

Anno 13

Numero 3

2009

Rassegna di Medicina Felina



per gentile concessione di Francesca Arnone

Associazione

Italiana

Veterinari

PAtologia

FElina

In questo numero:

Farmacodinamica e farmacotossicità
nel gatto

Diagnosi molecolare
dell'aelurostrongilosi felina

Parametri ecografici renali nel gatto

Indagine di campo e di laboratorio
sull'infezione da Bartonella spp. in
colonie feline libere nella provincia di
Venezia

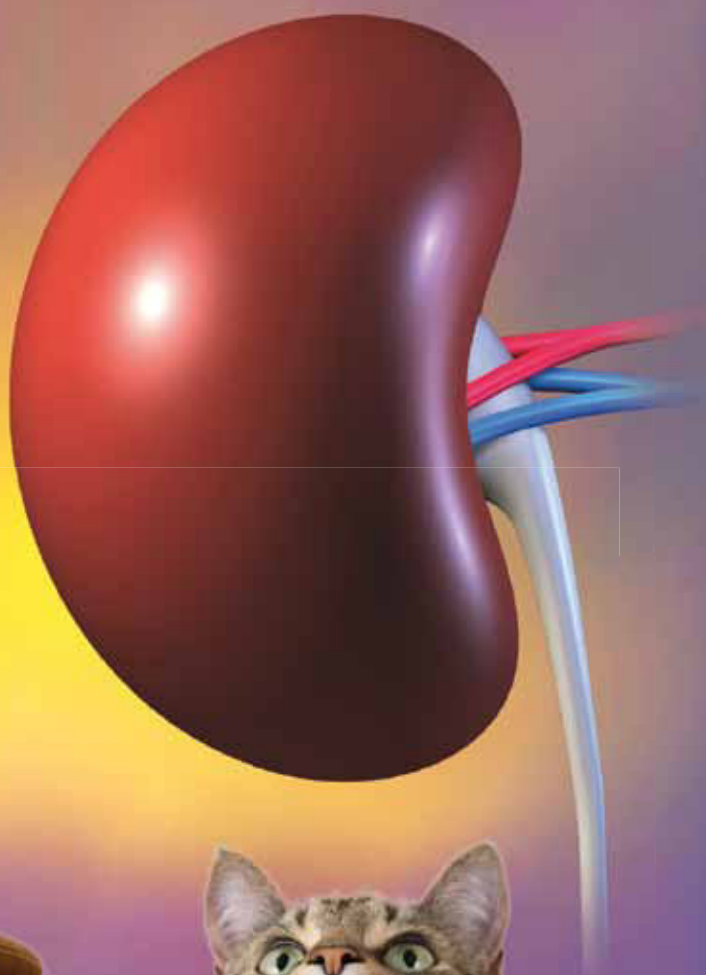
Come gestire il gatto diabetico

Renal Renal Advanced

La gestione dell'insufficienza renale cronica

Aiutano a rallentare la progressione dell'Insufficienza Renale Cronica

Contribuiscono a ridurre l'iperazotemia e le manifestazioni della sindrome uremica



 **Candioli**
FARMACEUTICI

RASSEGNA DI MEDICINA FELINA

Direttore Responsabile
Raffaella Bestonso
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

FVF

Feline Veterinary Federation

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

Cari Colleghi

Natalia Sanna

Pag. 5

LAVORI ORIGINALI

Farmacodinamica e farmacotossicità nel gatto

Spada E., Proverbio D., Bagnagatti de Giorgi G., Domenichini G

Pag. 7

La mia tesi

Diagnosi molecolare dell'aelurostrongilosi felina

Scaramucci S.

Pag. 13

Parametri ecografici renali nel gatto

Borghi V.

Pag. 19

**Indagine di campo e di laboratorio sull'infezione da
Bartonella spp. in colonie feline libere nella provincia di
Venezia**

Giacomelli M.

Pag. 25

Notizie FVF

Come gestire il gatto diabetico

Tradotto da Dott.ssa C. Bettini

Pag. 37

Manifestazioni

**Congresso Nazionale
Medicina felina: obiettivo prevenzione
Mestre (VE) 27 settembre**

Pag. 45

**Percorso formativo teorico-pratico
Ematologia e Citologia nel cane e nel gatto
2009 - 2010**

Pag. 47

COSEQUIN® Gatti



Gatto pigro... ...o affetto da osteoartrite?



Riluttanza a saltare e diminuzione dell'altezza dei salti sono i principali segni clinici dell'OA nel gatto: il 70% dei gatti anziani soffre di osteoartrite.

*Cosequin gatti:
il condroprotettore
specifico per gatti*

Candioli
FARMACEUTICI

PRESIDENTE

Dott.ssa Natalia Sanna
tel/fax: 081 76 45 695
e-mail: n.sanna@aivpafe.it

VICE PRESIDENTE

Prof.ssa Grazia Guidi
tel: 050 22 16 799
fax: 050 22 16 813
e-mail: g.guidi@aivpafe.it

SEGRETARIO

Dott. Fabio Spina
tel/fax: 06 52 310 302
e-mail: f.spina@aivpafe.it

TESORIERE

Dr.ssa Margherita Calcara
Tel./0445.300 222

CONSIGLIERI

Dott.ssa Cristina Bettini
tel: 320 863 1472
e-mail: c.bettini@aivpafe.it

Prof.ssa Maria Grazia Pennisi

tel: 090 35 03 735
fax: 090 35 03 977
e-mail: mg.pennisi@aivpafe.it

Dr. Angelo Troi

tel/fax: 0421 31 22 44
e-mail: a.troi@aivpafe.it

Past President

prof. Francesco Porciello
tel: 075 58 57 610
fax: 075 58 57 613
e-mail: f.porciello@aivpafe.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 SpA
Via Marchesi 26 D
43126 Parma
tel 0521-290191
fax 0521-291314
aivpafe@mvcongressi.it
www.aivpafe.it



Cari Colleghi,
le lunghe e calde giornate d'estate mi ricordano i giorni passati anni fa a preparare la mia tesi.

Io ho amato la mia tesi, un lavoro fatto con passione, senza fatica, "una ciliegina sulla torta".

La tesi..... la giusta conclusione forse a volte sottovalutata, in cui dopo anni di studio si condensano esperienze, linguaggio, interessi.

Alla fine di un susseguirsi di programmi, di lezioni, di paure, di gioie, di delusioni in cui siamo stati per lo più in balia degli "altri" si arriva in dirittura della laurea: finalmente diventiamo "primi attori" e c'è il concepimento della tesi.

La nostra passione ci suggerisce un argomento, ci spinge verso un docente che condivide il nostro interesse ed impostiamo insieme una ricerca, studiamo, leggiamo e così piano piano il nostro lavoro raccoglie ciò che abbiamo imparato, si struttura e diventa il frutto di anni di studio: la tesi. Se dopo pubblicheremo articoli, libri, lavori io sono convinta che la tesi rimanga un'esperienza indimenticabile, un traguardo in quanto conseguiamo la laurea, ma nello stesso tempo è un punto di partenza per il proprio futuro professionale.

Io ho amato la mia tesi ed ancora oggi, quando scorgo la sua copertina telata rossa tra gli altri libri, provo commozione, la mente torna indietro nel tempo, mi rendo conto che anche grazie a lei sono diventata un Medico Veterinario e ne sono orgogliosa.

Per questo ogni tesi meriterebbe un premio.

Quest'anno l'AIVPAFE in collaborazione con Eukanuba-Iams ha il piacere di premiarne una e bisogna riconoscere che la scelta non è stata facile tra le tante arrivate, perché tutte molto interessanti.

La dott.ssa Sara Scaramucci è la vincitrice del premio con la tesi dal titolo "Diagnosi molecolare dell'Aelurostrongilosi felina" e noi tutti ci complimentiamo con lei, augurandole una carriera ricca di soddisfazioni professionali.

UNIVERSITY OF NAPLES FEDERICO II
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

ADVANCED COURSE OF SMALL ANIMAL CARDIOLOGY

International Meeting on Canine and Feline
Cardiovascular Diseases

“Update on Canine and Feline Cardiology”

Botanical Garden of Naples
10th December 2009

Scientific program

h.9.00 - Open section

***Prof. Paolo Ciaramella (Director of the Advanced Course of
Small Animal Cardiology)***
Prof. Luigi Zicarelli (Dean of the Veterinary Faculty of Naples)

Morning section

Chairman: Prof. Angelo Persechino, Prof. Francesco Porciello (Italy)

h.9.30 - Prof. Michele Borgarelli (Kansas State University, USA)

Screening guidelines for the dilated cardiomyopathy

h.10.15 - Prof. Diego Piantedosi (University of Naples Federico II, Italy)

***Diagnosis and management of the arrhythmogenic right ventricular
cardiomyopathy (ARVC)***

h.11.00 - Coffee break

h.11.15 - Prof. Jens Häggström (University of Uppsala, Sweden)

New and old modalities for detection of feline myocardial diseases

h. 12.00 - Prof. Jens Häggström (Sweden)

Management of feline myocardial diseases

h.12.45 - Discussion

h.13.00 - Lunch break

Afternoon section

Chairman: Prof. Carlo Guglielmini, Prof. Paolo Ciaramella (Italy)

h.14.15 - Prof. Michele Borgarelli (USA)

The hypokinetic heart: is it always a dilated cardiomyopathy?

h.15.00 - Prof. Jens Häggström (Sweden)

Cardiac biomarkers in clinical practice

h.15.45 - Coffee break

h.16.00 - Prof. Michele Borgarelli (USA)

***Natural history and prognosis for dogs affected by chronic mitral valve
disease***

h. 16.45 - Prof. Jens Häggström (Sweden)

Treatment of chronic mitral valve disease: what is it new?

h.17.30 - Discussion and conclusion

With the patronage of



*and of the Veterinary Medical Associations
of Campania Region*



In collaboration with



FREE ADMISSION

For more information and the application form visit

www.cardiovet.unina.it

adiloria@unina.it

FARMACODINAMICA E FARMACOTOSSICITÀ NEL GATTO

Spada E., Proverbio D., Bagnagatti de Giorgi G.,
Domenichini G.

Sezione di Clinica Medica e Diagnostica di Laboratorio,
Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università
degli Studi di Milano

Il gatto, rispetto al cane presenta importanti peculiarità nei confronti della farmacodinamica e della farmacotossicità dei farmaci. Le principali differenze risiedono nella farmacocinetica, nel numero e nella distribuzione dei recettori, oltre che nella struttura dell'emoglobina e nel comportamento proprio del felino.

Dal punto di vista terapeutico, quindi, il gatto non deve essere considerato un cane di piccola taglia, poiché le differenze metaboliche tipiche della specie, modificano la maneggevolezza di alcuni presidi terapeutici e rendono inutilizzabili altri, a causa dell'elevata tossicità.

Di seguito vengono trattate le principali problematiche coinvolte nella somministrazione di farmaci nella specie felina.

Palatabilità: la scarsa palatabilità dei farmaci è un problema molto importante in medicina felina. Le compresse che devono essere frazionate per ottenere la corretta posologia spesso sono scarsamente palatabili per la somministrazione orale. Esempi classici sono le formulazioni contenenti metronidazolo, clindamicina e trimetoprim-sulfadiazina, che quando frazionate determinano scialorrea e rifiuto all'ingestione. Per questo la maggior parte dei farmaci dovrebbe prevedere confezioni con compresse a dosaggi appropriati o essere riformulata se esiste la necessità di utilizzare dosaggi inferiori a quelli presenti in commercio. Inoltre alcuni farmaci, spesso da somministrare in gatti anoressici e in soggetti che normalmente bevono poco, possono rimanere intrappolati nell'esofago determinando esofagiti con conseguenti stenosi (doxiciclina, clindamicina, ferro), per questo la loro somministrazione *per os* deve essere immediatamente accompagnata dall'ingestione da parte del gatto di liquidi o cibo, per garantirne la deglutizione e l'arrivo del farmaco nello stomaco (Papich, 2006).

Assorbimento: il gatto possiede un tratto digerente più breve rispetto a quello del cane e, per garantire un adeguato assorbimento in questa specie animale, il tempo di transito intestinale è più lento. Non solo, il tratto intestinale presenta una maggiore permeabilità alle differenti molecole. Lo stomaco felino è più piccolo rispetto a quello del cane poiché il comportamento alimentare in

questa specie è caratterizzato da piccoli pasti frequenti. Queste differenze anatomiche giustificano le differenze nell'assorbimento (Papich, 2006).

Distribuzione dei farmaci: il gatto ha un volume sanguigno inferiore per kg di peso corporeo (66-70 ml/kg p.c.) rispetto al cane (90 ml/kg p.c.) e per questo la concentrazione dei farmaci che sono confinati nel comparto plasmatico può essere differente (Papich, 2006).

Farmacodinamica: le principali differenze rispetto al cane riguardano il metabolismo. I farmaci liposolubili devono essere metabolizzati in modo da essere convertiti in farmaci idrosolubili al fine di poter essere escreti. Il metabolismo dei farmaci avviene in due fasi a livello epatico. Durante la fase I i farmaci vengono convertiti a metaboliti più polari, mentre nella fase II avviene la coniugazione dei prodotti della fase I con substrati polari che possono essere facilmente escreti a livello renale. L'acido glicuronico e il glutathione sono due dei maggiori coniugati, e il gatto è carente di alcune glicuroniltransferasi importanti per la glucuronazione. Ne deriva che farmaci come aspirina, acido benzoico, paracetamolo (acetaminofene), morfina ed exaclorofene hanno un'emivita prolungata in questa specie con aumento della tossicità dovuta ad accumulo (Page e Maddison, 2002).

Emoglobina: nella specie felina è una molecola maggiormente suscettibile all'ossidazione in quanto è costituita da un maggior numero di gruppi sulfidrilici, sensibili ai danni ossidativi, ed ha un minor contenuto di enzimi intracellulari antiossidanti e di enzimi deputati alla coniugazione con glutathione.

Recettori per farmaci: nel gatto hanno una differente distribuzione e affinità di legame, condizione che rende questa specie meno sensibile agli effetti di alcuni farmaci od ormoni quali, per esempio, i corticosteroidi.

Anoressia: la maggior parte delle patologie che induce anoressia nel gatto determina una diminuzione dell'apporto di proteine che rappresentano un'importante fonte di solfato, taurina e di altri composti utilizzati nella fase II del metabolismo dei farmaci. I gatti anoressici quindi hanno maggior suscettibilità a sviluppare reazioni avver-

se da farmaci a causa del ridotto metabolismo (Page e Maddison, 2002).

FARMACI SCONSIGLIATI NEL GATTO

Di seguito viene riportata una discussione dettagliata relativa ai farmaci il cui utilizzo non è raccomandato nella specie felina e dei farmaci utilizzati con differente profilo di tossicità ed attività nel gatto rispetto al cane. (Tabella 1 e 2)

Farmaco	Effetti collaterali
Acetaminofene (paracetamolo)	Metaemoglobinemia, anemia con corpi di Heinz
Apomorfina	Significativa depressione del SNC
Azatioprina	Soppressione midollare
Benzocaina	Metaemoglobinemia, edema laringeo
Cisplatino	Edema polmonare fatale acuto
Propiltiouracile	Letargia, debolezza, anoressia, diatesi emorragica
Fenitoina	Sedazione, atassia, anoressia, atrofia dermica
Scopolamina	Alterazioni comportamentali
Enema con sodio fosfato	Depressione, atassia, vomito, ematochezia
Permetrine	Iperestesia, tremori generalizzati, fascicolazioni muscolari, ipertermia, convulsioni, morte

Tabella 1. Farmaci il cui impiego non è raccomandato nel gatto (da Maddison, 2004 *modificato*)

Farmaco	Effetti collaterali
Acido acetilsalicilico (aspirina)	Iperpnea, ipersensibilità, ipertermia
Cloramfenicolo	Anemia
Digossina	Vomito, anoressia, bradicardia, aritmia
Doxorubicina	Insufficienza renale
Enrofloxacin	Cecità
Furosemide	Disidratazione, ipokaliemia
Griseofulvina	Leucopenia, trombocitopenia, atassia non reversibile
Chetoconazolo	Dimagrimento, pelo secco
Lidocaina	Depressione miocardica and SNC
Megestrol acetato	Ipertrafia e neoplasia mammaria, endometrite cistica, diabete mellito
Opioidi e derivati morfina (ad eccezione di meperidina, butorfanolo e buprenorfina)	Sedazione inconsistente, aumentato rischio di eccitazione
Organo fosfati	Tossicità acuta (ipersalivazione, vomito, diarrea, tremori muscolari), tossicità cronica o ritardata (paresi o paralisi che può essere o meno reversibile)
Tetraciclina	Lipidosi epatica, aumento attività ALT, ptialismo, anoressia

Tabella 2. Farmaci utili nel gatto ma con differente tossicità/attività rispetto al cane (da Maddison 2004 *modificato*)

Azatioprina:

agente immunosoppressivo impiegato per il trattamento delle patologie immunomediate. Nel gatto può determinare grave soppressione midollare con insorgenza di leucopenia, anemia e trombocitopenia irreversibili e fatali conseguente ad una reazione idiosincrasica e per la scarsa attività in questa specie animale dell'enzima tiopurina metiltransferasi importante nel metabolismo

di questo farmaco (Beale et al, 1992; Papich, 2006; Plumb, 2008).

Acetominofene (paracetamolo):

farmaco ad azione analgesica ed antipiretica. Per l'incapacità di glicocuronazione nel gatto porta alla formazione di metaboliti tossici, per questo è controindicato il suo impiego a qualsiasi dose. La sua tossicità può manifestarsi con edema facciale, cianosi, metaemoglobinemia, anemia, ittero ed emoglobinuria (Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Fenitoina:

agente anticonvulsivante, impiegato anche per il trattamento delle aritmie ventricolari, ha un'emivita molto prolungata nel gatto (>40 ore) con elevati livelli sierici e conseguente accumulo.

Può determinare sedazione, atassia, anoressia, trombocitopenia ed atrofia dermica (Barthold et al, 1980; Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Propiltiouracile:

farmaco antitiroideo, nel gatto determina l'insorgenza di gravi effetti collaterali quali anoressia, vomito, letargia, anemia emolitica immunomediata e trombocitopenia (Aucoin et al, 1985). Il farmaco di prima scelta per il trattamento dell'ipertiroidismo felino è il metimazolo caratterizzato da maggior efficacia e minori effetti collaterali (Maddison, 2004).

Sodio fosfato:

componente di molti enteroclistmi utilizzati nell'uomo e nel cane per il trattamento della costipazione, nel gatto viene rapidamente assorbito dalla mucosa rettale e può determinare iperfosfatemia fatale, ipoglicemia, ipocalcemia, ipernatremia, iperosmolarità e acidosi metabolica con depressione, atassia, vomito ed ematochezia (Atkins et al, 1985).

Lidocaina:

anestetico locale impiegato anche per il trattamento delle aritmie ventricolari acute. Il gatto presenta un'elevata sensibilità agli effetti della lidocaina a livello di SNC, con facile insorgenza di crisi convulsive dopo il suo impiego. Molti autori sconsigliano per questo il suo impiego nel gatto (Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Cisplatino:

farmaco antineoplastico utilizzato nella chemio-

terapia di carcinomi e sarcomi o per via intracavitaria per il controllo palliativo dei versamenti di origine neoplastica. È controindicato nel gatto per la grave tossicità polmonare primaria dose correlata che determina comparsa di dispnea, idrotorace, edema polmonare e morte (Knapp et al, 1987; Plumb, 2008).

Tiacetarsamide, melarsomina:

principi attivi utilizzati per il trattamento della dirofilariosi cardiopolmonare, molto tossici nel gatto nel quale causano ipertermia e dispnea fino all'edema polmonare fulminante (Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Amitraz:

farmaco antiparassitario tossico nel gatto. È utile evitare il suo impiego in questa specie animale nonostante sia stato impiegato con successo a diluizioni di 125 ppm ogni 7-14 giorni per il trattamento della demodicosi generalizzata (Plumb, 2008).

Permetrine:

antiparassitari tossici nel gatto (Plumb, 2008), in grado di determinare gravi alterazioni neurologiche (iperestesia, tremori generalizzati, fascicolazioni muscolari, ipertermia, convulsioni), fino alla morte (Maddison, 2004).

Acido acetilsalicilico:

antinfiammatorio non steroideo impiegato nel gatto per il trattamento dell'osteoartrite e per la prevenzione dei tromboembolismi in soggetti con grave miocardiopatia. Il gatto è relativamente sensibile ai salicilati per incapacità alla loro rapida metabolizzazione ed escrezione, per questo in questa specie animale ha un'emivita molto lunga (circa 38 ore), con possibilità di accumulo e segni di tossicità quali: iperpernea, ipersensibilità ed ipertermia, grave irritazione gastroenterica con la comparsa di ulcere, vomito e diarrea, emorragia ed acidosi. La dose raccomandata è 10-20 mg/kg ogni 48 ore per l'analgesia e 5 mg/gatto ogni 72 ore per la prevenzione dei tromboembolismi (Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Cloramfenicolo:

antibiotico ad ampio spettro, particolarmente attivo nei confronti dei batteri anaerobi, controindicato in gatti con disordini ematologici preesistenti, con insufficienza epatica e renale dove

ha lunga emivita, ed inoltre nei soggetti gravidi e nei neonati. Può determinare anemia non rigenerativa reversibile per soppressione midollare. La dose raccomandata è di 50 mg/gatto ogni 12 ore per una durata non superiore alle due settimane (Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Digossina:

farmaco cronotropo negativo ed inotropo positivo, impiegato per il trattamento dell'insufficienza cardiaca. Controindicato l'impiego in gatti con miocardiopatia ipertrofica poiché aumenta la richiesta di ossigeno del miocardio, può essere utile nei casi di miocardiopatia dilatativa o insufficienza valvolare atrioventricolare grave (Plumb, 2008). Nel gatto la digossina presenta una emivita estremamente variabile, da 25 a 173 ore. La dose raccomandata nel gatto di 2-3 kg di peso corporeo: 0,0312 mg ogni 48 ore, in gatti tra 4-5 kg: 0,0312 mg ogni 24-48 ore, in gatti di peso superiore a 6 kg: 0,0312 mg ogni 12 ore (Atkins et al, 1990; Maddison, 2004).

Doxorubicina:

antibiotico antraciclico usato come antineoplastico da solo o in associazione, soprattutto per il trattamento del linfoma e dei tumori solidi. Potenzialmente nefrotossico nel gatto, può determinare insufficienza renale se utilizzato a dosi superiori di 20-30 mg/m² oppure 1 mg/kg. Importante monitorare la funzionalità renale prima e durante il trattamento (Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Enrofloxacin:

fluorochinolone ad ampio spettro, impiegato nel gatto specialmente per il trattamento delle infezioni sostenute da batteri Gram negativi e di *Mycoplasma* spp., *Chlamydophila felis* e *Mycobacterium* spp. Nel gatto a dosaggi superiori a 5 mg/kg/24 ore è segnalata una tossicità specie-specifica con degenerazione retinica acuta e cecità (Gelatt et al, 2001). Non è segnalata in questa specie l'insorgenza di artropatia a livello di cartilagini in accrescimento come avviene nella specie canina (Maddison, 2004; Papich, 2006).

Furosemide:

diuretico dell'ansa; il gatto risulta più sensibile ai suoi effetti per questo la massima dose raccomandata è di 1-2 mg/kg ogni 12 ore (Maddison, 2004).

Griseofulvina:

farmaco fungistatico utilizzato per il trattamento delle dermatofitosi, può determinare nel gatto soppressione midollare che si verifica come reazione idiosincrasia specialmente nei gattini con età inferiore a 12 settimane di razza Himalayan, Abissini, persiani e siamesi (Shelton et al, 1990). Il gatto ha una più lenta glicuronazione del farmaco e quindi una più lenta metabolizzazione rispetto a quanto accade nel cane (Plumb, 2008). Particolare sensibilità si osserva nei gatti giovani, nei quali il suo impiego può determinare depressione midollare, effetti neutropenici e panleucopenici, e nei gatti FIV positivi (Maddison, 2004; Papich, 2006). Teratogeno se somministrato nel primo trimestre di gravidanza, nei feti determina palatoschisi, malformazioni scheletriche e cerebrali (Plumb, 2008). È stato sostituito nella terapia antifungina dall'itraconazolo, meglio tollerato e più efficace nel trattamento delle infestazioni sostenute da *M. canis*.

Chetoconazolo:

antifungino il cui impiego è controverso nella specie felina per potenziale epatotossicità ed effetti gastroenterici (nausea, anoressia, vomito e diarrea) dose dipendenti o come reazione idiosincrasica. La dose raccomandata è di 5-10 mg/kg per os ogni 8-12 ore. Nella specie felina è consigliabile impiegare itraconazolo, antifungino dotato di maggior efficacia e tollerabilità (Maddison, 2004; Papich, 2006; Plumb, 2008).

Megestrol acetato:

progestinico sintetico impiegato nel gatto per la soppressione dell'estro e per il trattamento di disordini riproduttivi, comportamentali, oculari e dermatologici. I principali effetti collaterali sono profonda soppressione dell'asse cortico-surrenale ed atrofia dei surreni, diabete mellito transitorio, poliuria, polidipsia, alterazioni del comportamento, aumento di peso, endometrite, iperplasia endometriale cistica, ipertrofia e neoplasia mammaria ed epatotossicità (Maddison, 2004; Plumb, 2008).

Morfina:

analgesico oppiaceo nei confronti del quale il gatto ha recettori con minor affinità e differente distribuzione a livello di SNC e lento

tasso di biotrasformazione dovuto a deficiente glucuronizzazione. Per questo motivo il gatto può mostrare segni di stimolazione del SNC (eccitazione e midriasi). Questi effetti possono essere contrastati dalla somministrazione prima degli oppiacei di sedativi o farmaci neuroleptici (p.e. acepromazina) (Papich, 2006). Derivati morfiniti come meperidina, butorfanolo e buprenorfina vengono impiegati con migliori risultati nella terapia analgesica nel gatto rispetto alla morfina (Maddison, 2004).

Organo fosfati:

sostanze impiegate nel controllo degli ectoparassiti, possono determinare tossicità acuta o cronica nel gatto con insorgenza di paresi e paralisi (Maddison, 2004).

Tetracicline (doxiciclina):

antibiotici batteriostatici principalmente impiegati nel gatto per il trattamento di infezioni sostenute da *Chlamydomphila felis* e *Mycoplasma* spp. Il gatto presenta una maggior sensibilità alla loro potenziale epatotossicità, che si manifesta con insorgenza di lipidosi epatica, scialorrea e anoressia (Maddison, 2004). Inoltre capsule e compresse non completamente deglute possono determinare stenosi esofagee, per questo dopo la loro somministrazione è importante somministrare boli liquidi per bocca (almeno 6 ml di liquido) (Papich, 2006; Plumb, 2008).

Diazepam:

farmaco ad azione sedativa, impiegato nel gatto come oressizzante, per il trattamento dei disturbi correlati all'ansia e alla marcatura urinaria, nel trattamento dell'alopecia di origine psicogena, per il trattamento delle convulsioni e nei casi di ostruzione uretrale o ipertono dello sfintere uretrale (Plumb, 2008). Nel gatto sono descritti casi di reazione idiosincrasica alla sua somministrazione con insorgenza acuta di necrosi epatica e colangioepatite suppurativa con esito spesso mortale per grave insufficienza epatica (Center et al, 1996; Papich, 2006). Per questo prima e durante la sua somministrazione dovrebbero essere eseguiti test di funzionalità epatica. La somministrazione del farmaco deve essere interrotta se compaiono emesi, letargia, disoressia o atassia. Il gatto può manifestare alterazioni comporta-

mentali (irritabilità, depressione, comportamenti aberranti) dopo somministrazione di diazepam (Plumb, 2008).

Corticosteroidi:

la diversità nel metabolismo, nell'assorbimento dopo somministrazione orale e nel numero di recettori rende la specie felina più resistente rispetto al cane nei confronti degli effetti di questi farmaci. I gatti possiedono a livello cutaneo ed epatico la metà del numero di recettori per corticosteroidi rispetto al cane, recettori che inoltre possiedono una minor affinità di legame (Van den Broek e Stafford, 1992). Nel gatto vi è un deficit nella conversione di prednisone nella forma attiva di prednisolone, così che la sua biodisponibilità risulta essere del solo 21% (Papich, 2006). Per questi motivi i gatti richiedono dosi superiori di corticosteroidi rispetto al cane per ottenere gli stessi effetti clinici e tendono a sviluppare minor effetti collaterali, nonostante anche in questa specie, seppur più raramente rispetto a quanto si verifica nel cane, il loro impiego a lungo termine può avere effetti cushingoidi (Plumb, 2008).

BIBLIOGRAFIA

1. Atkins C.E., Tyler R., Greenlee P.: Clinical, biochemical, acid-base, and electrolyte abnormalities in cats after hypertonic sodium phosphate enema administration. *Am J Vet Res*, 1985, 46(4):980-988
2. Atkins C.E., Snyder P.S., Keene B.W., Rush J.E., Eicker S.: Efficacy of digoxin for treatment of cats with dilated cardiomyopathy. *J Am Vet Med Assoc*, 1990, 196(9): 1463-1469
3. Aucoin D.P., Peterson M.E., Hurvitz A.I., Drayer D.E., Lahita R.G., Quimby F.W., Reidenberg M.M.: Propylthiouracil-induced immune-mediated disease in the cat. *J Pharmacol Exp Ther*, 1985, 234(1): 13-18
4. Barthold S.W., Kaplan B.J., Schwartz A.: Reversible dermal atrophy in a cat treated with phenytoin. *Vet Pathol*, 1980, 17(4):469-476
5. Beale K.M., Altman D., Clemmons R.R., Bolon B.: Systemic toxicosis associated with azathioprine in domestic cats. *Am J Vet Res*, 1992, 53(7):1232-1240
6. Center S.A., Elston T.H., Rowland P.H., Rosen D.K., Reitz B.L., Brunt J.E., Rodan I., House J., Bank S., Lynch L.R., Dring L.A., Levy J.K.: Fulminant hepatic failure associated with oral administration of diazepam in 11 cats. *J Am Vet Med Assoc*, 1996, 209(3):618-625
7. Gelatt K.N., van der Woerd A., Ketrang K.L., Andrew S.E., Brooks D.E., Biros D.J., Denis H.M., Cutler T.J.: Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Vet Ophthalmol*, 2001, 4:99-106

8. Knapp D.W., Richardson R.C., deNicola D.B., Long G.G., Blevins W.E.:
Cisplatin toxicity in cats. J Vet Intern Med, 1987, 1(1):29-35
9. Maddison J.E. Special considerations in feline therapeutics. In Chandler E.A., Gaskell C.J., Gaskell R.M.:
Feline Medicine & Therapeutics, 3rd edition, 2004, Blackwell Publishing, pp. 3-11
10. Maddison J.E., Page S.W. Adverse drug reactions. In Maddison J.E., Page S.W., Church D.B.:
Small Animal Clinical Pharmacology. Second Edition 2008, Saunders Elsevier. Chapter 3, pp 41-58
11. Papich M.G.:
Drug therapy in cats: precautions and guidelines. In August J.R. Consultations in Feline Internal Medicine, Volume 5, 2006, St. Louis, Missouri, Elsevier Saunders, pp 279-290
12. Plumb D.C.:
Plumb's Veterinary Drug Handbook, Sixth Edition 2008, Blackwell Publishing
13. Shelton G.H., Grant C.K., Linenberger M.L., Abkowitz J.L.:
Severe neutropenia associated with griseofulvin therapy in cats with feline immunodeficiency virus infection. J Vet Intern Med, 1990, 4(6):317-319
14. Van den Broek, Stafford W.L.:
Epidermal and hepatic glucocorticoid receptors in cats and dogs. Res Vet Sci, 1992, 52:312-315

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

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

VINCITRICE DEL PREMIO AIVPAFE 2009 "LA MIA TESI" IN COLLABORAZIONE CON Eukanuba IAMS

DIAGNOSI MOLECOLARE DELL'AEUROSTRONGILOSIS FELINA

L'aelurostrongilosi del gatto è una malattia parassitaria causata da *Aelurostrongylus abstrusus*, un nematode che, allo stadio adulto, si localizza nel parenchima polmonare dell'animale infestato. Le femmine del parassita, dopo l'accoppiamento, depongono le uova nell'albero respiratorio e, successivamente alla schiusa, le larve di primo stadio risalgono le vie respiratorie arrivando in trachea. Le L1 raggiungono successivamente laringe e faringe, dove vengono deglutite. L'espulsione all'esterno avviene tramite le feci.

In ambiente esterno, in funzione delle condizioni atmosferiche, le larve possono sopravvivere da poche settimane ad alcuni mesi. Il ciclo biologico di *A. abstrusus* richiede l'intervento di ospiti intermedi rappresentati da varie specie di gasteropodi terrestri. Inoltre, numerosi animali possono fungere da ospiti paratenici, e.g. uccelli, rettili e piccoli mammiferi (Figura 1).

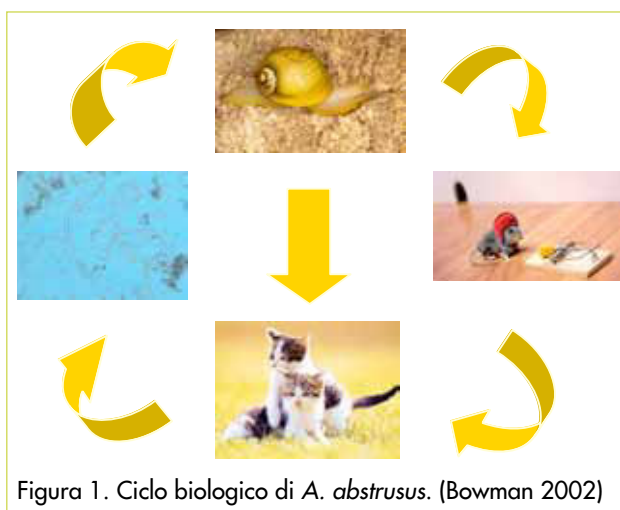


Figura 1. Ciclo biologico di *A. abstrusus*. (Bowman 2002)

L'aelurostrongilosi rientra tra le infestazioni poco conosciute nonostante sia spesso caratterizzata da quadri clinici importanti e possa portare a morte l'animale. La sottostima dell'aelurostrongilosi è legata soprattutto alle difficoltà nel formulare una diagnosi di certezza, dovute sia ai caratteri clinici della malattia sia ai limiti delle metodiche diagnostiche classiche. La sintomatologia è aspecifica e sovrapponibile a quella di altre malattie respiratorie comuni del gatto come infezioni respiratorie virali e batteriche, blastomicosi, criptococcosi, istoplasmosi, toxoplasmosi, paragonimosi, infestazione da *Capillaria*, rinite allergica o linfoplasmocitaria, corpi estranei, po-

Scaramucci Sara
Università degli Studi di Teramo.
Relatore Dott. Donato Traversa

lipi nasofaringei, asma bronchiale o broncopolmonite eosinofila, neoplasie. In alcuni casi l'infestazione decorre in forma asintomatica o con sintomi di scarsa entità e può presentarsi in forma autolimitante. Per questo motivo è difficile, se non impossibile, diagnosticare l'aelurostrongilosi solo su base clinica.

Quando presenti, i primi sintomi a comparire nell'animale sono ipertermia (fino a 40°C), emesi e tosse tendente alla cronicizzazione; i sintomi che successivamente si possono evidenziare sono dispnea, starnuti, rinite con scolo nasale bilaterale e purulento, scolo oculo-nasale, dimagrimento progressivo, disidratazione e, a volte, complicazioni cardiopolmonari (Labrique e Gouffaux, 1974). All'esame obiettivo generale gli animali evidenziano rumori respiratori anomali come rantoli, sibili, murmure vescicolare aspro, ipofonesi alla percussione (Hamilton, 1963; Pampiglione *et al.*, 1990).

La valutazione radiografica del tratto respiratorio può rappresentare uno strumento diagnostico utile ma non permette di diagnosticare con certezza l'infestazione, in quanto anche i segni radiografici variano in relazione alla gravità dei danni provocati dal parassita. I primi segni radiografici sono rappresentati da lieve opacità bronchiale e lesioni focali alveolari. Nei casi più gravi si nota l'aumento dell'opacità interstiziale, addensamenti delle pareti bronchiali, incremento del pattern vascolare a carico del lobo destro caudale e congestione polmonare (Losonsky *et al.*, 1983).

L'immunofluorescenza indiretta si caratterizza per un'elevata specificità degli anticorpi prodotti in corso di aelurostrongilosi e, inoltre, la positività del siero di animali infestati può essere evidenziata già a 3 settimane post infestazione (*p.i.*). Tuttavia, considerata la longevità del parassita nei polmoni (forme adulte sono state ritrovate anche 2 anni *p.i.*) e la conseguente risposta immunitaria di lunga durata, questa tecnica non permette di discriminare un'infestazione in atto da un'infestazione pregressa. Pertanto, essa va comunque supportata dai segni clinici, radiografici e dagli altri metodi convenzionali diagnostici (Hamilton e Roberts, 1968). In ogni caso, a tutt'oggi, non è più una tecnica diagnostica impiegata.

L'unica possibilità di conseguire una diagnosi di certezza è mettere in evidenza la presenza del parassita nell'animale infestato. La ricerca di *A. abstrusus* nel fluido raccolto tramite lavaggio broncoalveolare non sempre fornisce risultati soddisfacenti poiché le larve non sono mai presenti in modo costante e, quindi, pur con la presenza del parassita il lavaggio potrebbe dare esito negativo. Tale limite è legato al fatto che il numero delle uova deposte decresce progressivamente e, intorno ai 2 mesi *p.i.*, le larve sono presenti con una frequenza intermittente che ne rende difficile la loro evidenziazione nel liquido di lavaggio broncoalveolare (Foster *et al.*, 2004).

Il mezzo diagnostico più attendibile e con i maggiori valori di specificità e sensibilità è l'esame coprologico mediante la tecnica di Baermann, che permette di identificare le larve in fase ancora attiva. Per l'esecuzione della tecnica si preleva un'aliquota di circa 2 grammi dal campione di feci e la si pone in un doppio strato di garza che, chiuso a sacchetto, viene lasciato all'interno di un imbuto riempito con acqua di rubinetto e chiuso con un morsetto. Le larve, idrofile, migrano dal campione di materiale fecale nell'acqua. Trascorse 24-48 ore si apre il morsetto e si raccolgono 6-7 ml del sedimento in una provetta.

Si centrifuga a 2000 *rpm* per 5 minuti e si raccolgono 100 microlitri di sedimento da osservare al microscopio. Le L1 vengono quindi riconosciute e differenziate dagli altri parassiti che infestano il gatto mediante esame micrometrico (la lunghezza della L1 è compresa tra 300-380 micron) e dalla presenza di una tipica spina caudale (Blaisdell, 1952; Euzeby, 1981) (foto1).

Se l'animale giunge a morte l'esame necroscopico permette di conseguire diagnosi di certezza tramite l'identificazione delle lesioni polmonari ed il riconoscimento degli adulti, delle larve e delle uova nel parenchima polmonare (Labrique e Gouffaux, 1974).

Tuttavia, tutti gli esami diagnostici convenzionali presentano limiti in termini di sensibilità e, pertanto, il presente lavoro sperimentale ha avuto lo scopo di mettere a punto una metodica molecolare al fine di valutarne l'attendibilità nella diagnosi dell'aelurostrongilosi.



Foto 1. Tecnica di Baermann : L1 di *Aelurostrongylus abstrusus* (originale)

MATERIALI E METODI

Nel periodo compreso tra Dicembre 2005 e Gennaio 2007 nel territorio compreso tra la provincia di Ascoli Piceno e quella di Teramo sono stati selezionati 50 gatti con sintomatologia respiratoria (scolo nasale e/o oculo-congiuntivale, tosse, starnuti) compatibile con l'aelurostrongilosi. I gatti vivevano in gattili (n. 6), colonie urbane (n. 20) o erano di proprietà privata (n. 24). Per ogni animale è stata compilata una scheda segnaletica informativa riportante i seguenti dati: età, sesso (animale intero o sterilizzato), razza, anamnesi remota e recente, sintomatologia respiratoria, trattamenti antiparassitari. Inoltre, per ogni soggetto è stata raccolta la storia clinica seguendo, caso per caso, il decorso della patologia respiratoria. Da tutti i gatti sono stati prelevati un campione di feci ed un tampone faringeo, che sono stati successivamente trasportati entro 24 ore presso il laboratorio di Parassitologia e Malattie Parassitarie del Dipartimento di Scienze Biomediche Comparative dell'Università degli Studi di Teramo. Tutti i campioni di feci sono stati sottoposti ad esame coprologico a fresco, alla metodica di flottazione con soluzione sovrasatura di cloruro di sodio, ad esame per flottazione con solfato di zinco e alla metodica di Baermann. Il tampone faringeo è stato osservato subito dopo il prelievo o dopo reidratazione con soluzione fisiologica entro 24h dal prelievo stesso. Il tampone è stato strisciato su di un vetrino portaoggetti e, dopo aver coperto il

materiale strisciato con un vetrino coprioggetto, il campione è stato osservato al microscopio come precedentemente descritto.

Da questi esami, 6 dei 50 gatti campionati sono risultati positivi per *A. abstrusus*. In particolare, dei sei gatti risultati infestati, 5 erano positivi all'esame a fresco, 1 alla flottazione, 6 alla prova di Baermann e nessuno all'esame a fresco del tampone (foto 2).



Foto 2. Gattino con sintomatologia riferibile ad aelurostrongilosi (originale).

Tutti i campioni sono stati successivamente conservati a -20°C fino all'analisi molecolare. Prima di procedere all'estrazione del DNA, tutte le aliquote di materiale ottenuto sono state sottoposte a 3 cicli di congelamento/scongelo (5 minuti a -196°C e 100°C, rispettivamente).

In particolare, per ogni gatto positivo, sono stati valutati, tramite indagine biomolecolare, gli estratti di DNA ottenuti da feci tal quali, flottato, sedimento del Baermann e muco faringeo. Gli estratti sono stati sottoposti ad una nested PCR, al fine di validare la metodica molecolare. Il primo step ha previsto l'uso di una coppia di primers esterni (NC1-NC2) (Hung *et al.*, 1999) universali per la sequenza ribosomiale ITS2 dei nematodi, mentre nel secondo step sono stati usati primers interni (AabFor-AabRev) specifici per un tratto di 233bp interno alla ITS2 di *A. abstrusus*. Il set di primers AabFor-AabRev è stato disegnato sulla base della sequenza ITS2 del parassita ottenuta precedentemente e disponibile in GenBank (Iorio *et al.*, 2006; Iorio e Traversa, 2007 -GenBank™ Accession Number: DQ372965).

Le condizioni del secondo step sono state selezionate mediante varie prove effettuate con diverse concentrazioni dei primers e differenti quantitativi di template, così come anche variando la temperatura di annealing. Tutti gli amplificati ottenuti sono stati visualizzati con lampada a raggi UV dopo corsa elettroforetica in gel di agarosio al 1.5% al voltaggio di 80V e colorazione in soluzione di etidio bromuro (10mg/ml). Dai risultati ottenuti è stato possibile evidenziare che la nested PCR ivi validata risulta molto più sensibile sugli estratti derivanti dal tampone faringeo piuttosto che sugli estratti derivanti dal campione di feci. Infatti la percentuale di sensibilità sugli estratti da tamponi faringei è risultato superiore (94%), come anche per gli estratti dalla prova di Baermann (94%), rispetto ai valori di sensibilità ottenuti sui campioni di feci tal quale (75%) e dal flottato (88%).

Al fine di confermarne e valutarne la sensibilità in condizioni di campo, una volta validata, tale tecnica molecolare è stata applicata su 32 tamponi faringei individuali prelevati da ulteriori gatti con sintomatologia respiratoria, ma negativi all'esame coprologico per le larve di *A.abstrusus*.

Cinque di questi 32 campioni provenienti da gatti negativi alle metodiche diagnostiche classiche sono risultati positivi alla nested PCR specifica per *A.abstrusus*. E' possibile presumere che i 27 gatti risultati negativi alla PCR fossero effettivamente da considerare non parassitati. Infatti, nonostante questi 27 gatti presentassero sintomi respiratori, compatibili con l'infestazione da *A.abstrusus*, gli stessi sono presenti anche in corso di altre patologie respiratorie del gatto come herpesvirus di tipo 1, calicivirus, clamidofilos, rinotracheite infettiva, bronchiti, polmoniti (batteriche, virali, fungine), forme allergiche (asma felino), polipi nasofaringei, neoplasie (Ettinger e Feldman, 2000).

RISULTATI

Dall'analisi dell'anamnesi e della storia clinica di questi soggetti, è risultato che la maggior parte dei gatti con età tra i 2 mesi e 1 anno sono giunti a guarigione a seguito di una terapia antibiotica. Un solo soggetto presentava 1 polipo faringeo

evidenziato all'endoscopia, responsabile della sintomatologia. Gli altri soggetti sono stati trattati con pomate oftalmiche per clamidofilos e giunti anch'essi a guarigione in circa 8-10 giorni. La maggior parte degli animali su cui è stata effettuata la ricerca, inoltre, non risultavano vaccinati e quindi il quadro sintomatologico è stato riferito prevalentemente a calicivirus, clamidofilos e/o rinotracheite.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il presente lavoro sperimentale dimostra che la nested PCR standardizzata per l'amplificazione specifica del DNA di *A.abstrusus* in campioni di feci e tamponi faringei consente di conseguire diagnosi di aelurostrongilosi felina anche in presenza di animali negativi agli esami diagnostici convenzionali.

Il sequenziamento degli amplificati ottenuti nel secondo step della nested PCR ha dimostrato omologia delle sequenze del 100% con la sequenza ITS2 di *A.abstrusus* precedentemente depositata in GenBank™. Il valore di specificità del 100% della metodica è stato anche confermato dal fatto che durante la validazione della metodica diagnostica sono stati utilizzati campioni provenienti da gatti parassitati non solo da *A.abstrusus*, ma anche da altri parassiti (e.g. coccidi, *Ancylostoma tubaeforme*, *Toxocara cati*) e nessuno di essi ha prodotto prodotti di PCR aspecifici. Un elemento pratico particolarmente importante nella standardizzazione della presente metodica diagnostica molecolare è la possibilità di usare campioni di muco faringeo.

Tale opportunità riveste importanza pratica in quanto risulta molto più semplice e più immediato effettuare un tampone faringeo per la ricerca del parassita in un gatto sottoposto a visita e con sospetta aelurostrongilosi, piuttosto che la raccolta di un campione di feci in animali che molto spesso vivono all'aperto e non utilizzano la lettiera. Pertanto l'estratto del sedimento del Baermann, pur a parità di sensibilità con il muco, risulta meno adatto per la nested PCR. Infatti per effettuare il Baermann sono richieste almeno 48 ore ed esso presenta una sensibilità inferiore al 90%

(Willard *et al.*, 1998). La tecnica molecolare risulta molto più sensibile sulle estrazioni derivanti dal muco faringeo piuttosto che dall'estratto delle feci anche a causa della presenza nel campione coprologico di numerosi enzimi, metaboliti e cataboliti, che vanno ad inibire l'amplificazione del DNA da parte della PCR, oltre che dalla scarsa presenza del parassita. Inoltre, come riportato in letteratura (Traversa e Otranto, 2006), l'estratto di DNA dal muco risulta positivo pur in assenza di forme parassitarie, in quanto la nested PCR è in grado di amplificare il DNA idrosolubile di origine parassitaria presente sul tampone.

Chiaramente, tale metodica molecolare è in grado di superare gli ostacoli della diagnostica classica. Per quanto riguarda l'esame coprologico i risultati risultano essere molto variabili. La metodica migliore per la ricerca coprologica rimane la tecnica di Baermann, con una sensibilità vicina al 90% (Willard *et al.*, 1988), anche se, nella presente ricerca, tutti i gatti positivi lo erano già all'esame a fresco tranne uno. L'esame a fresco tuttavia risulta meno accurato a causa dell'irregolarità della presenza delle larve nelle feci e per la scarsa quantità del campione usato. L'esame per flottazione, come anche l'esame a fresco del tampone faringeo, invece, non si sono dimostrati affidabili. Infatti, i tamponi, pur essendo il miglior substrato da cui effettuare l'estrazione del DNA del parassita, non hanno evidenziato in alcun soggetto la presenza di *A. abstrusus* all'esame microscopico. Inoltre per tre dei sei campioni positivi anche la flottazione risultava negativa lasciando quindi molti dubbi diagnostici.

La negatività dell'esame per flottazione è legata all'elevata pressione osmotica ed alla concentrazione dei sali impiegati, che comportano la fuoriuscita di acqua dalle larve stesse che aumentano in questo modo il loro peso specifico e tendono a sedimentare piuttosto che a flottare. In questo modo la loro evidenziazione risulta difficile (Scott, 1972). Inoltre, in generale, con la diagnostica coprologica non possono mai essere esclusi risultati falsi negativi, poiché la metodica di Baermann ha una sensibilità <100% e le infestazioni precoci non vengono sempre rivelate, soprattutto durante il periodo di prepatenza (di circa 40 giorni) come

anche quelle tardive soprattutto dopo i 5-6 mesi, quando la carica infestante comincia a diminuire (Scott, 1972). Inoltre, e non da ultimo, una volta individuate le larve, il riconoscimento e l'identificazione di queste dipende dall'esperienza e dall'abilità dell'operatore.

La nested PCR standardizzata nel presente lavoro presenta una specificità del 100% e una sensibilità che non può essere calcolata perché l'unica controprova scientificamente attendibile per ottenere questo dato sarebbe stata rappresentata dal sacrificio degli animali e dalla necropsia per ricercare i parassiti nei polmoni. Tale approccio avrebbe potuto comparare la sensibilità assoluta della metodica molecolare con quella dell'approccio necroscopico, sicuramente il più attendibile tra i metodi diagnostici classici, come già dimostrato nella standardizzazione di una metodica diagnostica molecolare per l'abronemosi dei cavalli (Traversa *et al.*, 2004). Per ovvi motivi tale strada non è stata percorsa.

In ogni caso, nonostante la sensibilità della metodica non sia stata calcolata, essa risulta comunque superiore a quella delle metodiche diagnostiche classiche. Infatti la nested PCR ha permesso di evidenziare gatti infestati che risultavano negativi all'esame coprologico.

Tale tecnica, quindi, non solo consente di conseguire diagnosi di aelurostrongilosi superando i limiti della diagnostica classica, ma apre importanti prospettive per studi futuri sulla malattia. In particolare potrà essere impiegata per condurre indagini epidemiologiche in campo per la valutazione della diffusione e della prevalenza dell'infestazione.

Questo risultato è particolarmente importante se si considera che proprio a causa delle limitazioni diagnostiche, questa parassitosi è stata finora sicuramente sottostimata nonostante il parassita sia dotato di importante potere patogeno e in grado di indurre danni a carico del parenchima polmonare degli animali infestati riscontrabili sia microscopicamente che microscopicamente e anche sintomatologicamente.

In conclusione, è possibile quindi affermare che la standardizzazione di tale metodica si è rivelata efficace per la diagnosi dell'aelurostrongilosi pol-

monare del gatto, e ha fornito un valido mezzo diagnostico dotato di elevata sensibilità e specificità, che consentirà di conseguire precocemente la diagnosi corretta e di poter instaurare una terapia tempestiva nei soggetti parassitati.

BIBLIOGRAFIA

- Blaisdell K.F. 1952.
A study of the cat lungworm *Aelurostrongylus abstrusus*.
Ph.D. Thesis, Cornell University, NY, USA.
- Bowman D.D., Hendrix C.M., Lindsay D.S., Barr S.C. 2002.
Feline Clinical Parasitology. Iowa State University. A Blackwell science Company, 267-271.
- Ettinger S. J. e Feldman E. C., 2000.
Trattato di Clinica Medica Veterinaria. Malattie del cane e del gatto. Antonio Delfino Editore, 162-166.
- Euzeby, J., 1981.
Diagnostic expérimental des helminthoses animales. Helminthes parasites de l'appareil respiratoire. Livre 2. Edition "Informations Techniques des Services Vétérinaires", Paris, France, pp. 200-202.
- Foster S.F., Martin P., Braddock J.A., Malik R. 2004.
A retrospective analysis of feline bronchoalveolar lavage cytology and microbiology (1995-2000). *Journal of Feline Medicine and Surgery* 3, 189-198.
- Hamilton J.M. 1963.
Aelurostrongylus abstrusus infestation of the cat. *The Veterinary Record* 75, 417-422.
- Hamilton J.M., Roberts R.J. 1968.
Immunofluorescence as a diagnostic procedure in lungworm disease of cat. *The Veterinary Record* 83, 401-403.
- lorio R., Traversa D., Paoletti B., Lavy E., Aroch I., Giangaspero A. 2006.
Genetic characterization of *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida) and *Spirocerca lupi* (Nematoda, Spirurida) and its implications. *Atti XXIV Congresso della Società Italiana di Parassitologia (SO.I.PA.)*, Messina 21-24 Giugno 2006. *Parassitologia* 48 (1-2), p. 209.
- lorio R., Traversa D. 2007.
New epidemiological and molecular insights into feline lungworm infection. *The Annals of the New York Academy of Sciences*. In corso di stampa.
- Labrique Y., Gouffaux M. 1974.
Pulmonary aelurostrongylosis in a cat. *Annals of Veterinary Medicine* 8, 539-550.
- Losonsky J.M., Thrall D.E., Prestwood A.K. 1983.
Radiographic evaluation of pulmonary abnormalities after *Aelurostrongylus abstrusus* inoculation in cats. *American Journal of Veterinary Research* 3, 478-482.
- Pampiglione S., Canestri Trotti G., Rivasi F. 1990.
L'aelurostrongilosi del gatto: due nuovi casi in Italia. *Parassitologia* 32, 191-193.
- Scott D.W. 1972.
Current knowledge of *Aelurostrongylus abstrusus* in the cat. *Cornell Veterinarian* 63, 483-500.
- Traversa D., Otranto D. 2006.
A new approach for the diagnosis of myiasis of animals: the example of horse nasal myiasis. *Veterinary Parasitology*. 141, 186-190.
- Traversa D., Giangaspero A., Iorio R., Otranto D., Paoletti B., Gasser R.B. 2004.
Semi-nested PCR for the specific detection of *Habronema microstoma* or *Habronema muscae* DNA in horse faeces. *Parasitology* 129, 733-739.
- Willard M.D., Roberts R.E., Allison N., Grieve R.B., Escher K. 1988.
Diagnosis of *Aelurostrongylus abstrusus* and *Dirofilaria immitis* infections in cats from a human shelter. *American Journal of Veterinary Research* 192, 913-916.

INTRODUZIONE

Nella specie felina lo studio dei parametri renali riveste particolare importanza, in quanto i reni sono spesso sede di patologia e pertanto causa di morte in questa specie.

Le indagini di laboratorio utilizzate nella pratica clinica però, o non presentano un' elevata sensibilità (RX), o risultano invasive e non scevre da complicanze (biopsia, TC, RM, MN). Al contrario, l'ecografia può essere d'ausilio nella diagnostica delle patologie renali, in quanto consente una dettagliata visualizzazione della struttura renale e, unita al doppler, fornisce utili informazioni anche sulla funzionalità.

Essendo, inoltre, la sua esecuzione semplice e non dannosa, può essere eseguita ripetutamente, permettendo di seguire l'evoluzione di un processo patologico o la risposta ad un trattamento adottato. Inoltre, grazie alla visualizzazione delle strutture in tempo reale, l'ecografia permette di eseguire ago aspirati e biopsie in modo mirato riducendo i rischi legati alla manovra.

Uno svantaggio è rappresentato dal fatto che si tratta di una tecnica operatore dipendente, ma questa limitazione può essere eliminata utilizzando degli indici quantitativi che ci permettono di correlare un' immagine ecografica ad un dato quantitativo, riducendo la soggettività della valutazione ecografica.

Questi indici possono essere distinti in indici flussimetrici (Indice di Resistività - IR) ed indici dimensionali (Lunghezza, Altezza, Spessore, Volume). Paradossalmente a quanto detto circa l'importanza della tecnica ecografica ridotto è il numero dei lavori in letteratura che propongono dati relativi alle dimensioni ed ai flussi renali nel gatto, o nella gran parte sono riferiti a campioni di esigue dimensioni.

Pertanto lo scopo della tesi è stato di fornire dati relativi ai parametri renali, dimensionali e di flusso arterioso, riferita ad una popolazione di soggetti normali e patologici numericamente consistente.

Il primo studio, relativo ai parametri dimensionali, al quale tutti i libri di testo fanno comunemente riferimento, è stato effettuato da Barrett nel 1972,

PARAMETRI ECOGRAFICI RENALI NEL GATTO

Borghi Vera
Università di Napoli – Federico II

ma le misurazioni ottenute derivano dallo studio di immagini radiografiche, e le misure assolute dei reni vengono normalizzate mettendole in rapporto con la lunghezza del corpo della seconda vertebra lombare per permettere un confronto anche tra soggetti di taglia differente e per annullare l'effetto di magnificazione radiografico. In uno studio condotto da Shiroma su immagini di tipo radiografico è stato dimostrato che le dimensioni renali sono maggiori nei soggetti interi, al contrario non è stata riscontrata nessuna significatività tra la lunghezza renale e l'età del soggetto.

Altri studi sono stati effettuati in seguito da Walter, Jeager, Miyabayashi, Jantur e Luerksen, su immagini di tipo ecografico, fornendo misurazioni più affidabili in quanto espresse in valori assoluti.

Sebbene siano note le differenze tra le dimensioni renali relative al sesso e quelle tra rene destro e sinistro nessun autore le ha quantificate; inoltre, nessun autore ha riportato dei valori riferiti al volume renale anche se, conoscendo le dimensioni degli assi principali del rene è possibile calcolarlo in maniera automatica o manuale.

Anche per quanto riguarda gli studi relativi ai parametri flussimetrici, il numero risulta piuttosto ridotto (Rivers, Mitchell, Novellas), e i risultati ottenuti si sono dimostrati scarsamente sensibili e moderatamente specifici.

Pertanto lo scopo del lavoro è stato di stabilire, in un campione di gatti numericamente consistente, le dimensioni ecografiche lineari e volumetriche, e valutare eventuali differenze tra reni normali e quelli patologici, rene destro e quello sinistro, soggetti di sesso differente e stabilire se ci fosse una correlazione tra le dimensioni e l'età dei gatti.

Infine, in un campione selezionato è stato verificato se l'IR presentasse differenze significative tra i reni normali e quelli patologici raggruppati per tipo di patologia.

MATERIALI E METODI

È stato effettuato uno studio retrospettivo sul database del Centro di Radiologia Veterinaria della Facoltà di Napoli condotto in un periodo compreso tra gennaio 2001 e luglio 2007. Sono stati

inclusi nel campione tutti i soggetti ai quali era stato effettuato un esame ecografico dell'addome, compreso quello dei reni, utilizzando un apparecchio GE mod. Logiq MD 400, equipaggiato con sonda microconvex multifrequenza (range 5,5-8,5 MHz; frequenza centrale 7MHz) e sonda lineare multifrequenza (range 8,5-13 MHz; frequenza 11 MHz) e provvisto di scheda Doppler (Doppler pulsato, Color Doppler e Power Doppler).

Di ogni soggetto sono stati registrati età, razza, sesso, dati anamnestici, dati clinici e di laboratorio ove disponibili.

Sulla base dei dati anamnestici, clinici, dei dati di laboratorio (ove disponibili) ed ecografici, i reni sono stati suddivisi in sei classi:

- normali
- affetti da nefropatia acuta
- affetti da nefropatia cronica
- affetti da idronefrosi
- affetti da malattia policistica ereditaria
- affetti da neoplasie

con le suddette condizioni in forma mono o bilaterale.

La maggior parte delle misurazioni sono state effettuate su soggetti svegli, solo alcuni sedati, e i pazienti prima di essere sottoposti all'esame sono stati preparati effettuando tricotomia e posizionamento.

Per ottenere uno studio completo dei reni del gatto è necessario effettuare le scansioni longitudinale sagittale e trasversale eventualmente integrato con scansioni oblique.

Su tutte le scansioni longitudinali sagittali sono state effettuate le misurazioni della lunghezza (freccia in giallo, a^1) e dell'altezza (freccia in rosso, a^2); per quanto riguarda le scansioni trasversali è stato misurato lo spessore (freccia in verde, a^3).

Questi parametri ci hanno permesso di calcolare il volume (V) dell'organo tramite l'utilizzo della formula dell'ellissoide nei reni per i quali tutte le misurazioni erano presenti:

$$(V=4/3*\pi*1/2a_1*1/2a_2*1/2a_3)$$

È stato effettuato su un gruppo di 21 soggetti ap-



Fig. 1: Scansioni ecografiche longitudinale sagittale (sn) e trasversale (dx); le frecce indicano le modalità di esecuzione delle misurazioni. Freccia gialla: lunghezza, freccia rossa: altezza, freccia verde: spessore.

partenenti al campione, uno studio prospettico per quanto riguarda il valore dell'IR.

A tal fine sono stati campionati i vasi renali, generalmente le arterie interlobari, dove possibile,

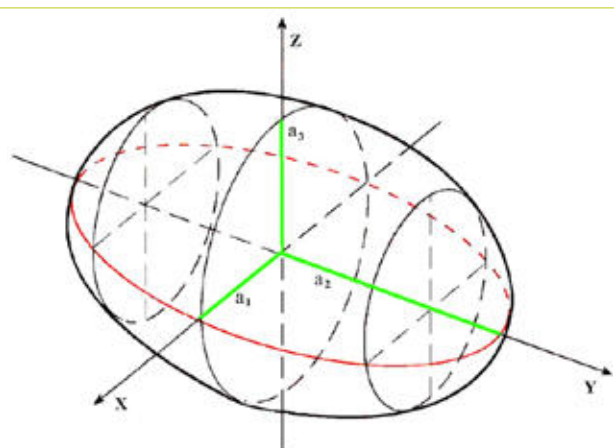


Fig. 2: Rappresentazione schematica di un ellissoide. In verde sono evidenziati i semiassi (a_1 , a_2 e a_3) utilizzati nella formula per il calcolo del volume: $V = 4/3 \cdot \pi \cdot a_1 \cdot a_2 \cdot a_3$.

o più spesso, i rami dell'arteria renale dorsale e ventrale. Negli studi precedentemente riportati si tratta di misurazioni ottenute dal campionamento di vasi più piccoli, generalmente le arterie arciformi.

Per quanto riguarda la nostra esperienza, trattandosi di soggetti svegli, l'IR in vasi di dimensioni troppo ridotte, è risultato difficile da valutare in quanto, risultava complesso mantenere il volume campionato in corrispondenza del vaso stesso. Il nostro volume campionato era impostato a 1 o 2 mm.

Dal campionamento dei vasi si ottiene lo spettro

del doppler sul quale vengono misurati i picchi di velocità sistolica (V_{max}) e diastolica (V_{min}). In alcuni apparecchi questi valori vengono automaticamente messi in relazione tra loro per ottenere il valore dell'IR, ma il calcolo può essere effettuato anche manualmente applicando un'apposita formula :

$$IR = \frac{V_{max} - V_{min}}{V_{max}}$$

Di tutti i dati ottenuti sono stati calcolati la Media, Mediana, Deviazione Standard, Massimo, Minimo e sono stati effettuati dei confronti statistici per quanto riguarda:

- rene normale sn vs rene normale dx
- rene maschi vs rene femmine
- rene maschi interi vs rene maschi castrati
- rene femmine intere vs rene femmine sterilizzate



Figura 3: Scansione ecografica longitudinale sagittale (visualizzazione in Triplex): misurazione dell'Indice di Resistività su un'arteria interlobare in un soggetto normale ($IR = 0.65$). A sinistra dell'immagine è visualizzato il rene in B-mode real time ed il volume campionato; a destra, invece, è visualizzato lo spettro del Doppler Pulsato con i relativi marker sui punti di misurazione.

- reni normali vs reni affetti da nefropatia acuta
- reni normali vs reni affetti da nefropatia cronica
- reni normali vs reni affetti da malattia policistica
- reni normali vs reni affetti da idronefrosi
- reni normali vs reni affetti da neoplasia

Tutte queste categorie sono state analizzate tramite l'analisi statistica della varianza ad una via (ANOVA).

Ancora è stato valutato su:

- tutto il campione
- soggetti normali
- soggetti normali e affetti da nefropatia cronica se eventualmente fosse presente una regressione lineare tra l'età dei pazienti e le dimensioni del rene.

Per tutti i test statistici è stato fissato un valore di significatività del test $I < 0,05$.

RISULTATI

Il campione risultava costituito da 220 soggetti con età media di 8,3 anni, di cui

- 156 europei comuni
- 43 persiani
- 15 siamesi
- 4 certosini
- 1 norvegese
- 1 angora turco

Considerando la condizione renale si ottenevano i seguenti gruppi:

- 191 gatti normali
- 60 nefropatia acuta
- 100 nefropatia cronica
- 10 idronefrosi
- 19 malattia policistica ereditaria
- 18 neoplasia

Per quanto riguarda i confronti effettuati tra reni normali si è evidenziata una lunghezza statisticamente maggiore nel rene di destra e un'altezza statisticamente maggiore nel rene di sinistra.

Per quanto riguarda lo spessore non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra il rene destro e il sinistro (tabella 1).

Effettuando un confronto tra i sessi la lunghezza è risultata maggiore in modo significativo nei reni dei soggetti di sesso maschile, al contrario invece

		Media	Mediana	Dev. St.	Minimo	Massimo	F	P
Lunghezza (mm)	Rene sn	37.5	37.8	3.5	29.4	45.4	14.6	0.00
	Rene dx	39.3	39.4	3.1	31.4	48.3		
Altezza (mm)	Rene sn	24.1	23.8	2.9	16.7	31.8	5.2	0.02
	Rene dx	23.1	22.7	2.9	15.0	30.5		
Spessore (mm)	Rene sn	24.04	24.1	4.8	15.2	31.9	0.66	0.43
	Rene dx	25.3	24.7	2.6	20.3	29.5		
Volume (cc)	Rene sn	11.5	10.8	3.8	5.3	19.1	0.45	0.51
	Rene dx	12.5	12.5	3.3	7.2	15.8		

Tab. 1. Reni normali. Confronti tra le dimensioni del rene destro e di quello sinistro Media, Mediana, Deviazione Standard, Minimo e Massimo delle dimensioni lineari (esprese in mm) e del volume (espresso in cc). Valori della F di Snedecor e della P derivati dal confronto mediante ANOVA (in rosso i valori statisticamente significativi).

nei soggetti sterilizzati sia di sesso maschile che femminile non sono state riscontrate differenze statisticamente significative (tabella 2).

		Media	Mediana	Dev. St.	Minimo	Massimo	F	P
Lunghezza (mm)	F	36.8	37.1	3.05	29.4	44.3	27.8	0.00
	M	39.3	40.0	3.4	31.4	48.3		
Lunghezza (mm)	F Int.	36.4	36.2	2.7	32.3	41.4	0.6	0.44
	F Ster.	37.0	37.3	3.2	29.4	44.3		
Lunghezza (mm)	M Int.	24.1	40.9	2.9	36.1	44.0	1.8	0.18
	M Ster.	23.1	39.5	2.9	31.4	48.3		

Tab. 2. Reni normali. Confronto della lunghezza tra femmine e maschi e tra i soggetti interi e quelli sterilizzati. Media, Mediana, Deviazione Standard, Minimo e Massimo dei dimensioni lineari (esprese in mm) e del volume (espresso in cc). Valori della F di Snedecor e della P derivati dal confronto mediante ANOVA (in rosso i valori statisticamente significativi).

Effettuando invece un confronto tra reni normali e patologici, si è evidenziato che:

facendo un confronto tra reni normali e affetti da nefropatia cronica la lunghezza è risultata maggiore in modo significativo nei reni dei soggetti normali (tabella 3);

	Media	Mediana	Dev. St.	Minimo	Massimo	F	P
Reni normali	38.5	38.6	3.3	31.4	48.3	69.7	0.00
Nefropatia cronica	34.01	39.4	5.2	20.9	48.9		
Reni normali	38.5	38.6	3.3	31.4	48.3	40.6	0.00
Nefropatia acuta	42.4	42.4	5.1	33.3	54.3		

Tab. 3. Confronto della lunghezza tra i reni normali e quelli affetti da nefropatia cronica e da nefropatia acuta. Media, Mediana, Deviazione Standard, Minimo e Massimo dei dimensioni lineari (esprese in mm). Valori della F di Snedecor e della P derivati dal confronto mediante ANOVA (in rosso i valori statisticamente significativi).

facendo un confronto tra i reni di soggetti normali e quelli affetti da nefropatia acuta la lunghezza è

risultata maggiore in modo significativo nei soggetti affetti da nefropatia acuta.

Confrontando i valori dell'IR in soggetti normali e patologici, questo è risultato aumentato in modo significativo nei soggetti affetti da:

- nefropatia acuta
- nefropatia cronica
- malattia policistica

ma non nei restanti casi (tabella 4).

	Media	Mediana	Dev. St.	Minimo	Massimo	F	P
Reni normali	0.62	0.65	0.1	0.44	0.78	4.8	0.048
Nefropatia cronica	0.71	0.72	0.1	0.43	0.99		
Reni normali	0.62	0.65	0.1	0.44	0.78	10.3	0.005
Nefropatia acuta	0.76	0.73	0.03	0.63	0.9		
Reni normali	0.62	0.65	0.1	0.44	0.78	12.52	0.003
Rene policistico	0.82	0.8	0.09	0.74	0.95		
Reni normali	0.62	0.65	0.1	0.44	0.78	1.53	0.24
Idronefrosi	0.71	0.71	0.2	0.54	0.89		
Reni normali	0.62	0.65	0.1	0.44	0.78	0.99	0.34
Reni neoplastici	0.69	0.66	0.09	0.54	0.93		

Tab. 4. Indice di Resistività (IR) arterioso. Confronto tra reni normali e patologici. Media, Mediana, Deviazione Standard, Minimo e Massimo. Valori della F di Snedecor e della P derivati dal confronto mediante ANOVA (in rosso i valori statisticamente significativi).

Andando a valutare la correlazione presente tra la lunghezza dei reni e l'età dei soggetti (regressione lineare):

- considerando il campione generale, dato che la P ha un valore poco significativo, possiamo affermare che c'è una correlazione di lieve entità tra età dei soggetti e lunghezza dell'organo (grafico 1)

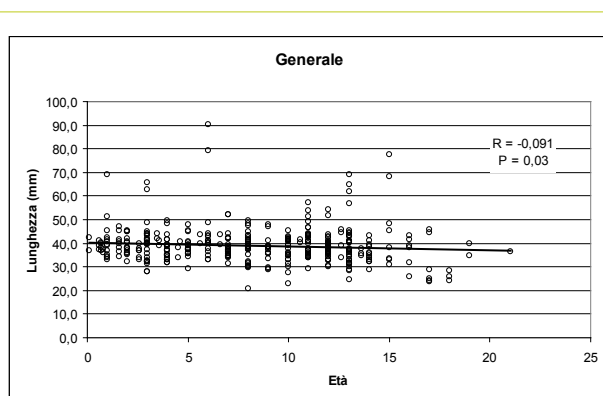


Grafico 1 – Indice di Pearson – Correlazione lineare tra la lunghezza renale e l'età. Utilizzando tutti i dati del campione, quindi sia quelli provenienti da reni normali che quelli da reni patologici, è presente una correlazione negativa statisticamente significativa (al crescere dell'età, diminuisce la lunghezza renale).

- considerando il campione costituito solo dai reni normali non si sono evidenziate correlazioni
- considerando reni normali e reni affetti da nefropatia cronica, come si evince dal valore molto significativo della P, possiamo affermare che c'è una evidente correlazione tra l'aumento dell'età dei soggetti e la diminuzione della lunghezza dei reni (grafico 2).

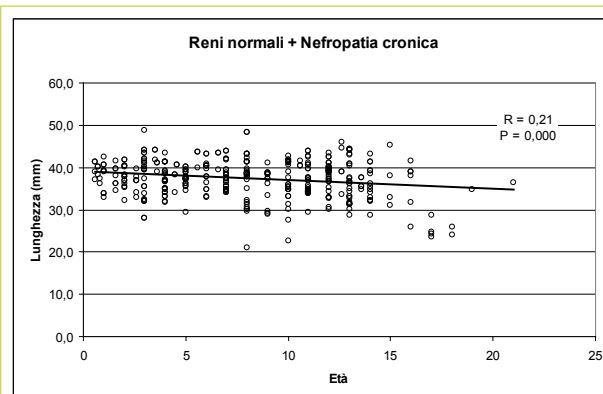


Grafico 2 – Indice di Pearson – Correlazione lineare tra la lunghezza renale e l'età. Utilizzando i dati provenienti da reni normali e da reni affetti da nefropatia cronica la correlazione risulta superiore a quella rilevata considerando tutto il campione.

DISCUSSIONE

Sulla base dei dati ottenuti possiamo dunque affermare che:

- Il rene destro è più lungo del sinistro che al contrario risulta più alto e quindi più globoso. Questo dato non è mai stato riportato prima in letteratura e risulta importante in corso di un esame ecografico per definire correttamente la presenza o meno di una condizione patologica.
- I reni dei soggetti di sesso maschile sono più grandi rispetto a quelli dei soggetti di sesso femminile; anche questo dato, per quanto ovvio, non era mai emerso negli studi precedenti.
- Nessuna differenza significativa è presente in soggetti interi e sterilizzati. Studi precedenti hanno, invece, evidenziato una correlazione negativa tra la lunghezza dei reni e la sterilizzazione, ma probabilmente la differenza di risultati è da correlare al fatto che nel nostro bacino di utenza la sterilizzazione viene effettuata, la maggior parte delle volte, in età adulta, dopo la maturità sessuale, quindi quando già è

avvenuto lo sviluppo completo dell'organo.

- I reni affetti da nefropatia acuta risultano più grandi di quelli normali.
- I reni affetti da nefropatia cronica sono più piccoli di quelli normali.

Per quanto riguarda l'IR risulta aumentato nei soggetti affetti da:

- Nefropatia acuta
- Nefropatia cronica
- Malattia policistica ereditaria

Non risulta invece aumentato nei restanti casi (idronefrosi, neoplasia) probabilmente per l'esiguità del campione.

CONCLUSIONI

Possiamo pertanto concludere che:

- le dimensioni lineari dei reni patologici risultano differenti rispetto a quelle dei reni normali, però bisogna tener conto del fatto che esiste una fascia di sovrapposizione che non ci permette di discernere il dato qualitativo da quello quantitativo, che quindi devono essere necessariamente valutati contemporaneamente;
- i dati da noi ottenuti dell'IR concordano con quelli riportati in letteratura sia per quanto riguarda i valori fisiologici che patologici però anche in questo caso esiste una fascia di sovrapposizione che non ci permette di disgiungere il dato numerico da quello ecografico, e quindi risulta significativo solo in presenza di modificazioni di entrambe.

Bibliografia disponibile richiedendola all'autore

INTRODUZIONE

I batteri del genere *Bartonella* sono considerati tra i più attuali e importanti patogeni emergenti a causa del loro potenziale zoonotico e della loro capacità di infettare persistentemente numerose specie di mammiferi. Si tratta di bacilli e coccobacilli Gram negativi di piccole dimensioni ($0,5-0,6 \times 1,2-2,0 \mu\text{m}$), pleomorfi e aerobi, che vengono definiti "fastidious" a causa della difficoltà della loro coltura *in vitro*, caratterizzata da tempi di crescita molto lunghi (da 5-15 fino a oltre 45 giorni a seconda della specie). Infettano i globuli rossi e provocano una batteriemia intraeritrocitaria cronica, solitamente asintomatica, nell'ospite *reservoir*, dal quale possono essere trasmessi mediante un vettore, rappresentato da un artropode ematofago, ad un nuovo soggetto, che può appartenere alla specie *reservoir* o essere un ospite accidentale. Inoltre sono in grado di invadere le cellule endoteliali e di stimolarne la migrazione e la proliferazione, provocando lesioni di tipo vasoproliferativo. Di solito c'è una relazione di specie-specificità tra ciascuna specie di *Bartonella*, l'ospite naturale e il vettore, che determina il possibile spettro d'ospite e influenza la distribuzione geografica dell'organismo. Alberto Barton identificò *Bartonella bacilliformis* negli eritrociti nel 1909 ed essa è rimasta l'unico membro appartenente al genere fino al 1993, quando i microrganismi del genere *Rochalimaea* sono stati riclassificati nel genere *Bartonella* [Brenner et al., 1993]. Da allora si è assistito all'isolamento di nuove specie (attualmente se ne conoscono più di 20) ed al riconoscimento di nuovi ospiti e vettori.

BARTONELLA spp. NEL GATTO

Il gatto è il mammifero domestico nel quale l'infezione da *Bartonella* spp. è più frequente e provoca una batteriemia persistente e spesso recidivante. Il microrganismo infetta gli eritrociti e le cellule endoteliali generando un'infezione di norma asintomatica. Solo in infezioni sperimentali e raramente in infezioni naturali

INDAGINE DI CAMPO E DI LABORATORIO SULL'INFEZIONE DA *BARTONELLA* spp. IN COLONIE FELINE LIBERE NELLA PROVINCIA DI VENEZIA

Giacomelli Martina
Università degli Studi di Padova

sono stati riscontrati segni clinici di diversa origine come febbre, infiammazione del sito d'inoculo, linfadenite localizzata o generalizzata, letargia, anoressia, disturbi neurologici e, nelle femmine, calo della fertilità e aborti. Le specie di più frequente isolamento nel gatto sono *B. henselae* e *B. clarridgeiae*, delle quali è ospite *reservoir*, e c'è il sospetto che lo sia anche di *B. koehlerae* [Boulouis et al., 2005].

Recentemente nella specie felina sono state identificate anche infezioni da *B. bovis* [Regnery et al., 2000], *B. quintana* [La et al., 2005] e sieropositività a *B. elizabethae* [Hjelm et al., 2002]. Si ritiene che il vettore dell'infezione tra i gatti sia la pulce *Ctenocephalides felis*, che ingerisce il microrganismo durante il pasto di sangue. *Bartonella* spp. si moltiplica nell'apparato digerente del parassita e da esso viene escreta con le feci, nelle quali rimane vitale per almeno 10 giorni [Finkelstein et al., 2002].

La trasmissione dell'infezione tra i gatti avviene quindi per inoculazione di feci di pulci infette, soprattutto mediante graffio o grattamento della cute, meno frequentemente mediante morso [Foil et al., 1998; Finkelstein et al., 2002].

Tuttavia, negli ultimi anni, DNA di *Bartonella* spp. è stato riscontrato in zecche e mosche pungitrici, destando attenzione sul possibile ruolo di altri parassiti ematofagi nella trasmissione dell'infezione [Chang et al., 2001; Holden et al., 2006; Wikswo et al., 2007].

L'infestazione da pulci è il principale fattore di rischio nella trasmissione di *Bartonella* spp. tra i gatti, seguita dall'età degli stessi (sono colpiti soprattutto i giovani), dalla vita all'aperto (sono colpiti soprattutto i randagi) e dal clima (l'infezione è particolarmente diffusa in zone calde-umide, che sono l'habitat ideale per il vettore) [Brunt et al., 2006]. Le indagini condotte negli anni in numerosi Paesi hanno rivelato che l'infezione da *Bartonella* spp. nel gatto è ubiquitaria, con prevalenza variabile sia tra aree geografiche diverse, sia tra popolazioni feline diverse provenienti dalle stesse zone. *B. henselae* è la specie più frequentemente isolata in tutto il mondo: gli esami sierologici hanno rivelato prevalenze comprese tra il 5% e l'80%, mentre i gatti batteriemici

sono risultati essere in alcuni casi solo una piccola percentuale, in altri casi più della metà della popolazione testata, fino all'83%.

Sono stati identificati due genotipi di *B. henselae*, denominati I (Houston) e II (Marseille), che hanno una differente distribuzione geografica. Il genotipo I è più diffuso in Asia, mentre il genotipo II domina in Europa occidentale, in Australia e negli Stati Uniti. *B. clarridgeiae* è meno diffusa, con una prevalenza della batteriemia compresa tra lo 0,5% e il 21%, mentre *B. koehlerae* è molto rara, essendo stata isolata solo da quattro gatti in tre studi diversi [Droz et al., 1999; Rolain et al., 2003; Avidor et al., 2004].

Non è ancora chiaro se la minore frequenza di isolamento di queste due ultime specie di *Bartonella* rispetto a *B. henselae* sia dovuta ad una reale prevalenza limitata o piuttosto ad una maggiore difficoltà di coltivazione *in vitro*.

Le metodiche più frequentemente utilizzate per rilevare l'infezione da *Bartonella* spp. nel gatto sono la ricerca di anticorpi nel siero -che permette di fare diagnosi indiretta-, l'emocoltura e le metodiche biomolecolari, in particolare l'amplificazione del DNA mediante PCR da campioni di sangue o tessuti, delle quali invece ci si avvale per la diagnosi diretta. La sierologia è una metodica rapida e poco costosa, che però non permette di identificare con certezza la specie di *Bartonella* con la quale il gatto è entrato a contatto, a causa della cross reattività degli anticorpi. Inoltre ha un valore diagnostico molto limitato, poiché indica se il soggetto è stato esposto o meno a *Bartonella*, ma non se è infetto. L'emocoltura è il gold standard, perché permette di rilevare la batteriemia, ma è penalizzata dal lungo tempo di incubazione e dalle particolari condizioni necessarie alla crescita del batterio. Inoltre non permette l'identificazione del microrganismo, per ottenere la quale bisogna ricorrere a metodiche biomolecolari.

Queste ultime permettono l'identificazione della specie batterica direttamente da campioni di sangue e necessitano di un tempo di esecuzione ridotto rispetto all'emocoltura. Tuttavia, i dati circa la sensibilità delle metodiche biomolecolari tradizionali rispetto all'emocoltura sono discordanti.

LA MALATTIA DA GRAFFIO DEL GATTO

Le *Bartonelle* del gatto sono anche degli importanti patogeni umani, essendo responsabili della malattia da graffio del gatto (cat scratch disease, CSD), una zoonosi che, secondo alcuni autori [Chmielewski et al., 2007], è la più comune tra quelle ad eziologia batterica trasmesse dagli animali da compagnia. Benché la malattia fosse conosciuta fin dagli anni '30 del secolo scorso, solo nel 1993 è stata associata all'infezione da *B. henselae*. Attualmente anche *B. clarridgeiae* è considerata un possibile agente eziologico della CSD, anche se nell'uomo non è mai stata isolata né individuata con metodiche biomolecolari, ma sono state rilevate soltanto sieropositività. L'esatto meccanismo di trasmissione di *B. henselae* dal gatto all'uomo è ancora poco chiaro, ma sembra avvenire soprattutto mediante il graffio e in misura minore mediante il morso [Charithers, 1985]. Gli artigli del gatto si possono contaminare con feci di pulci infette o con il sangue del gatto infetto durante il grooming [Foil et al., 1998], mentre la cavità orale può venire contaminata attraverso sanguinamenti da patologie gengivali o dentali, o mediante il leccamento della cute contaminata o degli artigli [Fabbi et al., 2004b].

La malattia colpisce soprattutto bambini e giovani ed ha un'incidenza stagionale. Nei soggetti immunocompetenti la CSD si sviluppa nella sua forma classica, di solito autolimitante, caratterizzata dalla formazione nel sito di inoculo di una papula e successivamente di una pustola, linfadenopatia regionale, febbre moderata e malessere. Nel 5-9% dei casi e soprattutto in pazienti immunodepressi la CSD si manifesta in forma atipica, con complicazioni spesso gravi quali la sindrome oculoghiandolare di Parinaud (linfadenopatia periauricolare e congiuntivite palpebrale), encefalite, endocardite, anemia emolitica, epatosplenomegalia, glomerulonefrite, polmonite, batteriemia ricorrente, neuroretinite, mialgia, artralgia e osteomielite. Ogni anno si contano migliaia di casi di CSD in molti Paesi del mondo e, non essendo mai stati svolti studi epidemiologici a riguardo, si ritiene che la diffusione dell'infezione

nell'uomo venga sottostimata. È invece un dato certo che negli ultimi anni lo spettro delle sindromi cliniche umane associate all'infezione da *Bartonella* spp. sia in continua espansione.

SCOPO DEL LAVORO

Questo studio è stato intrapreso con il duplice scopo di indagare la prevalenza dell'infezione da *B. henselae* e da *B. clarridgeiae* nelle colonie feline di una vasta area della provincia di Venezia e di testare, confrontandola con il gold standard, una metodica diagnostica innovativa potenzialmente in grado di superare molti dei limiti delle tecniche finora utilizzate.

Si è ritenuto importante svolgere un'indagine epidemiologica in quanto nell'area considerata non è mai stato svolto uno studio di questo tipo, mentre precedentemente era stata riportata la circolazione di *B. henselae* e di *B. clarridgeiae* in un territorio limitrofo [Miele, 2002-2003], ed anche perché si tratta di una zona nella quale il randagismo rappresenta un problema di notevole entità. Nonostante l'intensivo piano di castrazione dei gatti a vita libera, che annualmente interessa circa 400 soggetti, il numero stimato dei gatti di strada non sembra diminuire, a causa dei continui abbandoni, soprattutto di femmine in gravidanza o dopo il parto, che con i loro piccoli entrano a far parte di una colonia, oppure, più spesso, ne formano una nuova. Si tratta quindi di un'area densamente popolata da gatti randagi, alcuni dei quali vivono anche nei pressi di strutture molto frequentate, quali ospedali e case di riposo, e per questo motivo, se l'infezione da *B. henselae* e *B. clarridgeiae* fosse presente e diffusa nella specie reservoir, potrebbe esserci un alto rischio di trasmissione dell'infezione all'uomo. Nel tentativo di migliorare l'approccio diagnostico alla bartonellosi, rendendo la diagnosi più accurata e più rapida, si è voluta testare una metodica prima mai sperimentata, che è stata messa a punto nel laboratorio di Malattie Infettive del Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria dell'Università di Padova, presso il quale ho svolto il lavoro di tesi.

Si tratta di un protocollo di real-time PCR da applicare direttamente al DNA estratto da sangue, che prevede l'amplificazione della regione intergenica 16S-23S dell'RNA ribosomiale, la quale permette l'identificazione di specie, e si avvale di due sonde fluorogeniche appositamente disegnate dal personale del laboratorio sopra citato per essere complementari e specifiche l'una per la sequenza di *B. henselae*, l'altra per la sequenza di *B. clarridgeiae*. La metodica così impostata dovrebbe permettere di rilevare e identificare entrambe le specie di *Bartonella*, quando presenti, con un'unica reazione. Questo nuovo protocollo di real-time PCR è stato confrontato con la metodica gold standard per valutarne l'applicabilità alla pratica diagnostica di routine. Infatti, per poter stimare la reale prevalenza dell'infezione, è necessario disporre di metodiche diagnostiche adeguate ed efficienti, mentre l'emocultura, che costituisce a tutt'oggi il gold standard per la diagnosi di bartonellosi nel gatto, ha mostrato e continua a mostrare numerosi limiti, legati soprattutto alle particolari esigenze di *Bartonella spp.* in coltura, al lungo tempo necessario per la sua crescita e al non infrequente inquinamento delle piastre. Per ovviare a questi problemi, negli ultimi anni sono state condotte numerose ricerche nell'ambito delle metodologie biomolecolari, allo scopo di ideare una metodica applicabile alla diagnosi di bartonellosi che fosse migliore rispetto all'emocultura.

È stata più volte utilizzata la PCR classica, che però, eseguita su DNA estratto da sangue, ha fornito dati discordanti circa la sua sensibilità rispetto a quella del gold standard, mentre la real-time PCR è stata sperimentata solo in pochissimi lavori svolti in medicina umana.

MATERIALI E METODI

CAMPIONAMENTO

In un periodo di 13 mesi, dal marzo 2006 al marzo 2007, sono stati presi in esame 277 gatti provenienti da 95 colonie di dimensioni variabili e diversamente distribuite nel territorio di competenza della ULSS n°13 di Mirano (VE), che com-

prende 17 comuni, tutti siti in provincia di Venezia (Figura 1).

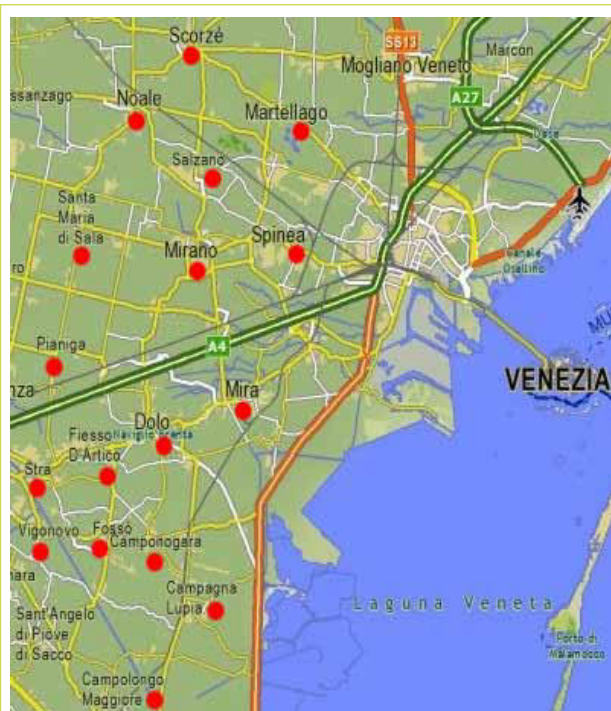


Fig. 1. Distribuzione geografica dei comuni del territorio oggetto dello studio.

Ai gatti, catturati dai volontari di un'associazione zoofila per essere sottoposti a castrazione, è stato eseguito un prelievo ematico rispettando le regole dell'asepsi. I campioni ematici sono stati conservati in provette con anticoagulante, aliquotati il giorno stesso del prelievo e stoccati a -80°C fino all'esecuzione delle analisi.

ANALISI

I campioni sono stati sottoposti alle seguenti analisi:

Emocultura per l'isolamento di *Bartonella spp.*, e successiva caratterizzazione molecolare delle colonie mediante real-time PCR, per identificare *B. henselae* e *B. clarridgeiae*, e per tipizzare *B. henselae*, quando presente.

Real-time PCR per l'identificazione di *B. henselae* e *B. clarridgeiae* direttamente dal sangue.

EMOCOLTURA

Emocultura in atmosfera al 5% di CO₂: Per i primi 104 campioni ematici sono state utilizzate piastre di Columbia agar con il 5% di sangue di coniglio (Sclavo Diagnostics International S.r.l.,

Siena), mentre per i successivi, per problemi di reperibilità e qualità del terreno, sono state utilizzate piastre di Columbia agar con il 5% di sangue di montone (MEUS S.r.l., Piove di Sacco, PD), dopo averne verificato l'efficacia eseguendo alcune semine in doppio nei due terreni. La semina è avvenuta per spatolamento di 1 ml di ciascun campione. Le piastre sono state messe ad incubare a 37°C in atmosfera al 5% di CO₂ e satura di umidità.

Emocoltura in microaerofilia: Le condizioni sopra descritte sono ottimali per la crescita di *B. henselae*, mentre non hanno permesso la crescita di *B. clarridgeiae*. Così, per tentare l'isolamento anche di quest'ultima specie, alcune aliquote di campioni già testati con il protocollo appena illustrato, sono state seminate e messe ad incubare a 30°C ed in microaerofilia (3-5% di O₂ e 10% di CO₂). In entrambi i casi a partire da 5-6 giorni dalla semina è stata effettuata la conta delle colonie sviluppatesi sulle piastre, successivamente ripetuta a giorni alterni per tutta la durata del periodo di incubazione, che si è protratto per 20 giorni. Da ciascuna piastra positiva sono state prelevate alcune colonie per essere sottoposte a colorazione di Gram, mentre altre sono state sottoposte ad una reazione di real-time PCR per l'identificazione di specie, e ad un'altra reazione per la tipizzazione di *B. henselae*.

Real-time PCR per la caratterizzazione molecolare delle colonie

Identificazione di *B. henselae* e *B. clarridgeiae*: Il DNA estratto dalle colonie è stato sottoposto a real-time PCR per l'amplificazione della regione intergenica 16S-23S rRNA, mediante i primer descritti da Jensen [Jensen et al., 2000].

Le sonde utilizzate sono state appositamente disegnate dal personale del laboratorio presso cui ho lavorato. **Tipizzazione di *B. henselae*:** Il DNA delle colonie positive per *B. henselae* è stato sottoposto a due reazioni di real-time PCR in SYBR® Green per l'identificazione del genotipo (I e II), utilizzando le coppie di primer descritte da Bergmans [Bergmans et al., 1996].

Real-time PCR su DNA estratto da sangue

Da un'aliquota degli stessi campioni di sangue sottoposti a coltura è stato estratto il DNA, che è

stato sottoposto a real-time PCR secondo lo stesso protocollo utilizzato per l'identificazione di *B. henselae* e di *B. clarridgeiae* dal DNA estratto dalle colonie.

RISULTATI

SEGNALAMENTO E SEGNI CLINICI

Il campione è costituito soprattutto da soggetti di sesso femminile e giovani. Su un totale di 277 gatti, 87 sono maschi (dei quali uno castrato) e 190 sono femmine (delle quali tre castrate), 161 sono giovani, 105 sono adulti e 11 sono anziani. Quasi tutti i soggetti sono apparsi in buone condizioni di salute, anche se 52 soggetti mostravano segni o sintomi di diverso tipo, in ordine di frequenza: lesioni cutanee, sintomi oculari, respiratori, gastroenterici, stomatite ed otite.

EMOCOLTURA IN ATMOSFERA AL 5% DI CO₂

Le prime colonie erano visibili dopo 7-9 giorni dalla semina, e il loro numero è aumentato fino a 15-18 giorni d'incubazione. La morfologia era eterogenea, con alcune colonie a cavolfiore e grigiastre, altre lisce e bianche, alcune secche e saldamente aderenti al terreno, altre cremose e più facili da staccare. Le dimensioni erano variabili: da puntiformi a 1,5 mm di diametro, in pochi casi anche fino a 3 mm. Di norma le colonie cresciute nella stessa piastra avevano la stessa morfologia, ma in qualche caso coesistevano colonie di aspetto diverso ed anche di dimensioni nettamente diverse. L'entità della batteriemia era molto variabile, da 1 a 1000 ufc/ml di sangue seminato. La colorazione di Gram eseguita su alcune colonie ha rivelato piccoli bastoncelli Gram negativi.

I risultati dell'emocoltura in atmosfera al 5% di CO₂ sono riferiti a 245 campioni, in quanto dei 277 disponibili, 2 erano in quantità insufficiente per l'analisi, mentre 30 hanno dato esito non attendibile. I risultati dell'analisi sono rappresentati in percentuale in Figura 2.

Il 34,7% dei campioni considerati è risultato positivo, il 62% negativo, mentre il 3,3% non era valutabile per precoce inquinamento delle piastre, che sono state quindi eliminate prima del tempo minimo necessario per la crescita delle colonie

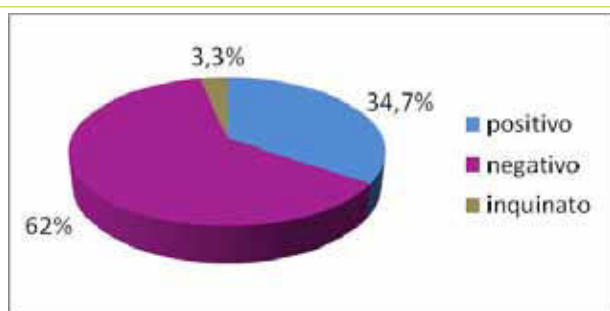


Fig. 2: Distribuzione percentuale dei risultati dell'emocoltura in atmosfera al 5% di CO₂.

di *Bartonella* spp.

Le colonie, sottoposte a caratterizzazione molecolare, sono risultate appartenere tutte a *B. henselae*, con una netta predominanza del genotipo II, come mostrato in Figura 3.

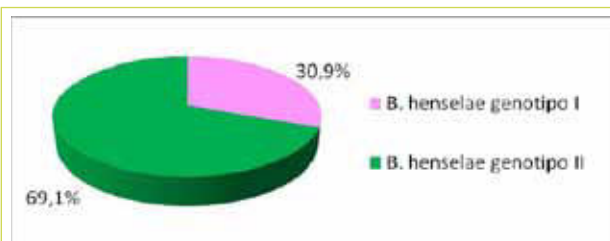


Fig. 3: Esito della tipizzazione delle colonie di *B. henselae*.

EMOCOLTURA IN CONDIZIONI DI MICROAEROFILIA

Le prime colonie sono apparse più tardivamente, dopo 12 giorni, ed anche in questo caso la morfologia era eterogenea. Sono state osservate sia colonie puntiformi, sia colonie di dimensioni considerevolmente maggiori, di colore bianco ma anche grigiastro, alcune piuttosto secche, altre mucose e lucide.

Sono stati testati 22 campioni, già sottoposti a real-time PCR su sangue e risultati positivi a *B. clarridgeiae* o ad entrambe le specie del microrganismo considerate nello studio.

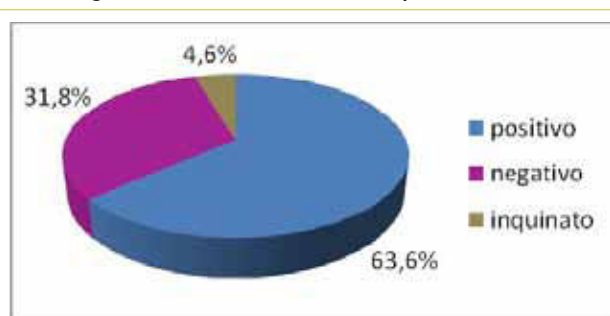


Fig. 4: Distribuzione percentuale dei risultati dell'emocoltura in microaerofilia.

Come si può osservare in Figura 4, più della metà di essi è risultato positivo.

Sulla base dell'esito della caratterizzazione molecolare delle colonie, sono state isolate sia *B. clarridgeiae* che *B. henselae*, con la predominanza di quest'ultima specie, come si può notare in Figura 5. Sono state identificate anche coinfezioni, nel 14,3% dei casi.

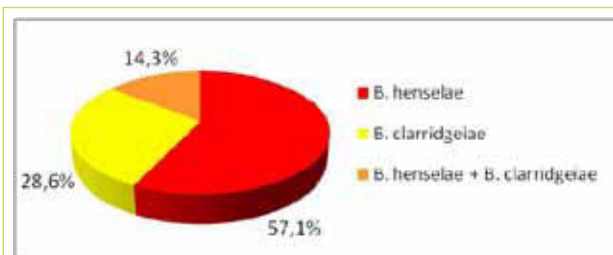


Fig. 5: Esito della caratterizzazione molecolare delle colonie isolate in microaerofilia.

REAL-TIME PCR SU DNA ESTRATTO DA SANGUE

La metodica è stata applicata ai campioni ematici di tutti i 277 gatti considerati nello studio. Più della metà dei soggetti (il 62,8% del totale) è risultata positiva, come mostrato in Figura 6.

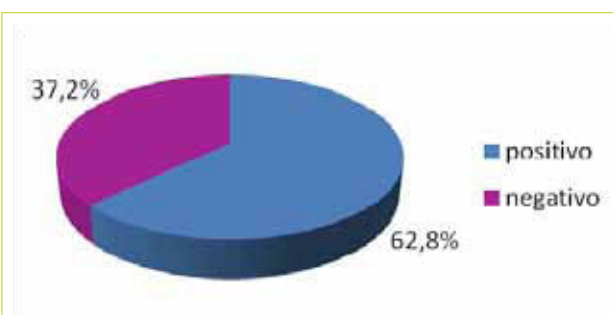


Fig. 6: Distribuzione percentuale dei risultati della real-time PCR sui campioni di sangue.

È stato identificato il DNA di entrambe le specie di *Bartonella*, con la predominanza di *B. henselae* ed una piccola percentuale di coinfezioni (Fig. 7).

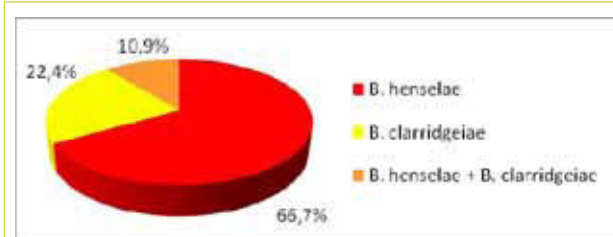


Fig. 7: Percentuale di positività alle diverse specie di *Bartonella* sul totale dei soggetti positivi.

gura 7).

ELABORAZIONI STATISTICHE

I risultati ottenuti sia con l'emocultura in atmosfera al 5% di CO₂, sia con la real-time PCR su DNA estratto da sangue, sono stati messi in relazione al sesso dei gatti considerati, alla loro presunta età, alle loro condizioni cliniche, alla loro provenienza e alla stagione nella quale è stato effettuato il prelievo. L'analisi statistica, eseguita mediante il test univariato del chi-quadrato (χ^2) e mediante l'analisi della regressione logistica multivariata, ha rilevato un'associazione significativa tra risultati ottenuti con entrambe le metodiche diagnostiche impiegate ed il sesso dei gatti, con maggiore frequenza dell'infezione nei maschi, come si può notare osservando le Figure 8 e 9.

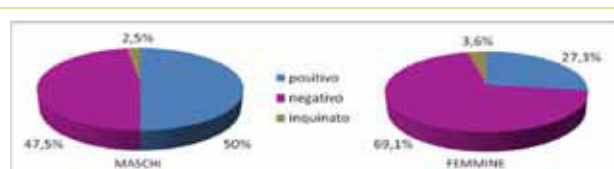


Fig. 8: Esito dell'emocultura in atmosfera al 5% di CO₂ nei maschi e nelle femmine.



Fig. 9: Esito della real-time PCR sui campioni di sangue nei maschi e nelle femmine.

STIMA DELLA PREVALENZA

La prevalenza dell'infezione all'interno della popolazione studiata è stata calcolata con un limite di confidenza del 95% e sono stati ottenuti questi risultati:

- batteriemia: $35,84\% \leq \text{prevalenza} \leq 35,96\%$;
- Bartonella* spp. (*B. henselae* e *B. clarridgeiae*): $62,74\% \leq \text{prevalenza} \leq 62,86\%$;
- B. henselae*: $48,64\% \leq \text{prevalenza} \leq 48,76\%$;
- B. clarridgeiae*: $20,85\% \leq \text{prevalenza} \leq 20,95\%$;
- coinfezione: $6,77\% \leq \text{prevalenza} \leq 6,83\%$.

DISCUSSIONE

ASPETTI EPIDEMIOLOGICI

Sulla base dei risultati ottenuti si può affermare che l'infezione da *Bartonella* spp. è presente e diffusa tra i gatti a vita libera della zona considerata, con positività riscontrate in tutte le località prese in esame. Inoltre la percentuale di gatti batteriemici rilevata (35,8%), è maggiore rispetto a quella riscontrata qualche anno fa in un'altra area della provincia di Venezia, dov'era pari al 18,2% [Miele, 2002-2003], e negli altri studi svolti in Italia fino ad oggi [Cabassi et al., 2002; Ebani et al., 2002; Fabbi et al., 2004a, 2004b], nei quali la percentuale più consistente era pari al 23%. L'infezione da *B. henselae* è più diffusa rispetto a quella da *B. clarridgeiae*, a conferma di quanto riportato in letteratura, così come la maggiore presenza del genotipo II di *B. henselae* è in sintonia con i dati relativi ai Paesi dell'Europa occidentale. La positività per *B. clarridgeiae*, che nel mondo ha una distribuzione irregolare, è simile a quella riscontrata in Indonesia [Marston et al., 1999], in Francia (a Parigi) [Gurfild et al., 2001], in Cile [Zaror et al., 2002] e negli Stati Uniti [Lappin et al., 2006], mentre la percentuale di soggetti coinfecti è simile a quella rilevata in altri studi svolti negli Stati Uniti [Lappin et al., 2006]. L'associazione statisticamente significativa tra il sesso dei gatti ed i risultati ottenuti sia con l'emocultura, sia con la real-time PCR su sangue, con una maggiore frequenza dell'infezione nei maschi, potrebbe avere una spiegazione etologica, legata al fatto che i gatti maschi spesso lottano tra loro, provocandosi graffi, che, sulla base delle conoscenze attuali, sono la principale via di trasmissione dell'infezione. Tuttavia la relazione con il sesso è un argomento dibattuto e non ancora chiarito, in quanto i dati finora disponibili a riguardo sono contrastanti. Non è stata invece riscontrata associazione statisticamente significativa tra l'età dei soggetti e i risultati delle analisi, mentre in letteratura è stata spesso riportata una maggiore prevalenza dell'infezione da *Bartonella* spp. nei gatti giovani [Chomel et al., 1995; Heller et al., 1997; Sander et al., 1997; Maruyama et al., 2001; Melter et al., 2003]. Tuttavia bisogna

considerare che in questo studio non si disponeva di dati certi circa l'età dei soggetti esaminati, che è stata soltanto stimata sulla base dell'aspetto e dell'erosione dei denti permanenti, un criterio poco sicuro, ma l'unico adottabile. Non è stata stabilita una relazione tra infestazione da pulci ed esito dei test diagnostici, in quanto non si sa quanti gatti fossero effettivamente infestati da pulci. Comunque, in alcuni animali, per la maggior parte positivi a *B. henselae* alla real-time PCR, è stato possibile vedere macroscopicamente i parassiti e il test del χ^2 ha rilevato un'associazione statisticamente significativa tra la positività a *B. henselae* e la presenza di pulci.

ASPETTI DIAGNOSTICI

Dal confronto tra emocoltura e real-time PCR sono emersi numerosi limiti della metodica gold standard e utili potenzialità della metodica biomolecolare innovativa testata in questo studio.

Emocoltura

L'esame colturale di campioni di sangue è l'unica metodica che consente di attestare la vitalità del microrganismo e quindi di valutare la presenza di batteriemia nel soggetto dal quale è stato eseguito il prelievo, tuttavia in questo studio ha mostrato di avere molte problematiche che complicano la sua realizzazione e che talvolta la rendono vana. In primo luogo il lungo tempo necessario alla crescita delle colonie batteriche, che comporta notevole ritardo nella diagnosi, e che favorisce lo sviluppo di inquinanti quali muffe e lieviti, che impediscono di valutare il campione seminato. Inoltre, per riuscire ad isolare le diverse specie di *Bartonella* è necessario seminare lo stesso campione su più piastre da incubare in condizioni diverse, infatti abbiamo osservato che fornendo un'unica condizione atmosferica si è sviluppata solamente *B. henselae*. Inoltre lo stesso campione deve essere seminato su terreni diversi, visto che, ad esempio, per l'isolamento di *B. koehlerae* è indicato l'uso dell'agar cioccolato. Ciò comporta la necessità di disporre di incubatori di diverso tipo, un notevole utilizzo di materiali e dispendio di tempo da parte dell'operatore. È altresì necessario disporre sempre di piastre fresche di agar sangue,

non sempre presenti nei laboratori di analisi, poiché la crescita di *Bartonella* spp., e quindi l'esito dell'analisi, è fortemente influenzata dalla qualità del terreno, così come dalle condizioni di stoccaggio dei campioni, che si ripercuotono sulla vitalità dei batteri. Infine, non essendoci terreni selettivi, mediante l'emocoltura non è possibile stabilire con certezza che le colonie isolate appartengano effettivamente a *Bartonella* spp., per la cui identificazione bisogna sempre ricorrere anche a metodiche biomolecolari, aggiungendo uno step che ritarda ulteriormente la diagnosi.

Real-time PCR

Il protocollo di real-time PCR che è stato testato per la prima volta in questo studio, applicato al DNA estratto direttamente dal sangue, ha mostrato numerosi vantaggi rispetto al gold standard. È risultato più sensibile, rivelando positività in molti campioni negativi all'emocoltura, ed ha permesso la contemporanea identificazione del microrganismo e differenziazione di più specie. Quest'ultima proprietà si è rivelata di particolare importanza in quanto ha permesso l'identificazione di *B. clarridgeiae* in numerosi campioni che erano invece tutti risultati negativi nei confronti di questa specie batterica all'analisi con la metodica gold standard, che, se usata come unica metodica, avrebbe indotto ad escludere, erroneamente, la circolazione di *B. clarridgeiae* tra le popolazioni feline del territorio oggetto d'indagine. La real-time PCR ha consentito anche di ridurre drasticamente il tempo di analisi, grazie alla rapidità della metodica nel fornire i risultati ed alla possibilità di processare contemporaneamente numerosi campioni. Eseguendo le reazioni in triplice replica, è stato possibile testare contemporaneamente fino a 29 campioni in poco più di un'ora. Inoltre, l'esito di questa metodica biomolecolare non è influenzato da un eventuale inquinamento dei campioni ematici, né da problemi che possono incorrere durante lo stoccaggio, né da congelamento e scongelamento ripetuti dei campioni di DNA estratto, permettendo di testare più volte la stessa aliquota anche a distanza di tempo. Infine, la real-time PCR non necessita di manipolazione dei prodotti di amplificazione, per cui il rischio

di cross contaminazione dei campioni è minimo rispetto a quello che comportano altre metodiche biomolecolari come la PCR classica. Sono stati riscontrati pochi limiti, che consistono nella possibilità di false negatività (infatti 7 campioni positivi all'emocoltura sono risultati negativi alla real-time PCR) e nella possibile sottostima delle coinfezioni, quando una delle due specie di *Bartonella* è presente in concentrazione notevolmente superiore rispetto all'altra. Queste problematiche sono state identificate grazie al confronto con i risultati ottenuti con la metodica gold standard, tramite il quale è stato possibile mettere in luce alcune incongruenze. Risultati falsamente negativi possono essere conseguenza del fatto che la quantità di sangue analizzata con la real-time PCR (200 µl) è cinque volte inferiore rispetto a quella utilizzata per l'emocoltura, per cui, soprattutto se la batteriemia è scarsa, il batterio può non essere presente nell'aliquota analizzata, oppure essere presente in quantità minima ed inferiore alla soglia di sensibilità della metodica diagnostica. Infatti i campioni che hanno dato risultato falsamente negativo presentavano una batteriemia scarsa, tranne uno. Falsi negativi possono essere causati anche dalla presenza nel campione di DNA di inibitori dell'amplificazione, come l'eme. Questa evenienza può essere verificata, senza la necessità di condurre in parallelo l'emocoltura, costruendo un controllo interno che permette appunto di rilevare un'eventuale inibizione. Per tentare di chiarire la difficoltà nel rilevare coinfezioni sono state svolte analisi di approfondimento consistenti in real-time PCR di diluizioni scalari in base dieci di DNA estratto dal ceppo di riferimento di *B. clarridgeiae*, messe in pozzetti contenenti tutti la stessa concentrazione di DNA estratto dal ceppo di riferimento di *B. henselae*, e viceversa. Tali reazioni hanno permesso di stabilire che l'efficienza della real-time PCR per una delle due specie di *Bartonella* decresce in presenza di un'alta concentrazione dell'altra. In particolare la difficoltà nel rilevare coinfezioni riguarda soprattutto *B. henselae* quando *B. clarridgeiae* è presente ad un livello considerevolmente maggiore, e probabilmente è provocata dalle dimensioni inferiori dell'amplificato di *B. clarridgeiae* rispetto a quello di *B. hen-*

sela. Per questo l'amplificato di *B. clarridgeiae* ha una cinetica più rapida e quindi, se presente in quantità considerevolmente maggiore rispetto all'altro, gli sottrae tutti i reagenti limitandone o impedendone l'identificazione. Questa competizione potrebbe essere evitata utilizzando coppie di primer diverse e specifiche per ciascuna specie di *Bartonella*, che sono in fase di realizzazione presso il laboratorio nel quale è stato svolto lo studio.

CONCLUSIONI

Con questo lavoro è stata rilevata una notevole e attiva circolazione di *Bartonella* spp. tra le popolazioni feline a vita libera del territorio d'indagine. Infatti, sia la percentuale di positività riscontrata mediante metodiche biomolecolari, sia la percentuale di gatti batteriemici, sono piuttosto elevate rispetto a quelle precedentemente riscontrate sia in Italia che in molti Paesi stranieri. Alla luce di questi dati, i gatti randagi del territorio preso in esame rappresentano un rischio reale per la trasmissione dell'infezione all'uomo. Non potendo sottoporli a terapia, trattandosi appunto di gatti a vita libera, è fondamentale la profilassi, per prevenire la trasmissione dell'infezione all'uomo, ma anche ai gatti di proprietà. Per quanto riguarda i gatti randagi, non essendo possibile praticare un controllo del vettore, essa consta di semplici accorgimenti da prendere per evitare di creare situazioni nelle quali sia facile venire morsi o graffiati. Le persone immunocompromesse dovrebbero evitare qualsiasi contatto con gatti il cui stato di salute è sconosciuto, e sarebbe auspicabile che chi decide di adottare un gatto di strada si accerti del suo stato sanitario nei confronti della bartonellosi. Affinché la profilassi venga messa in pratica, però, a mio avviso è necessaria una maggiore presa di coscienza del problema, a partire dagli operatori della Sanità Pubblica e dai veterinari, i quali per primi dovrebbero sensibilizzare le persone che hanno contatti con gatti, portandole a conoscenza della malattia e del suo meccanismo di trasmissione in modo adeguato, senza creare allarmismo. Per quanto riguarda le metodiche diagnostiche, dopo un accurato con-

fronto tra pregi e difetti dell'emocoltura e della metodica biomolecolare, si può affermare che la metodica innovativa di real-time PCR sperimentata per la prima volta in questo lavoro, si è rivelata pratica e molto vantaggiosa come test di screening rispetto al gold standard, sia per ottenere dati utili a fini epidemiologici, sia a scopo prettamente diagnostico. Laddove sia necessario un intervento terapeutico, l'uso della real-time PCR permette di ottenere il responso in tempi brevi e quindi di intervenire tempestivamente. Inoltre, la sua elevata sensibilità può essere particolarmente utile in campo umano, dove l'isolamento di *Bartonella* spp. da soggetti immunocompetenti raramente ha successo. Pur necessitando di modifiche e miglioramenti, si può pensare che il protocollo di realtime PCR testato in questo studio possa fornire un valido contributo allo sviluppo di mezzi diagnostici più efficienti ma anche pratici, necessari in considerazione dell'importante ruolo di *Bartonella* spp. come patogeno emergente nell'uomo e negli animali.

PROSPETTIVE

Dal punto di vista epidemiologico, sarebbe utile eseguire ulteriori studi in altre zone ed anche tra gatti di proprietà, per tenere sotto controllo la situazione e per aumentare le conoscenze, oggi ancora scarse, riguardo un agente zoonotico in crescente espansione. Sul piano diagnostico, invece, sarebbe utile perfezionare il protocollo di real-time PCR testato per superarne i limiti, identificare altre specie di *Bartonella* e quantificarne il genoma. Comprendendo a fondo l'epidemiologia del microrganismo e migliorando le metodiche diagnostiche attualmente disponibili si potrà intervenire più efficacemente sia a scopo profilattico che, quando necessario, a scopo terapeutico.

BIBLIOGRAFIA

1. Avidor B., Graidy M., Efrat G., Leibowitz C., Shapira G., Schattner A., Zimhony O. and M. Gilardi. (2004). *Bartonella koehlerae*, a new cat-associated agent of culture-negative human endocarditis. *J. Clin. Microbiol.* 42 (8): 3462-3468.
2. Bergmans A.M.C., Schellekens J.F., van Embden J.D. and L.M. Schouls. (1996).

Predominance of two *Bartonella henselae* variants among cat-scratch disease patients in the Netherlands. *J. Clin. Microbiol.* 34 (2): 254-260.

3. Boulouis H.J., Chang C., Henn J.B., Kasten R.W. and B.B. Chomel. (2005). Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections. *Vet. Res.* 36: 383-410.
4. Brenner D.J., O'Connor S.P., Winkler H.H. and A.G. Steigerwalt. (1993). Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43 (4): 777-786.
5. Brunt J., Guptill L., Kordick D.L., Kudrak S., Lappin M.R., American Association of Feline Practitioners and Academy of Feline Medicine Advisory Panel. (2006). American Association of Feline Practitioners 2006 Panel report on diagnosis, treatment, and prevention of *Bartonella* spp. infections. *J. Feline Med. Surg.* 8 (4): 213-226.
6. Cabassi C.S., Farnetti E., Casali B., Taddei S., Donofrio G., Galvani G. and S. Cavarani. (2002). Isolation of *Bartonella henselae* from domestic cats in an Italian urban area. *New Microbiol.* 25 (2): 253-257.
7. Chang C.C., Chomel B.B., Kasten R.W., Romano V. and N. Tietze. (2001). Molecular evidence of *Bartonella* spp. in questing adult *Ixodes pacificus* ticks in California. *J. Clin. Microbiol.* 39 (4): 1221-1226.
8. Chmielewski T., Podsiadly E. and S. Tylewska-Wierzbowska. (2007). Presence of *Bartonella* spp. in various human populations. *Pol. J. Microbiol.* 56 (1): 33-38.
9. Chomel B.B., Abbott R.C., Kasten R.W., Floyd-Hawkins K.A., Kass P.H., Glaser C.A., Pedersen N.C. and J.E. Koehler. (1995). *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *J. Clin. Microbiol.* 33 (9): 2445-2450.
10. Droz S., Chi B., Horn E., Steigerwalt A.G., Whitney A.M. and D.J. Brenner. (1999). *Bartonella koehlerae* sp. nov., isolated from cats. *J. Clin. Microbiol.* 37 (4): 1117-1122.
11. Ebani V.V., Cerri D. and E. Andreani. (2002). Cat scratch disease. Survey on the presence of *Bartonella henselae* among cats of Tuscany. *New Microbiol.* 25 (3): 307-313.
12. Fabbi M., De Giuli L., Tranquillo M., Bragioni R., Casiraghi M. and C. Genchi. (2004a). Prevalence of *Bartonella henselae* in Italian stray cats: evaluation of serology to assess the risk of transmission of *Bartonella* to humans. *J. Clin. Microbiol.* 42 (1): 264-268.
13. Fabbi M., Vicari N., Tranquillo M., Pozzi C., Prati P., De Meneghi D., Bertolotti I., Lauzi S., Guiso P. e C. Genchi. (2004b). Prevalence of *Bartonella henselae* in stray and domestic cats in different Italian areas: evaluation of the potential risk of transmission of *Bartonella* to humans. *Parassitologia.* 46 (1-2): 127-129.
14. Finkelstein J.L., Brown T.P., O'Reilly K.L., Wedincamp J. Jr and L.D. Foil. (2002). Studies on the growth of *Bartonella henselae* in the cat

- flea (Siphonaptera: Pulicidae). J. Med. Entomol. 39 (6): 915-919.
15. Foil L., Andress E., Freeland R.L., Roy A.F., Rutledge R., Triche P.C. and K.L. O'Reilly. (1998). Experimental infection of domestic cats with *Bartonella henselae* by inoculation of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) feces. J. Med. Entomol. 35 (5): 625-628.
16. Gurfield A.N., Boulouis H.J., Chomel B.B., Kasten R.W., Heller R., Bouillin C., Gandoi C., Thibault D., Chang C.C., Barrat F. and Y. Piemont. (2001). Epidemiology of *Bartonella* infection in domestic cats in France. Vet Microbiol. 80 (2): 185-198.
17. Heller R., Artois M., Xemar V., De Briel D., Gehin H., Jaulhac B., Monteil H. and Y. Piemont. (1997). Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in stray cats. J. Clin. Microbiol. 35 (6): 1327-1331.
18. Hjelm E., McGill S. and G. Blomqvist. (2002). Prevalence of antibodies to *Bartonella henselae*, *B. elizabethae* and *B. quintana* in Swedish domestic cats. Scand. J. Infect. Dis. 34 (3): 192-196.
19. Holden K., Boothby J.T., Kasten R.W. and B.B. Chomel. (2006). Codetection of *Bartonella henselae*, *Borrelia burgdorferi*, and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes pacificus* ticks from California, USA. Vector Borne Zoonotic Dis. 6 (1): 99-102.
20. Jensen W.A., Fall M.Z., Rooney J., Kordick D.L. and E.B. Breitschwerdt. (2000). Rapid identification and differentiation of *Bartonella* species using a single-step PCR assay. J. Clin. Microbiol. 38 (5): 1717-1722.
21. La V.D., Tran-Hung L., Aboudharam G., Raoult D. and M. Drancourt. (2005). *Bartonella quintana* in domestic cat. Emerg. Infect. Dis. 11 (8): 1287-1289.
22. Lappin M.R., Griffin B., Brunt J., Riley A., Burney D., Hawley J., Brewer M.M. and W.A. Jensen. (2006). Prevalence of *Bartonella* species, *haemoplasma* species, *Ehrlichia* species, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Neorickettsia risticii* DNA in the blood of cats and their fleas in the United States. J. Feline Med. Surg. 8 (2): 85-90.
23. Marston E.L., Finkel B., Regnery R.L., Winoto I.L., Graham R.R., Wignall S., Simanjuntak G. and J.G. Olson. (1999). Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in an urban Indonesian cat population. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 6 (1): 41-44.
24. Maruyama S., Sakai T., Morita Y., Tanaka S., Kabeya H., Boonmar S., Poapolathep A., Chalermchaikit T., Chang C.C., Kasten R.W., Chomel B.B. and Y. Katsube. (2001). Prevalence of *Bartonella* species and 16S rRNA gene types of *Bartonella henselae* from domestic cats in Thailand. Am. J. Trop. Med. Hyg. 65 (6): 783-787.
26. Melter O., Hercik K., Weyant R.S., Janecek J., Nemec A., Mecera J., Gonzorová L. and P. Branny. (2003). Detection and characterization of feline *Bartonella henselae* in the Czech Republic. Vet. Microbiol. 93 (3): 261-273.
26. Miele F. (2002-2003). Indagine sulla diffusione della malattia da graffio del gatto nella popolazione felina a vita libera del litorale veneziano. Università degli studi di Padova, Facoltà di Medicina Veterinaria, tesi di laurea.
27. Regnery R., Marano N., Jameson P., et al. (2000). A fourth *Bartonella* species, *Bartonella weissii*, species nova, isolated from domestic cats. Proceedings of the 15th Sesquiannual Meeting of the American Society of Rickettsiology. p. 15. Captiva Island, Florida.
28. Rolain J.M., Fournier P.E., Raoult D. and J.J. Bonerandi. (2003). First isolation and detection by immunofluorescence assay of *Bartonella koehlerae* in erythrocytes from a French cat. J. Clin. Microbiol. 41 (8): 4001-4002.
29. Sander A., Bühler C., Pelz K., von Cramm E. and W. Bredt. (1997). Detection and identification of two *Bartonella henselae* variants in domestic cats in Germany. J. Clin. Microbiol. 35 (3): 584-587.
30. Wikswo M.E., Hu R., Metzger M.E. and M.E. Ereemeeva. (2007). Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. J. Med. Entomol. 44(1): 158-162.
31. Zaror L., Ernst S., Navarrete M., Ballesteros A., Boro-scheck D., Ferres M. and J. Thibaut. (2002). Serologic detection of *Bartonella henselae* in cats in the city of Valdivia, Chile. Arch. Med. Vet. 34: 103-110.

Annunciano l'assegnazione del

PREMIO "LA MIA TESI"

La partecipazione è riservata a **tutti i Neolaureati in Medicina Veterinaria** presso una Università Italiana, che abbiano conseguito la Laurea nell'anno accademico 2008/2009.

I lavori presentati potranno trattare qualsiasi aspetto della medicina veterinaria purché riguardante il gatto (es. Medicina Interna, Alimentazione, Chirurgia, etc.).

Gli interessati dovranno far pervenire, per raccomandata, **entro e non oltre il 31/03/2010** (farà fede il timbro postale) la seguente documentazione:

- ❧ Fotocopia della carta d'identità;
- ❧ Certificato di Laurea;
- ❧ Sunto della tesi su CD-Rom (max 10 pagine comprese immagini) in formato Pdf o Word.
- ❧ Copia completa della tesi su CD-Rom in formato Pdf o Word;
- ❧ Recapiti dell'autore della tesi, liberatoria per pubblicazione del testo e consenso al trattamento dei dati.

Il materiale sopra indicato dovrà essere recapitato a:

AIVPAFE c/o Medicina Viva, Via Marchesi 26/D – 43126 Parma.

Tutti i lavori pervenuti saranno pubblicati su RASSEGNA DI MEDICINA FELINA Rivista Ufficiale AIVPAFE, in forma di riassunto con le modifiche editoriali che si dovessero ritenere necessarie.

L'autore della Tesi Vincitrice verrà informato con lettera raccomandata e potrà esporre (15 minuti) il proprio lavoro durante il Congresso Nazionale Aivpafe 2010 nell'ambito del quale riceverà il premio **"LA MIA TESI"**.

AIVPAFE offrirà al Presentatore della Tesi selezionata la quota d'iscrizione gratuita per l'anno 2010 all'Associazione, la possibilità di partecipare gratuitamente a tutti i Congressi promossi da AIVPAFE nell'anno 2010 oltre ad un interessante riconoscimento economico.





Il Cat Group è stato fondato nel 2000 in Inghilterra ed è costituito da un'insieme di associazioni professionali che hanno come principale interesse il benessere dei felini, attraverso la creazione e la promozione di direttive e raccomandazioni riguardanti la cura e la gestione di tutti i gatti.

COME GESTIRE IL GATTO DIABETICO

Il diabete rappresenta una condizione patologica molto complessa causata dalla mancata produzione (relativa o assoluta) di insulina che provoca iperglicemia (concentrazioni di glucosio elevati nel sangue) e glicosuria (presenza di glucosio nelle urine). Il diabete mellito si riscontra più frequentemente nei gatti anziani. I soggetti più a rischio sono invece i gatti maschi castrati ed obesi. Nell'uomo esiste una predisposizione genetica a questa malattia. Recenti studi, condotti soprattutto in Australia e Nuova Zelanda, sembrano confermare anche per il gatto lo stesso coinvolgimento genetico per tale patologia. In questi due Paesi è stata infatti dimostrata la predisposizione al diabete per la razza Burmese e l'analisi di una serie di pedigree ha confermato il carattere ereditario della malattia per questa razza.

IL RUOLO DELL'INSULINA

L'insulina viene prodotta dal pancreas, piccolo organo situato nell'addome, vicino a stomaco e fegato. Viene poi immessa nel torrente circolatorio perché possa penetrare nei diversi tessuti.

Il suo ruolo consiste nel permettere alle cellule di assorbire lo zucchero (glucosio) necessario come fonte energetica. Questa inoltre stimola l'assorbimento da parte delle stesse cellule di altre sostanze fondamentali, quali aminoacidi (strutture portanti delle proteine), acidi grassi (costituenti delle membrane cellulari), potassio e magnesio. A livello epatico l'insulina svolge l'importante funzione di stimolare la sintesi del glicogeno (forma di riserva energetica dei carboidrati) e del grasso e di ridurre la quantità di glucosio prodotto e rilasciato in circolo.

Diabete mellito

I gatti diabetici soffrono di una carenza d'insulina assoluta o relativa, la quale determina comunque una mancata assunzione di glucosio da parte delle cellule tissutali e, di conseguenza, un'iperglicemia. Le cellule "affamate" di zucchero, e quindi di energia, iniziano ad utilizzare altre fonti energetiche, quali grassi e proteine.

Si verifica così un crollo di tali riserve energetiche accompagnato da perdita di peso ed accumulo

Traduzione a cura della Dott.ssa C. Bettini

Con il contributo di

FORTEKOR® Flavour
Prendi di più dalla vita

di sostanze tossiche di rifiuto che può precipitare in una "crisi diabetica" (chetoacidosi).

Una deficienza assoluta di insulina può derivare dall'incapacità del pancreas di sintetizzare tale sostanza. Tuttavia, sembra che per molti gatti il diabete sia provocato dalla presenza contemporanea di due situazioni, e cioè da un'escrezione insufficiente d'insulina insieme ad una cosiddetta "resistenza periferica" all'insulina stessa, nella quale le cellule dell'organismo non rispondono come dovrebbero alla stimolazione di quest'ormone. Tale resistenza può essere provocata da diversi fattori quali ad esempio la gravidanza, l'obesità, l'assunzione di alcuni farmaci (cortisonici tipo prednisolone, progestinici, es. megestrolo acetato), altre patologie ormonali come l'iperadrenocorticismo (tumore dell'ipofisi delle ghiandole surrenali che provoca eccessiva produzione di corticosteroidi) o l'acromegalia (tumore che causa una sintesi eccessiva di ormone della crescita).

Segni clinici

Nei gatti diabetici l'iperglicemia è così grave da provocare l'escrezione del glucosio con l'urina (glicosuria). Durante tale passaggio questo zucchero trascina con sé una certa quantità d'acqua aumentando il volume stesso dell'urina prodotta (poliuria). Per compensare questa perdita di liquidi e prevenire così anche la disidratazione, il gatto sviluppa un aumento notevole della sete (polidipsia compensata). Altri sintomi importanti, per i quali il gatto viene di solito portato dal veterinario, sono il dimagrimento e l'appetito vorace. Per riassumere dunque, i sintomi principali del diabete mellito sono:

- perdita di peso
- polifagia (appetito vorace)
- poliuria/polidipsia

Questi sintomi non sono comunque sempre presenti o possono passare inosservati. Ad esempio, l'aumento della sete può non essere notato dal proprietario se il gatto beve normalmente fuori casa.

Altri sintomi comprendono:

- sforzo durante la minzione e/o presenza di sangue nelle urine associate ad infezione batteri-

ca delle basse vie urinarie (cistite batterica)

- aumento delle dimensioni del fegato (epatomegalia)
- pelo spento, opaco.

In un numero ristretto di pazienti diabetici le terminazioni nervose degli arti, soprattutto di quelli posteriori, possono essere colpiti da neuropatie periferiche e tali lesioni si manifestano con una postura particolare di tipo plantigrado (gatto seduto sui garretti). Gli occhi, più raramente, possono essere colpiti da cataratta e da alterazioni retiniche; possono manifestarsi anche alterazioni della visione fino ad arrivare, in alcuni casi, alla cecità. L'ipertensione sistemica (aumento della pressione sanguigna) rappresenta una potenziale complicazione del diabete nell'uomo e viene riferito anche per il gatto in un certo numero di casi. Molti gatti diabetici sembra riescano a vivere bene anche a lungo; la principale complicazione in un gatto non controllato regolarmente è la chetoacidosi. In questo caso l'animale apparirà estremamente depresso con segni clinici quali vomito, diarrea, perdita completa dell'appetito, disidratazione, per arrivare talvolta a collasso e coma. Questi sono ovviamente casi clinici da sottoporre con urgenza a controlli e visite veterinarie.

Diagnosi

Si sospetta un diabete mellito quando si riscontrano i segni clinici sopra descritti, tenendo conto però del fatto che esistono altre malattie con sintomi simili. Nei gatti anziani, ad esempio, bisognerà escludere quelle patologie che provocano anch'esse dimagrimento quali ad esempio l'insufficienza renale, i tumori, l'ipertiroidismo o IBD (Intestinal bowel disease, malattia infiammatoria intestinale). Più precocemente viene diagnosticato il diabete, meglio è. Per questo motivo è raccomandabile effettuare di routine il test sulle urine in gatti di età superiore ai sette anni.

Per confermare la diagnosi di diabete sono necessari esami del sangue e delle urine. Sebbene l'iperglicemia e la glicosuria siano tipiche di questa patologia, bisogna considerare che gatti non diabetici ma sottoposti ad uno stress particolare possono sviluppare un'iperglicemia tale da pro-

vocare anche glicosuria. Per questi motivi, il fatto di trovare del glucosio nel sangue o nelle urine non basta a fare una diagnosi di diabete. Una soluzione valida sarebbe chiedere al proprietario di raccogliere l'urina quando il gatto non si trova in una situazione di stress. Il metodo più semplice per prelevare l'urina direttamente dalla cassetta è quello di utilizzare una sabbietta speciale, non assorbente (fig.1) al posto di quella normale, oppure della ghiaia da acquari. Le urine devono essere poi portate dal veterinario per effettuare le analisi. In alternativa si può effettuare il test a casa con delle strisce reattive (fig.2).



Fig. 1: raccolta delle urine con sabbietta non assorbente



Fig. 2: strisce reattive per il test rapido sulle urine (ricerca glucosio e chetoni)

Un'altra possibilità per identificare il tipo di iper-

glicemia consiste nel misurare i livelli di fruttosamina nel sangue, parametro che ci indica se la condizione persiste da tempo od è molto recente, cioè associata allo stress. La fruttosamina è una proteina sierica glicosilata, presente nel sangue ad elevate concentrazioni quando persistono livelli elevati di glucosio. Il suo aumento indica che la condizione iperglicemica persiste da due-tre settimane. Questo test può essere utilizzato anche per il monitoraggio a lungo termine sull'efficacia della terapia.

Possibilità terapeutiche

Il diabete rappresenta di solito una condizione trattabile che richiede però un impegno importante da parte del proprietario e può diventare una situazione difficile da gestire.

Gestione dei fattori predisponenti

La gestione iniziale del paziente diabetico dovrebbe prevedere il controllo dei fattori predisponenti che hanno provocato od aggravato il diabete, come l'obesità o l'assunzione di certi farmaci. Se non sono state identificate le cause predisponenti o sono state eliminate ed il diabete persiste, si deve ricorrere ad un trattamento mirato della patologia.

Gestione della dieta per i soggetti obesi

I gatti diabetici ma sottopeso avrebbero bisogno di un maggiore apporto proteico nella razione per recuperare il giusto peso. I gatti diabetici ma obesi dovrebbero seguire una dieta dimagrante, sotto il controllo diretto del veterinario. L'obesità interferisce nell'attività dell'insulina ed infatti risolvendo talvolta questo problema si risolve anche il diabete.

La ricerca ha messo in luce come razioni a basso contenuto di carboidrati ed elevato apporto proteico possano aiutare a ridurre la dose di insulina e migliorare la gestione del diabete. Esistono in commercio una grande quantità di mangimi pronti con un basso tenore in carboidrati studiati proprio per i gatti diabetici.

Sarebbe poi raccomandabile, per quanto possibile, mantenere una certa costanza sia per quan-

to riguarda gli orari che il contenuto dei pasti. Alterando il regime alimentare si corre il rischio di compromettere un diabete ormai stabilizzato. Non è necessario comunque somministrare i pasti ad orari rigidi; basterebbe assecondare gli orari a cui il gatto è già abituato.

Terapia con insulina

Nella maggior parte dei gatti la terapia con insulina rappresenta il trattamento più efficace, perlomeno all'inizio. L'insulina viene somministrata attraverso iniezioni nel sottocute della nuca una o due volte al giorno, a seconda delle esigenze del paziente. Il sito d'inoculo dovrebbe essere cambiato ogni giorno, per evitare microtraumi o lesioni che potrebbero compromettere l'assorbimento del farmaco. Le siringhe da insulina possiedono un ago molto sottile. I veterinari comunque consigliano di offrire del cibo durante l'iniezione per distrarre il gatto.



Fig 3: sono disponibili diversi tipi d'insulina; in fig. anche le siringhe speciali da insulina che possiedono aghi molto sottili.

Molto importante è somministrare il farmaco sempre alla stessa ora, decisa insieme al veterinario. Esistono in commercio diversi tipi d'insulina: alcuni gatti rispondono meglio ad un tipo anziché ad un altro. Quelle con durata d'azione intermedia (es. Caninsulin, vincitrice del premio FAB "Easy to give") e quelle a lunga durata sono quelle prescritte più comunemente. L'insulina zinco protamina ha una durata d'azione lunga, il che significa che in alcuni casi è sufficiente un unico trattamento giornaliero. In altri casi due volte al giorno, poiché esistono livelli di assorbimento individuali molto variabili. Anche il dosaggio varia da gatto

a gatto e possono essere necessarie diverse settimane per stabilire quello giusto. Molti veterinari infatti ricoverano il gatto per trovare il dosaggio più adeguato.

L'insulina dev'essere conservata in frigo e per ogni gatto dev'essere utilizzata una confezione nuova, che verrà usata solo per quel gatto. Prima di prelevare dal flacone con la siringa, questo dev'essere agitato dolcemente, in modo da ottenere una sospensione omogenea: se agitato con troppo vigore si possono rompere le catene dell'insulina, diminuendo così l'efficacia del farmaco. Le dosi dell'insulina vengono misurate in unità; alcune preparazioni contengono 40 unità, altre 100 per ml. Per essere sicuri di attenersi scrupolosamente al dosaggio prescritto bisognerebbe sempre usare le apposite siringhe in commercio (da 40 a 100 unità). Il veterinario comunque preparerà il farmaco e ne varierà la dose ogni 2-4 settimane: la preparazione va rigorosamente conservata in frigorifero e maneggiata come già descritto per l'insulina.

Monitoraggio del gatto ospedalizzato

Per stabilizzare un gatto diabetico è necessaria una rigorosa gestione. Durante il ricovero il paziente dev'essere monitorato molto attentamente per verificare l'efficacia del trattamento ed eventualmente cambiarlo. Una prima stabilizzazione iniziale può richiedere da qualche giorno ad un paio di settimane. Durante questo periodo vengono considerati diversi parametri.

Depressione:

la maggior parte dei gatti diabetici appaiono vispi ed allegri, se invece s'instaura chetacidosi il paziente può diventare molto depresso e presentare segni clinici quali vomito, diarrea, respiro affannoso, disidratazione e collasso. Nei casi più gravi può sopraggiungere anche morte improvvisa, motivo per cui è necessario agire molto rapidamente.

Appetito:

quasi tutti i gatti diabetici presentano un appetito vorace, che di solito persiste anche dopo la stabilizzazione clinica.

Consumo di acqua:

è opportuno monitorare questo parametro per-

chè i gatti diabetici manifestano una sete esagerata. Si riduce drasticamente il consumo di acqua quando la malattia è sotto controllo. La quantità d'acqua assunta quotidianamente da un gatto che mangia cibo umido è di ca. 10-20 ml per chilogrammo di peso corporeo.

Analisi delle urine:

il controllo delle urine permette di valutare se persiste la glicosuria, anche se bisogna tenere presente che nei campioni prelevati al mattino anche da gatti che rispondono bene al trattamento il glucosio è ancora presente. Per tale motivo il solo controllo delle urine non è attendibile per una gestione adeguata del gatto diabetico. Resta comunque un esame molto utile per identificare eventuali infezioni alle basse vie urinarie (analisi del sedimento urinario ed urinocoltura) o la presenza di chetoni, presenti nel caso di un diabete non adeguatamente controllato e che dunque necessita di un aggiustamento terapeutico.

Controllo del glucosio:

il controllo periodico della glicemia consente un buon monitoraggio delle condizioni del paziente. L'unica situazione in cui questo tipo di procedura sarebbe sconsigliata è quella in cui l'iperglicemia è associata a stress dell'animale. In questi casi uno stratagemma utile per effettuare i prelievi seriali potrebbe essere l'applicazione di un catetere intravenoso.

Gli obiettivi del controllo ematico del glucosio sono:

- individuare il momento del picco dell'insulina;
- determinare la durata d'azione dell'insulina: è importante sapere se questa è sufficiente o se la dose o la frequenza delle iniezioni devono essere variate in modo da essere più appropriate al paziente conoscere il valore più basso per la glicemia che viene raggiunto dopo la somministrazione di insulina; in condizioni ottimali non dovrebbe mai scendere al di sotto di 5-9 mmol/l (90 -160 mg/dl) e dovrebbe restare per la maggior parte della giornata intorno 14 mmol/l (250 mg/dl). Se la risposta all'insulina non è sufficiente bisognerà aumentare la dose.

Dunque è importante che i livelli ematici di glucosio non scendano al di sotto di un certo valore: un'ipoglicemia con valori di glucosio inferiori a



Fig.4: Glucometri

4 mmol/l (70 mg/dl) è pericolosa e al di sotto di tale soglia si possono avere gravi danni, addirittura anche la morte del soggetto. In questi casi ovviamente la dose di insulina va ridotta.

Per evitare prelievi di sangue troppo frequenti è raccomandabile fissare degli orari: ad esempio è opportuno effettuare un prelievo prima della somministrazione di insulina, quindi proseguire con prelievi corrispondenti al picco d'azione del farmaco. La dose dell'insulina varierà in relazione ai risultati ottenuti ed una volta stabilita la dose corretta, si procede all'elaborazione di una curva glicemica che copra 24 ore di monitoraggio, in modo da avere una situazione completa del paziente. Per fare questo si effettuano numerosi prelievi (circa 1 ogni 1 o 2 ore), fino a quando il livello di glucosio non ritorna ai valori precedenti all'iniezione da insulina. Le informazioni ottenute riguardano la durata ed il momento del picco d'azione del farmaco. Se fosse necessario variare la dose d'insulina, questo deve avvenire molto lentamente, stando attenti a non incorrere in sovradosaggi e conseguenti crisi ipoglicemiche.

Controllo del peso:

questo è un aspetto molto importante perchè un diabete scompensato può portare ad una perdita di peso eccessiva. Invece, con una buona stabilizzazione clinica, anche gatti eccessivamente ma-

gri riescono a prendere peso; bisogna comunque stare attenti che, una volta migliorati, non ingrassino eccessivamente. Per i gatti obesi bisogna impostare una dieta dimagrante.

Una volta stabilizzato, il paziente può tornare a casa, affidato alle cure del proprietario. La gestione di un gatto diabetico richiede però notevole attenzione.

GESTIONE DEL PAZIENTE DIABETICO A CASA

I proprietari di gatti diabetici devono essere consapevoli del fatto che la routine dei comportamenti è molto importante nella gestione del loro animale ammalato. La tecnica per fare le iniezioni sottocutanee di insulina viene insegnata dal personale dell'ospedale veterinario, utilizzando per le esercitazioni della soluzione salina. L'orario della somministrazione del farmaco deve essere adattato allo stile di vita del proprietario anche se poi deve rimanere costante. La dose dell'insulina non dev'essere variata in nessun caso senza aver consultato il veterinario: una delle principali cause di fallimento nella stabilizzazione del paziente a casa è proprio la scorretta gestione del farmaco da parte del proprietario.

Quando il gatto viene dimesso dalla clinica veterinaria il proprietario dev'essere informato sulle eventuali complicazioni del diabete, alle quali dovrà prestare particolare attenzione una volta a casa: atteggiamento depresso, aumento della sete, ecc.

Se possibile il proprietario dovrebbe tenere un diario aggiornato nel quale annotare:

- orario d'iniezione dell'insulina
- dose di insulina somministrata
- quantità di cibo offerta e consumata dal gatto (e orario di somministrazione del pasto, che non va gestito *ad libitum*)
- quantità di acqua bevuta nell'arco della giornata
- comportamento di tipo depresso

Utile fare a casa test (striscette reattive, fig 2) sulle urine per valutare i livelli di glucosio e dei chetoni. Aumenti del glucosio da un giorno all'altro non devono destare eccessiva preoccupazione:

se invece le variazioni sono notevoli e c'è comparsa di chetoni bisognerà contattare immediatamente il veterinario. Buona abitudine, se possibile, sarebbe pesare il gatto una volta alla settimana.

Motivi di preoccupazione urgente da parte del proprietario

È importante che il proprietario impari a riconoscere quelli che sono i campanelli d'allarme, che necessitano quindi di un rapido intervento da parte del veterinario.

A) Ipoglicemia

La complicazione più frequente una volta a casa è quella della crisi ipoglicemica. Questa situazione si verifica quando la concentrazione di glucosio scende al di sotto di 3 mmol/l (50 mg/dl). Questo può accadere quando si somministra una dose eccessiva di insulina o se ci sono dei problemi con il farmaco stesso, per esempio se l'effetto dura oltre le 24 ore si ha un fenomeno di accumulo. I sintomi principali dell'ipoglicemia sono:

- debolezza, letargia
- disorientamento
- andatura da ubriachi (atassia)
- comportamenti strani, es. vagare senza meta, cercare il cibo, leccarsi le labbra
- gravi sintomi neurologici (collasso, convulsioni, perdita di coscienza ed eventuale morte).

Il rapido riconoscimento di tali segni ed il conseguente trattamento permettono di evitare un peggioramento della situazione e talvolta della morte stessa dell'animale. Se la sintomatologia è moderata basterà offrire del cibo ed indurre il gatto a mangiare. Se non si riesce o se i sintomi sono più gravi (gatto collassato, che non riesce a deglutire), bisognerà somministrare del glucosio in polvere o sciroppo, applicandolo direttamente sulle mucose boccali. Si potrà notare un miglioramento notevole già 5 minuti dopo aver somministrato un cucchiaino di glucosio sulle gengive. Se non si ha a disposizione del glucosio, si potrà utilizzare del miele o dello zucchero. Dopo questi primi interventi il proprietario dovrà contattare immediatamente il veterinario. I gatti con grave ipoglicemia devono comunque essere ricoverati per ricevere glucosio per via endovenosa ed una

corretta stabilizzazione.

Tutti i proprietari di gatti diabetici dovrebbero tenere pronta a casa del glucosio in polvere od in sciroppo da somministrare nei casi urgenti.

B) Chetoacidosi

La chetoacidosi rappresenta una complicazione abbastanza rara nel trattamento del diabete. Può essere fatale, quindi, se sospettata, dev'essere trattata immediatamente. I segni clinici più frequenti sono:

- mancanza di appetito
- letargia/debolezza
- vomito /diarrea
- disidratazione, collasso

Il respiro può avere odore di frutta (succo di pera). Ai proprietari di gatti diabetici il veterinario dovrebbe mettere sempre a disposizione le striscette reattive per eseguire di routine il test delle urine a casa (all'inizio una o due volte la settimana), soprattutto nel caso si sospetti chetoacidosi, cioè se compare uno dei segni clinici sopra descritti in un gatto già diabetico. La chetoacidosi può essere confermata anche se vengono rilevati corpi chetonici attraverso lo stesso test con gli sticks nella saliva, nelle lacrime o nel sangue.

Nel caso in cui il test dia esito positivo e vengano rilevati corpi chetonici, il proprietario dovrà immediatamente avvertire il veterinario; questo anche nel caso l'animale sembri perfettamente normale. Il gatto con chetoacidosi infatti necessita di un'immediata somministrazione di insulina per via endovenosa od intramuscolare, in modo da ottenere un rapido effetto di controllo sul diabete. Oltre a questo potranno essere necessari altri tipi di intervento, quali terapia reidratante intravenosa, somministrazione di antibiotici e bicarbonato. Normalmente questa situazione richiede il ricovero dell'animale presso una clinica veterinaria.

Altri motivi di preoccupazione per il proprietario: Qualsiasi importante variazione nei comportamenti che abbiamo già sopra elencato (assunzione del cibo e dell'acqua, depressione, test sulle urine, etc.) rappresenta in generale motivo di preoccupazione per il proprietario dell'animale e bisogna giustamente indagare. Può infatti trattarsi di una non corretta gestione della malattia (es.

l'unica linea antimicotica davvero completa

Se il vostro problema ha un nome solo e si ripresenta con facce diverse, anche la soluzione ha solo un nome, con una gamma di prodotti diversi ma tutti mirati al trattamento delle micosi.

Solo Janssen Animal Health ha una gamma di prodotti per i test, diagnosi e trattamento locale e ambientale specifici antimicotici



Itrafungol®

Antimicotico sistemico per via orale

RICETTA SEMPLICE RIPETIBILE



Imaverol®

Soluzione antimicotica per uso topico

SENZA OBBLIGO DI PRESCRIZIONE



Clnafarm®

Trattamento fungicida e sporicida di oggetti ed ambienti

PRESIDIO MEDICO-CHIRURGICO



InTrayDM®

Test per la diagnosi di dermatofiti a viraggio di colore

dose inadeguata dell'insulina), di una situazione di chetoacidosi o della contemporanea presenza di altri cofattori che complicano la gestione del diabete. Qualunque sia il motivo, bisognerà senz'altro rivolgersi ad un veterinario.

Check-ups di routine

All'inizio tutti i gatti diabetici devono essere controllati una-due volte la settimana per capire quanto il loro diabete sia compensato e per controllare il peso. Non è insolito che insorgano dei problemi proprio nel primo periodo della gestione a casa del gatto malato, per esempio per errori nel dosaggio o nella conservazione dell'insulina. Questi di solito sono problemi facili da identificare e risolvere.

Altri problemi frequenti sono:

- mancanza di applicazione precisa dello schema terapeutico, per es. somministrazione ad orari non costanti dell'insulina
- cambiamenti continui nella quantità e qualità del cibo
- conservazione non corretta del farmaco
- tecnica non corretta di preparazione/inoculazione dell'insulina

Il vostro veterinario, per essere sicuro che operiate correttamente, potrebbe chiedervi di preparare ed iniettare davanti a lui il farmaco. Se si riescono ad eliminare i problemi sopra descritti come concausa della mancata stabilizzazione del paziente, allora ci si potrà concentrare sui fattori veramente responsabile per rimediare la situazione.

Talvolta è necessario ricoverare di nuovo il gatto per poter eseguire esami più approfonditi, quale ad es. il rilievo dei livelli di glucosio durante le 24 ore.

Cause più probabili di mancata compensazione del diabete:

- presenza contemporanea di altre patologie (es. disordini ormonali, insufficienza renale, pancreatite)
- infezioni- soprattutto delle vie urinarie, della bocca o della cute
- chetoacidosi persistente (cfr. sopra)
- tecnica non corretta di preparazione/inocula-

zione dell'insulina

Con un diabete ben controllato saranno sufficienti un numero minore di controlli, anche se sarebbe raccomandabile non scendere mai al disotto di uno ogni 3-6 mesi, in concomitanza con l'inizio di un nuovo flacone d'insulina. In occasione di tali visite, dovrebbe essere eseguito il test per la determinazione della curva del glucosio nelle 24 ore, in modo da stabilire con precisione il protocollo terapeutico. In queste occasioni inoltre il gatto andrebbe sempre pesato.

Prognosi

Nel gatto diabetico le aspettative di vita sono strettamente legate all'età, a quanto si è riusciti a stabilizzare la malattia, se vi sono altre patologie in corso e quanto eventualmente queste siano gravi. Da uno studio recente si è visto che l'intervallo di sopravvivenza dopo la diagnosi è in media di due anni. Molti gatti godono di un'ottima qualità di vita e danno molta soddisfazione dal punto di vista clinico.

Ulteriori consigli per i proprietari che devono convivere con un gatto diabetico sono contenuti nella scheda dal titolo "Diabete: cosa significa per me ed il mio gatto?"

Questa pagina può essere fotocopiata o scaricata direttamente dal sito FAB all'indirizzo <http://www.fabcats.org/>, **alla voce fab groups cliccando sul logo AIVPAFE**

©This information sheet is produced by the Feline Advisory Bureau

The Feline Advisory Bureau is the leading charity dedicated to promoting the health and welfare of cats through improved feline knowledge, to help us all care better for our cats. Currently we are helping almost 4 million cats and their owners a year.

If this advice has helped you care better for your cat please enable us to help others by making a donation. To do this you can either click here or send a cheque to the address below (made payable to 'Feline Advisory Bureau') FAB, Taeselbury, High Street, Tisbury, Wiltshire, UK, SP3 6LD www.fabcats.org.

SCHEDA di ISCRIZIONE o RINNOVO 2009

da spedire a: Medicina Viva - Via Marchesi 26D - 43100 Parma fax 0521-29.13.14

Cognome _____ Nome _____

Indirizzo _____

CAP _____ Città _____ Prov. _____

Codice fiscale _____ P. IVA _____

Nato a _____ () il _____

e-mail _____

Tel _____ Fax _____

Dichiara di essere iscritto all'Ordine dei Medici Veterinari della Provincia _____

NUOVO SOCIO Anno _____

RINNOVO Anno/ Anni _____

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.

☐ **Iscrizione AIVPA + AIVPAFE € 130,00**

Invio la quota associativa **AIVPA + AIVPAFE** mediante *Bonifico bancario* intestato a **AIVPA**
Unicredit Via Mazzini Parma - IBAN IT 62 N 02008 12720 000002624743 UNICRITB1PU5

Iscrizione AIVPAFE

☐ **Socio AIVPAFE (non socio AIVPA)**

€ 78,00

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

€ 37,00

Invio la quota associativa **AIVPAFE** mediante:

☐ **Assegno ordinario o circolare** intestato ad **AIVPAFE** e spedito a: Medicina Viva - Via Marchesi 26D - 43100 Parma

☐ **Vaglia postale** intestato: **AIVPAFE** presso Medicina Viva - Via Marchesi 26D - 43100 Parma

☐ **Bonifico bancario intestato a AIVPAFE** presso Unicredit Banca di Parma

IBAN IT22 X 02008 12720 000002627638

Swift/Bic UNCRITB1PU5

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

--	--	--	--

--	--	--	--

--	--	--	--

--	--	--	--

Scad. ____ / ____

CVV/CVC code

--	--	--	--

(indicare le cifre poste sul retro della carta)

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 a condizioni agevolate ai Convegni ed ai Corsi promossi da AIVPAFE e da AIVPA
- ricevere gratuitamente: Rassegna di Medicina Felina AIVPAFE e Bollettino AIVPA

Ai sensi dell'art.13 del D.lgs n. 196/03 si informa che AIVPAFE effettua il trattamento dei dati personali dei propri associati unitamente ad altro titolare del trattamento, l'associazione A.I.V.P.A., a cui è legata da vincolo di affiliazione e che esegue le attività inerenti alla gestione amministrativa e contabile e al rapporto con i soci di AIVPAFE. I dati personali dell'interessato sono trattati per le seguenti finalità: a) adempimento di procedure gestionali/amministrative e contabili connesse all'iscrizione ad AIVPAFE e/o ad A.I.V.P.A., e/o all'iscrizione ad un congresso; b) invio di informazioni relative ad iniziative congressuali e/o ad eventi connessi con lo scopo delle associazioni AIVPAFE e/o A.I.V.P.A.; c) invio di prodotti editoriali pubblicati dalla associazione a cui si è associati. I dati dell'interessato potranno essere conosciuti dagli incaricati di AIVPAFE e A.I.V.P.A. In ogni caso i dati personali dell'interessato saranno trattati dalla società Medicina Viva Servizio Congressi s.p.a., che opera come segreteria delegata, nominata responsabile del trattamento, a cui sono affidate tutte le operazioni amministrative/contabili, come, ad esempio ma non a limitazione, la gestione dell'elenco degli iscritti, gli incassi delle quote di iscrizione e l'invio di comunicazioni ai soci.

I dati identificativi dell'interessato potranno essere comunicati a istituti bancari, a soggetti ai quali la comunicazione risulti necessaria per legge, a case editrici per la spedizione di riviste, a professionisti di fiducia quali avvocati e commercialisti, a società scientifiche italiane ed estere, a segreterie organizzative italiane ed estere per l'organizzazione di corsi e convegni di settore. Il conferimento dei dati è facoltativo, ma la loro mancata indicazione comporta l'impossibilità di adempiere alle prestazioni richieste. Le ricordiamo infine che Le sono riconosciuti i diritti di cui all'art. 7 del D.lgs. 196/2003 in particolare, il diritto di accedere ai Suoi dati personali, di chiederne la rettifica, l'aggiornamento e la cancellazione, rivolgendo le richieste al Responsabile del trattamento inerente il servizio di segreteria delegata, MEDICINA VIVA, Servizio Congressi S.p.a., con sede in Parma, Via Marchesi 26D.

Consenso al trattamento di dati personali

Consenso per l'invio di materiale informativo relativo a congressi mediante strumenti automatizzati

☐ SI ☐ No
☐ SI ☐ No

Data

Firma



aivpafe

associazione italiana veterinari patologia felina



PERCORSO FORMATIVO TEORICO-PRATICO

EMATOLOGIA E CITOLOGIA NEL CANE E NEL GATTO - 2009/2010

in collaborazione con  Associazione Italiana Veterinari Piccoli Animali

1° CORSO EMATOLOGIA	2° CORSO EMATOLOGIA E CITOLOGIA	3° CORSO CITOLOGIA
Perugia, 23-24 maggio 2009	Grugliasco (TO), 24-25 ottobre 2009	Perugia aprile / maggio 2010
in collaborazione scientifica con Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Perugia con il patrocinio Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Perugia	con il patrocinio Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Torino Ordine dei Medici Veterinari delle Province di Asti, Cuneo, Torino, Verbano Cusio Ossola, Vercelli e Biella	in collaborazione scientifica con Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Perugia con il patrocinio Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Perugia
DOCENTI Dott.ssa Maria Teresa ANTOGNONI - Ricercatore Clinica Medica Veterinaria Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia Prof. Vittorio MANGILI PECCI - Prof. Ordinario Clinica Medica Veterinaria Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia Dott.ssa Barbara MINISCALCO - Ricercatore Dipartimento di Patologia Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino	DOCENTI Dott.ssa Maria Teresa ANTOGNONI - Ricercatore Clinica Medica Veterinaria - Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia Dott.ssa Barbara MINISCALCO - Ricercatore Dip. di Patologia Animale Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino Dott. Fulvio RIONDATO - Ricercatore Dip. di Patologia Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino	DOCENTI Dott.ssa Maria Teresa ANTOGNONI - Ricercatore Clinica Medica Veterinaria - Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova Prof. Massimo CASTAGNARO - Prof. Ordinario Pat. Comparata e Igiene Veterinaria - Facoltà di Medicina Veterinaria di Padova Dott. Alfredo DENTINI Dottorando di ricerca - Facoltà di Med Vet. di Perugia Dott. Elvio LEPRI - Ricercatore Patologia Gen. e Anatomia Patologica Veterinaria - Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia Prof. Luca MECHELLI - Prof. Ordinario Patologia Gen. e Anatomia Patologica Veterinaria Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia
- Sabato 23 maggio 2009 - 8.30 Registrazione Partecipanti 8.45 Saluto Autorità e presentazione del Corso: Preside della Facoltà - Prof. Franco Moriconi 9.00 Introduzione all'esame emocromocitometrico V. Mangili Pecci 10.15 Coffee Break 10.45 Valutazione morfologica degli elementi ematici del cane M.T. Antognoni 12.00 Valutazione morfologica degli elementi ematici del gatto B. Miniscalco 13.15 Pranzo 14.30 Esercitazioni pratiche di ematologia in 3 gruppi affiancati dai docenti: M.T. Antognoni, V. Mangili Pecci, B. Miniscalco 18.00 Termine della Prima giornata del Corso - Domenica 24 maggio 2009 - 9.00 Interpretazione clinica dei valori emocromocitometrici M.T. Antognoni 10.15 Coffee Break 10.45 Anemia: eziopatogenesi e classificazione V. Mangili Pecci 12.00 Midollo osseo: modalità di prelievo e principi di interpretazione citologica B. Miniscalco 13.30 Pranzo 15.00 Esercitazioni pratiche di ematologia in 3 gruppi affiancati dai docenti: M.T. Antognoni, V. Mangili Pecci, B. Miniscalco 18.00 Verifica Apprendimento e Termine del Corso	- Sabato 24 ottobre 2009 - 8.30 Registrazione Partecipanti 8.45 Saluto Autorità e Presentazione del Corso: Preside della Facoltà Prof. Bartolomeo Biolatti 9.00 Classificazione delle neoplasie ematopoietiche M.T. Antognoni 10.15 Coffee Break 10.45 Diagnosi di neoplasia ematopoietica: aspetto morfologico e colorazioni citochimiche M.T. Antognoni 12.00 Diagnosi di neoplasia ematopoietica: classificazione immunofenotipica e cenni di biologia molecolare F. Riondato 13.15 Pranzo 15.00 Esercitazioni pratiche di ematologia in 3 gruppi affiancati dai docenti: M.T. Antognoni, B. Miniscalco, F. Riondato 18.00 Termine della Prima giornata del Corso - Domenica 25 ottobre 2009 - 9.00 Principi di interpretazione citologica: tecniche di prelievo e osservazione del preparato F. Riondato 10.15 Coffee Break 10.45 Interpretazione citologica: infiammazione e neoplasia B. Miniscalco 12.00 Esame fisico-chimico dell'urina e citologia del sedimento B. Miniscalco 13.30 Pranzo 15.00 Esercitazioni pratiche di citologia in 3 gruppi affiancati dai docenti: M.T. Antognoni, B. Miniscalco, F. Riondato 18.00 Verifica Apprendimento e Termine del Corso	- 1° GIORNO - 8.30 Registrazione Partecipanti 8.45 Saluto Autorità e Presentazione del Corso: Preside della Facoltà Prof. Franco Moriconi 9.00 Citologia linfonodale M. Castagnaro 10.15 Intervallo 10.45 Citologia cutanea L. Mechelli 12.00 Citologia dei versamenti cavitari E. Lepri 13.15 Pranzo 15.00 Esercitazioni pratiche di citologia in 3 gruppi affiancati dai docenti M. Castagnaro, E. Lepri, L. Mechelli 18.00 Termine della Prima Giornata di Corso - 2° GIORNO - 9.00 Citologia del cavo orale, delle ghiandole salivari e della tiroide M. Castagnaro 10.00 Intervallo 10.30 Citologia degli organi interni: fegato, milza, pancreas A. Dentini 12.00 Mastocitoma viscerale del gatto: aspetti clinici e citopatologici M.T. Antognoni 13.15 Pranzo 15.00 Esercitazioni pratiche di citologia in 3 gruppi affiancati dai docenti M.T. Antognoni, A. Dentini, M. Castagnaro 18.00 Verifica Apprendimento e Termine del Corso

INFORMAZIONI GENERALI Numero chiuso n. 30 posti.

Modalità di partecipazione: le schede di iscrizione e le modalità per la partecipazione ad ogni singolo corso oppure all'intero percorso sono pubblicati sul sito www.aivpafe.it
Quote di iscrizione: IVA inclusa. Comprendono coffee break e pranzi come da programma.

Soci AIVPAFE - Soci AIVPA € 300,00 (in regola 2009)	Iscritti ODV Patrocinanti € 330,00	Soci Club del Veterinario € 400,00
Soci AIVDAO - CARDIEC - GISPEV - SITOV € 330,00 (in regola 2009)	Neolaureati (08/09) € 300,00	Altre categorie € 450,00
Per chi si iscriverà all'intero percorso (2009-2010) sono previste le seguenti quote scontate:		
Soci AIVPAFE - Soci AIVPA € 750,00	Soci AIVDAO - CARDIEC - GISPEV - SITOV € 840,00	Iscritti ODV Patrocinanti (v. programma) € 840,00
Neolaureati (08/09) € 750,00	Soci Club del Veterinario € 1.050,00	Altre categorie € 1.200,00



CALENDARIO EVENTI AIVPAFE 2009

MESTRE 27 settembre 2009 - Hotel Holiday Inn

CONGRESSO NAZIONALE AIVPAFE

MEDICINA FELINA: OBIETTIVO PREVENZIONE

Relatori: Dott.ssa Diane Addie - Prof.ssa Maria Grazia Pennisi - Dott.ssa Laura Pulici

MODENA 11 ottobre 2009 - Forum Monzani

INCONTRO AIVPAFE

IL GATTINO SI AMMALA..... QUALI FARMACI USARE E PERCHÈ ?

Relatore: Prof.ssa Grazia Guidi

GRATUITI PER I SOCI AIVPAFE IN REGOLA CON LA QUOTA ASSOCIATIVA 2009

PER INFORMAZIONI:



Via Marchesi 26 D - 43100 Parma - tel. 0521.290191 - fax 0521.291314
info@aivpafe.it - www.aivpafe.it

Situazioni di stress?

Aiutali a superarle
con **CALM!**



CALM è il nuovo alimento Royal Canin che aiuta cani e gatti a superare le situazioni di stress e i problemi fisici associati.

Innovazione: è l'unico alimento sul mercato che offre una risposta specifica per la gestione dello stress.

Efficacia: le sue 2 molecole attive, Alfa-casozepina e Triptofano, migliorano le risposte allo stress.

Praticità: la soluzione dietetica evita l'uso di integratori, spesso difficili da somministrare all'animale.

Una novità esclusiva, firmata Royal Canin.

CALM

Sicurezza Urinaria



NUOVO

