenzione e la gestione delle principali malattie infettive dei felini in Europa. La società Merial ha aiutato la nascita del Comitato e lo supporta finanziariamente.

Il Comitato consultivo sulle malattie del gatto (ABCD) di recente costituito, ai primi di Marzo ha organizzato al suo interno un gruppo di lavoro al fine di fornire ai veterinari liberi professionisti informazioni e indicazioni su come comportarsi nel caso di gatti sospetti di infezione da H5N1.

### L'infezione dei gatti

I felidi possono essere infettati naturalmente e sperimentalmente con il virus H5N1. La prima prova sperimentale della patogenicità del virus per il gatto domestico è stata ottenuta nel 2004<sup>1</sup>. Nel febbraio 2004 l'infezione di gatti domestici è stata osservata in Thailandia<sup>2</sup>. Nella stessa nazione, sono stati pubblicati i dati relativi a due focolai di malattia mortale in tigri e leopardi<sup>3</sup>.

Alla fine di Febbraio/inizio Marzo di quest'anno, tre gatti sono deceduti nell'isola di Ruegen (Germania) ed i test di laboratorio hanno dimostrato la presenza di H5N1. Ancora in Marzo tre gatti sono stati trovati infetti ma vivi in un ricovero per animali a Graz in Austria.

### Gatti, ma anche furetti, ratti e conigli...

Il sottotipo H5N1 del virus dell'influenza aviaria tipo A, appartenente alla famiglia Orthomyxoviridae, colpisce prevalentemente gli uccelli. La trasmissione ai mammiferi si osserva in maniera sporadica e l'infezione può

causare malattia caratterizzata da alta morbilità ed elevata mortalità. L'uomo, i primati, i roditori, i lagomorfi, i mustelidi e i felidi, incluso il gatto domestico, possono risultare infetti e soccombere alla malattia<sup>4</sup>.

### ...e l'uomo?

In una dichiarazione dell'WHO del 28 Febbraio 2006, si legge: "Non vi è alcuna prova che i gatti domestici giochino un ruolo nel ciclo di trasmissione del virus H5N1. Fino ad oggi nessun caso umano è risultato legato alla presenza di gatti infetti. Non è stato registrato nessun focolaio nei gatti domestici. A differenza degli uccelli selvatici e domestici non vi è alcuna prova che i gatti domestici siano un serbatoio del virus. Tutte le prove disponibili indicano che le infezioni dei gatti si osservano in associazione con i focolai di H5N1 negli uccelli domestici e selvatici."

### Cosa sappiamo?

I seguenti dati sono stati ottenuti da infezioni sperimentali<sup>5</sup>.

Questi riflettono l'odierno stato di conoscenza e dovranno essere rivisti ed implementati man mano che saranno disponibili nuovi dati:

- i gatti possono essere infettati per via tracheale e orale e tramite l'ingestione di pollo infetto;
- l'infezione può avvenire attraverso il contatto con uccelli infetti;
- i gatti infetti possono trasmettere il virus ad altri gatti per contatto diretto;
- quantità moderate di virus sono sufficienti per infettare un gatto;
- il virus è eliminato tramite la secrezione nasale e le feci; l'eliminazione nasale inizia tre giorni dopo l'infezione e continua per quattro o più giorni;
- il periodo d'incubazione nelle infezioni sperimentali è di circa due giorni;
- i segni clinici sono rappresentati da febbre, letargia/depressione, dispnea e congiuntivite; quando compaiono i segni clinici, l'esito della malattia è per lo più fatale nel giro di una settimana. E' stato osservato anche ittero;
- alla necropsia si apprezza la presenza di lesioni multifocali ai polmoni nonché petecchie emorragiche a carico delle tonsille, dei linfonodi mandibolari e retrofaringei e del fegato;
- l'esame istologico evidenzia lesioni infiammatorie e necrotiche nei polmoni, cuore, cervello, reni, fegato e surrene. In gatti alimentati con pollo infetti sono state osservate lesioni a livello dell'intestino tenue.

## CONSIDERAZIONI SUL RISCHIO – DOMANDE E RISPOSTE

### 1. Come si infettano i gatti?

Il pre-requisito è che il gatto viva in una regione dove





siano stati identificati attraverso indagini di laboratorio uno o più uccelli infetti da H5N1; se ciò avviene, devono essere considerati i seguenti fattori di rischio:

- il gatto vive in un ambiente dove sono presenti uccelli acquatici;
- il gatto ha accesso all'ambiente esterno;
- il gatto ha contatti con pollame allevato all'aperto o al chiuso;
- il gatto è stato alimentato con carne di pollo non cotta.

## **2. Come si contagia il gatto da un altro gatto?**

Il contatto stretto con un gatto infetto da H5N1 ed ammalato deve avvenire entro i primi sette giorni di infezione; sebbene potrebbero aversi infezioni asintomatiche di breve durata, non sono mai state osservate infezioni persistenti da H5N1.

## **3. Come potrebbe il gatto infettare una persona?**

Fino ad oggi (maggio 2006) nessuna trasmissione di virus da gatto a uomo è stata riportata. Ad ogni modo è necessario ricordare che:

- un virus H5N1 che ha infettato un gatto si è già adattato ad un mammifero; i virus isolati dalle persone hanno mostrato un aumento di virulenza per i mammiferi<sup>6</sup>;
- il virus è eliminato tramite l'apparato respiratorio e con le feci;
- la quantità di virus eliminato è abbastanza elevata da permettere l'infezione dei gatti che vivono a stretto contatto;
- a causa dello stretto contatto tra gatti e proprietari, un gatto infetto potrebbe infettare una persona;
- attualmente il rischio di infezione e di malattia per le persone non può essere stimato.

## **4. Quando il veterinario dovrebbe sospettare che un gatto ammalato è infetto da virus H5N1?**

Prima di emanare un sospetto, deve essere valutato il rischio potenziale in accordo con l'anamnesi e le circostanze (vedi il punto 1):

- se il rischio è ammesso, deve essere eseguita una valutazione clinica e si dovrebbero registrare i seguenti segni clinici: febbre, letargia/depressione, dispnea, congiuntivite, decorso rapidamente mortale; sono stati descritti anche segni neurologici;
- la diagnosi differenziale deve escludere le infezioni caratterizzate da segni sistemici e respiratori simili, come quelle causate da herpesvirus e calicivirus felino e da batteri (*Bordetella bronchiseptica*, *Chlamydia felis*, e *Mycoplasma*);
- i segni clinici possono portare solo ad emettere un sospetto che dovrebbe essere confermato dai test di laboratorio.

## **5. Come devono essere maneggiati i campioni da inviare al laboratorio?**

Le autorità sanitarie devono essere informate in accordo con le norme nazionali e va contattato il laboratorio diagnostico per ulteriori informazioni. Comunque, possono essere fornite alcune regole generali. Per prelevare tamponi orofaringei, nasali e rettali, bisogna eseguire i seguenti passaggi:

- contrassegnare i tubi di plastica con un pennarello indelebile;
- trasferire i tamponi nei tubi e chiuderli accuratamente;
- pulire la superficie dei tubi con alcool per ridurre il rischio di contaminazione per il personale di laboratorio;
- inviare i tubi in maniera sicura, all'interno di sacchetti di plastica, al laboratorio di riferimento nazionale, in accordo con le procedure definite dalle autorità locali. Bisognerebbe prelevare campioni post mortem di polmone e linfonodi mediastinici da inviare in formalina tamponata al 10%.

Non è raccomandabile l'esecuzione di test per l'influenza in proprio.

## **6. Quali misure deve prendere il veterinario in caso di sospetto di infezione da H5N1 in un gatto?**

A propria protezione personale:

- ridurre al minimo il contatto fisico con il gatto, evitando graffi e morsi;
- indossare guanti, mascherina e occhiali protettivi quando si maneggia il gatto;
- si raccomanda la sedazione del gatto prima di effettuare prelievi;
- utilizzare un disinfettante medico standard per decontaminare le superfici.

A protezione del personale ausiliario e degli altri animali:

- il gatto sospetto deve essere tenuto nella clinica in isolamento in gabbia.

A protezione dei proprietari e delle loro famiglie:

- in casa il gatto deve essere confinato in una stanza separata (prima di essere portato in ambulatorio);
- il contatto fisico con il gatto deve essere ridotto al minimo ed evitati graffi e morsi;
- lettieri, ciotole, ceste ed altri oggetti potenzialmente contaminati devono essere disinfettati con una soluzione di ipoclorito di sodio (varechina per uso domestico);
- le camere nelle quali il gatto ha avuto accesso prima della visita dal veterinario, devono essere accuratamente pulite utilizzando un detergente per uso domestico.

## **7. Cosa può fare il proprietario per ridurre il rischio di infezione da H5N1?**

- seguire attentamente l'andamento dell'epidemia at-



traverso i mezzi di informazione nazionale e locale;  
- non alimentare i gatti con carne di pollo cruda;  
- in caso di elevata mortalità tra gli uccelli selvatici, i gatti devono essere tenuti dentro casa fino a quando non siano disponibili ulteriori informazioni sulla causa dei decessi.

### Siti web da consultare

World Health Organisation: <http://www.who.int/en/>

World Organisation for Animal Health: <http://www.oie.int>

European Commission, Animal Health and Welfare:  
<http://europa.eu.int/comm/food/animal/>

## BIBLIOGRAFIA

1. Kuiken et al. Avian H5N1 influenza in cats. *Science*, 2004, 306, 241.
2. WHO, Avian influenza A (H5N1) - update 28: reports of infection in domestic cats, 20 February 2004
3. Keawcharoen et al., Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004, 10, 2189-2191; and Thanawongnuwech et al., Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, 11, 699-701.
4. Un elenco delle specie recettive è disponibile al seguente indirizzo: [http://www.nwhc.usgs.gov/disease\\_information/avian\\_influenza/affected\\_species\\_chart.jsp](http://www.nwhc.usgs.gov/disease_information/avian_influenza/affected_species_chart.jsp)
5. Kuiken et al. Avian H5N1 influenza in cats. *Science*, 2004, 306, 241 ; and Rimmelzwaan et al. Influenza A virus (H5N1) infection in cats causes systemic disease with potential novel routes of virus spread within and between hosts. *Am. J. Pathol.*, 2006, 168, 176-183.
6. Maines et al. Avian influenza (H5N1) viruses isolated from humans in Asia in 2004 exhibit increased virulence in mammals. *J. Virol.*, 2005, 79, 11788-11800.



**PROGRAMMA SCIENTIFICO**

Sponsorizzato da:



**VENERDÌ 8 SETTEMBRE**

- 09.00 Registrazione durante la mattinata
- 12.00 Pranzo
- 13.00 Pancreatite felina – a che punto siamo arrivati nel 2006? - **Kenny Simpson, USA**
- 14.00 Alcune malattie di orecchio, naso, gola e cavità orale del gatto - **Richard Malik, Australia**
- 15.00 Te/caffè
- 15.45 Terapia medica o flap? – il trattamento delle affezioni oculari traumatiche del gatto - **David Gould, UK**
- 16.45 Inflammatory bowel disease – andare oltre l' "enterite linfoplasmocitaria" - **Kenny Simpson, USA**
- 17.45 Leishmaniosi felina - **Maria Grazia Pennisi, Italia**
- 18.30 Cocktail di benvenuto in piscina

**SABATO 9 SETTEMBRE**

- 08.30 La gestione delle enteropatie croniche - **Kenny Simpson, USA**
- 09.30 Scelte cliniche – come scegliere il miglior modo per gestire un caso clinico? - **Richard Malik, Australia**
- 10.30 Te/Caffè
- 11.00 Caso clinico: lo strano caso di un gatto anziano con orecchie ricoperte da croste  
**Richard Malik, Australia**
- 11.30 Affezioni da micobatteri non tubercolari nel gatto - **Richard Malik, Australia**
- 12.30 Mi devo preoccupare di Helicobacter? - **Kenny Simpson, USA**
- 13.30 Assemblea ordinaria
- 14.00 Pomeriggio libero
- Pomeriggio Escursione a Torre Argentina – santuario dei gatti nel centro di Roma
- Sera 'Glitter & Sparkle' Cena Sociale a Palazzo Brancaccio

**DOMENICA 10 SETTEMBRE**

- 09.00 Criptococcosi felina – che cosa dobbiamo imparare dagli studi sul koala riguardo alla più comune micosi sistemica del gatto - **Richard Malik, Australia**
- 10.00 Casi clinici: diarrea cronica nel gatto - **Kenny Simpson, USA**
- 10.30 Te/caffè/snack
- 11.00 Valutazione clinica delle cardiopatie congenite del gatto - **Claudio Bussadori, Italia**
- 12.00 Casi clinici: vomito cronico nel gatto - **Kenny Simpson, USA**
- 12.30 Pranzo
- 13.30 Qual'è la vostra diagnosi? – presentazione di casi clinici oftalmologici - **David Gould, UK**
- 14.30 Caso clinico: ulcere refrattarie sul naso di un gatto giovane - **Richard Malik, Australia**
- 15.00 Fine dei lavori congressuali





## PRECONGRESS DAY Odontostomatologia felina

Modena, 6 Ottobre 2006  
Forum G. Monzani

### Docenti

*Dr.ssa Michèle Lebeau* - Libero Professionista - Roma

*Dr.ssa Alda Miolo* - CeDIS innovet

### PROGRAMMA

- 15.00 Saluto del Presidente AIVPAFE: *Prof. F. Porciello*
- 15.30 La malattia parodontale del gatto (*M. Lebeau*)
- 16.30 Razionale di utilizzo delle aliamidi nella gengivostomatite felina (*A. Miolo*)
- 16.50 *Pausa caffè*
- 17.10 La stomatite plasmacellulare del gatto (*M. Lebeau*)
- 18.10 *Discussione*

### INFORMAZIONI GENERALI

Le quote di partecipazione verranno pubblicate sul programma definitivo e all'interno del sito [www.aivpafe.it](http://www.aivpafe.it)



### SEGRETERIA ORGANIZZATIVA



Viale dei Mille 140 - 43100 Parma  
Tel. 0521 290191  
Fax 0521291314  
[aivpafe@mvcongressi.it](mailto:aivpafe@mvcongressi.it)  
[www.aivpafe.it](http://www.aivpafe.it)





# Corso Teorico-Pratico di EMATOLOGIA e CITOLOGIA nel cane e nel gatto

Perugia, 21-22 Ottobre 2006

Facoltà di Medicina Veterinaria

12 E.C.M.

In collaborazione con **AIVPA** Associazione Italiana Veterinari Piccoli Animali

In collaborazione Scientifica con Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Perugia

Con il Patrocinio dell'Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Perugia

## Docenti

**Dr.ssa Maria Teresa Antognoni** - Ricercatore Clinica Medica Vet. - Università di Perugia

**Prof. Massimo Castagnaro** - Preside e Direttore Dip.to Sanità Pubblica - Università di Padova

**Dr. Elvio Lepri** - Ricercatore Patologia Gen. e Anatomia Patol.Vet. - Università di Perugia

**Prof. Vittorio Mangili** - Professore Ordinario Clinica Medica Vet. - Università di Perugia

**Prof. Luca Mechelli** - Professore Ordinario Patologia Gen. e Anatomia Patol.Vet. - Università di Perugia

**Dr.ssa Barbara Miniscalco** - Ricercatore Dip.to di Patologia Animale - Università di Torino

## SABATO 21 OTTOBRE 2006

- 8.30 Registrazione partecipanti
- 8.45 Presentazione del Corso da parte del Prof. F. Moriconi - Preside della Facoltà
- 9.00 Esame emocromocitometrico: esecuzione ed interpretazione dei diversi parametri (V. Mangili)
- 10.15 Pausa caffè
- 10.45 Valutazione morfologica degli elementi ematici e del midollo osseo del cane (M.T. Antognoni)
- 12.15 Principi di base di ematologia felina ed esame dello striscio di sangue: aspetti normali e patologici (B. Miniscalco)
- 13.30 Pausa pranzo
- 15.00-18.30 Esercitazioni Pratiche di Ematologia in 3 gruppi a rotazione

## DOMENICA 22 OTTOBRE 2006

- 9.00 Metodiche fondamentali in Citologia (L. Mechelli)
- 9.30 Citologia cutanea (L. Mechelli)
- 10.30 Pausa caffè
- 11.00 Citologia dei versamenti cavitari (Elvio Lepri)
- 12.15 Citologia dei linfonodi, delle ghiandole e delle cavità nasali (M. Castagnaro)
- 13.30 Pausa pranzo
- 15.00-18.30 Esercitazioni pratiche di Citologia in 3 gruppi a rotazione
- 18.30 Verifica dell'Apprendimento e Termine del Corso

**OLYMPUS**  
Your Vision, Our Future

## INFORMAZIONI GENERALI

Sede: Aula Magna della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Perugia - Via S. Costanzo 4 - 06126 Perugia.

**Modalità di partecipazione:** inviare la scheda di iscrizione con copia del versamento a Medicina Viva, entro il 15.09.2006

**Prenotazione alberghiera:** gli interessati potranno rivolgersi direttamente agli hotel

\*\*\* Hotel Grifone - Via S. Pellico 1 - tel. 075-583.76.16

\*\* Hotel Ideal - Via Tuderte 1/g - tel. 075-30.869

**ECM:** sono stati assegnati n° 12 crediti formativi ECM per Medico Veterinario. E' obbligatoria la frequenza al 100% delle lezioni, in caso contrario non potranno essere rilasciati i crediti. L'attestato con i crediti ECM verrà spedito per posta.

**Corso a numero chiuso:** 30 Posti. Le sessioni pratiche si svolgeranno in gruppi di 3 corsisti, ogni gruppo sarà affiancato da un Docente. I partecipanti dovranno portare un camice per le esercitazioni pratiche.

*Per informazioni:*

**MEDICINA VIVA**  
Servizio Congressi s.r.l.

Viale dei Mille, 140 - 43100 Parma - Tel. 0521 290191  
Fax 0521 291314 - [aivpafe@mvcongressi.it](mailto:aivpafe@mvcongressi.it) - [www.aivpafe.it](http://www.aivpafe.it)





**A I V P A F E**

## GIORNATA DI STUDIO

**Diagnosi e terapia dermatologica felina:  
vecchie conferme e nuove acquisizioni**

**Messina, 19 Novembre 2006**

**Facoltà di Medicina Veterinaria**

*Con il Patrocinio:*

*Facoltà Medicina Veterinaria di Messina*

*Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Messina*

*Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Reggio Calabria*



### **Docenti**

**Francesco Albanese**

Libero professionista - Napoli

**Ersilia Pappalardo**

Dipl. ECVD - Libero professionista - Catania

### **PROGRAMMA**

- 8.30 *Registrazione dei partecipanti*
- 9.00 Saluto del Preside della Facoltà: *Prof. G. Germanà*
- 9.00 Saluto del Presidente AIVPAFE: *Prof. F. Porciello*
- 9.30 Dermatofitosi: novità in terapia (*E. Pappalardo*)
- 10.15 Malattie parassitarie: tecniche diagnostiche e terapia (*F. Albanese*)
- 11.00 *Pausa caffè*
- 11.30 Diagnosi differenziale del prurito facciale (*E. Pappalardo*)
- 12.30 *Discussione*
- 13.00 *Colazione di lavoro*
- 14.30 Le malattie eosinofiliche feline (*F. Albanese*)
- 15.30 Malattie autoimmuni (*E. Pappalardo*)
- 16.30 *Pausa caffè*
- 17.00 Principali neoplasie cutanee e sindromi neoplastiche (*F. Albanese*)
- 18.00 Discussione e Verifica dell'Apprendimento
- 18.30 Chiusura lavori



### **INFORMAZIONI GENERALI**

**Sede:** Facoltà di Medicina Veterinaria di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata - 98168 Messina.

**Come raggiungere la sede:** Informazioni dettagliate sono disponibili sul sito [www.aivpafe.it](http://www.aivpafe.it) oppure [ww2.unime.it/veterinaria/sede.htm](http://ww2.unime.it/veterinaria/sede.htm)

**Modalità di partecipazione:** inviare la scheda di iscrizione con copia del versamento a Medicina Viva, entro il 19 settembre 2006. Le quote includono la colazione di lavoro.

**Posti disponibili:** max 150.

**Hotel in zona:** *Jolly Hotel*, Corso Garibaldi 126, Messina Tel. 090 363860.

**E.C.M.:** è stato richiesto l'accreditamento ECM al Ministero della Sanità per la categoria Medico Veterinario. E' richiesta la presenza al 100% delle lezioni, in caso contrario non potranno essere rilasciati i crediti. L'attestato con i crediti verrà successivamente spedito per posta.





Associazione Italiana Veterinari Patologia Felina  
**SCHEDA di ISCRIZIONE o RINNOVO**

da spedire a: Medicina Viva - Viale dei Mille 140 43100 Parma fax 0521-29.13.14

Cognome - Nome \_\_\_\_\_

Domiciliato in Via \_\_\_\_\_ n° \_\_\_\_\_

CAP \_\_\_\_\_ Città \_\_\_\_\_ Prov. \_\_\_\_\_

Tel. \_\_\_\_\_ Cell. \_\_\_\_\_ Fax \_\_\_\_\_

Cod.Fisc.personale (obbligatorio) \_\_\_\_\_

Nato a \_\_\_\_\_ il \_\_\_\_\_

E-mail (stampatello) \_\_\_\_\_

dichiara di essere iscritto all'Ordine dei Medici Veterinari della Provincia \_\_\_\_\_

In qualità di :

☐ **SOCIO EFFETTIVO**

☐ **SOCIO ADERENTE**

estratto dallo Statuto, art. 5 - possono entrare a far parte dell'Associazione come:

SOCI EFFETTIVI i Medici Veterinari Liberi Professionisti iscritti all'AIVPA e gli Universitari di Nazionalità Italiana che si occupano prevalentemente di patologia felina.

SOCI ADERENTI i Medici Veterinari Liberi Professionisti non iscritti all'AIVPA; i Medici Veterinari non liberi professionisti; Medici Veterinari di altre nazionalità, Laureati in Scienze affini con specifico interesse verso la patologia felina e comparata.

☐ **NUOVO SOCIO** Anno \_\_\_\_\_

☐ **RINNOVO** Anno \_\_\_\_\_

☐ **Socio AIVPA + Socio AIVPAFE**

Euro 130,00

Invio la quota associativa **AIVPA + AIVPAFE** mediante Bonifico bancario intestato a

**AIVPA - Unicredit Banca - Via Mazzini 8 - 43100 Parma - BBAN N020081272002624743**

☐ **Socio AIVPAFE (non Socio AIVPA)**

Euro 78,00

☐ **Neolaureato** - (ultimi 3 anni) - allegare copia certificato

Euro 37,00

☐ **Studente** - allegare copia certificato

Euro 26,00

Invio euro \_\_\_\_\_ come quota associativa **AIVPAFE** dell'anno/anni \_\_\_\_\_ mediante:

☐ **Assegno ordinario o circolare** intestato a: **AIVPAFE** e spedito a: Medicina Viva V.le dei Mille 140 43100 Parma

☐ **Vaglia postale** intestato: AIVPAFE c/o Medicina Viva - Viale dei Mille 140 - 43100 Parma

☐ **Bonifico bancario intestato a AIVPAFE**

Unicredit Banca - Via Mazzini 8 - 43100 Parma - **BBAN X0200812720000002627638**

☐ Carta di Credito ☐ VISA ☐ Carta Si ☐ Mastercard (non sono accettate altre Carte, compresa Visa ELECTRON)



Scad. \_\_\_\_\_

Autorizzo al prelievo \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

Le suddette quote danno diritto a:

☐ ricevere lo Statuto dell'Associazione ed i programmi delle manifestazioni promosse da AIVPAFE

☐ partecipare gratuitamente ai Convegni AIVPAFE e a condizioni agevolate ai Corsi promossi da AIVPAFE e AIVPA

☐ ricevere gratuitamente: Rassegna di Medicina Felina AIVPAFE - Nuovo Bollettino AIVPA

**Legge n° 675/96 Tutela della Privacy**

Premesso che AIVPAFE - Associazione Italiana Veterinari Patologia Felina acquisisce i dati per gli scopi scientifici inerenti alla propria attività e che si avvale di Medicina Viva Servizio Congressi srl, per il rapporto con i propri associati, si informa che, ai sensi dell'articolo 10 della legge 675/96 "Tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali", i dati vengono raccolti per le finalità strettamente correlate all'instaurazione e prosecuzione del rapporto associativo (gestione del rapporto associativo fra l'associato, AIVPAFE e Medicina Viva, tenuta delle registrazioni obbligatorie per legge; indagini statistiche; invio di informazioni relative ad iniziative culturali, congressuali, promozionali, scientifiche promosse da AIVPAFE e Medicina Viva; invio di prodotti editoriali di AIVPAFE e Medicina Viva, invio di informazioni inerenti attività di interesse gli associati da parte di Enti pubblici e privati).

I dati verranno trattati con le seguenti modalità: registrazione ed elaborazione su supporto cartaceo e magnetico; informazione tramite sistema telematico; organizzazione degli archivi in forma automatizzata e non automatizzata. Titolari del trattamento ad ogni effetto di legge sono: AIVPAFE - Associazione Italiana Veterinari Patologia Felina e Medicina Viva - Servizio Congressi s.r.l. - Viale Dei Mille 140 - 43100 Parma. I dati richiesti all'Associato sono strettamente funzionali all'instaurazione e prosecuzione del rapporto AIVPAFE e Medicina Viva. Per questo motivo il trattamento dei dati che l'Associato fornisce per il perseguimento da parte di AIVPAFE e Medicina Viva delle finalità sopra esposte, non necessita del consenso dell'associato stesso in quanto un suo eventuale rifiuto avrebbe come conseguenza l'impossibilità di instaurare o proseguire il rapporto.

Riguardo alla comunicazione dei dati a terzi (altre Associazioni Scientifiche italiane o straniere aventi finalità analoghe, e/o Aziende del settore, Ordini e Collegi Professionali) si richiede il consenso scritto dell'Associato fermo restando che, secondo quanto disposto dall'ART 13 della Legge n° 675/96 sulla Tutela dei Dati Personali, l'associato in qualsiasi momento ha diritto di consultare, far modificare o cancellare i propri dati o semplicemente opporsi al loro utilizzo scrivendo a: AIVPAFE c/o Medicina Viva Servizio Congressi, Viale Dei Mille 140 43100 Parma.

☐ **acconsento**

☐ **non acconsento**

Data \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_



**NEW**

# KITTEN Precision 38

## Per una crescita ultra sicura

### Ultra Digest Safety

- L.I.P. proteins
- FOS
- EPA/DHA



**Kitten Precision 38** è un

concentrato di tutte le ultime innovazioni nutrizionali di Royal Canin: **massima sicurezza digestiva**, riduzione dell'odore delle feci, rinforzo delle difese naturali, controllo dell'aumento di peso, protezione della pelle, bellezza del pelo e igiene orale.

Con **Kitten Precision 38** puoi offrire al tuo gattino il meglio per la sua sicurezza e il suo benessere.



Gattino da 4 a 12 mesi – sensibile e/o soggetto all'aumento di peso (sterilizzazione, vita in casa).

In vendita in tutti i negozi specializzati.

www.royalcanin.it  
Servizio Clienti Gratuito  
800-801106  
ore 14-17  
info@royalcanin.it

**ROYAL CANIN**  
FELINE HEALTH NUTRITION

Informati su [www.amici.it](http://www.amici.it)

ROYAL CANIN SOSTIENE **amici**  
E LE SUE INIZIATIVE A FAVORE DEGLI ANIMALI.

