



MYLAV

Laboratorio La Vallonea

AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO IN PILLOLE

A cura di

Walter Bertazzolo e Ugo Bonfanti

Tutti gli Autori dei Post sono

Consulenti MYLAV

**Tratto dal
Blog MYLAV**



Collana editoriale "Le pillole di scienza"
realizzata da MYLAV - LA VALLONEA
Vol. 1 anno 2016

AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO IN PILLOLE

Tratto dal Blog MYLAV

CONSULENTI MYLAV

A decorative graphic on the left side of the page, consisting of 20 horizontal bars of varying lengths, stacked vertically. The bars are light blue and white, creating a striped effect.

Dr. Francesco Albanese
Prof. Luca Aresu
Dr. Massimo Baroni
Dr.ssa Silvia Benali
Dr.ssa Raffaella Bergottini
Dr. Walter Bertazzolo
Dr. Ugo Bonfanti
Dr. Enrico Bottero
Dr. Davide De Lorenzi
Prof. Nicola Decaro
Dr. Francesco Dondi
Dr. Giuseppe Febbraio
Prof. Federico Fracassi
Prof. Gualtiero Gandini
Dr.ssa Magda Gerou Ferriani
Dr. Federico Leone
Dr.ssa Laura Marconato
Dr. Domenico Multari
Dr. Gustavo Picci
Dr.ssa Maria Carmela Pisu
Dr.ssa Federica Rossi
Dr.ssa Giliola Spattini
Dr. Giovanni Tortorella
Dr. Luigi Venco



WWW.MYLAV.NET

MYLAV CONSULENZA

Il nostro servizio di **consulenza**
per i **casi clinici più complessi**.

MYLAV BLOG

Articoli di **aggiornamento scientifico**
redatti dai nostri Consulenti.



PRESENTAZIONE

Cari Colleghi,
dopo poco più di un anno di attività vi presentiamo il primo prodotto editoriale che raccoglie i più interessanti Post ed Articoli pubblicati nell'anno 2016 sul nostro **Blog di Aggiornamento Scientifico**.

Sul Blog MyLAV (www.mylav.net) vengono pubblicati settimanalmente diversi articoli e rubriche fra cui consigli, interviste ai nostri consulenti, riassunti in italiano di articoli scientifici di recente pubblicazione, quesiti di citologia e di diagnostica, utili per mettersi alla prova ed imparare.

Tutti gli argomenti sono trattati e discussi in maniera pratica come può avvenire in una discussione fra colleghi, ma senza rinunciare agli aspetti tecnici e scientifici.

Il Blog MyLav viene curato da **Walter Bertazzolo** e **Ugo Bonfanti**.
Tutti gli Autori dei Post sono Consulenti La Vallonea e Collaboratori.

Anche in versione e-Book e Audiobook.

L'IMPORTANZA DELLA FASE PRE-ANALITICA IN DIAGNOSTICA DI LABORATORIO. TUTTO QUELLO CHE ACCADE AL CAMPIONE PRIMA DI GIUNGERE AL LABORATORIO PER ESSERE “ANALIZZATO”.

Non raramente, a seguito della richiesta di un esame di laboratorio, il veterinario si trova di fronte a risultati inaspettati, o non in linea con le condizioni cliniche del paziente.

Una delle possibili cause, spesso sottostimata, è rappresentata dagli errori pre-analitici.

Questi errori, non infrequenti e ben conosciuti anche in medicina di laboratorio umana, possono alterare la qualità del campione analizzato, e modificare talvolta in maniera sostanziale il risultato finale, causando pertanto risultati inaccurati o scorretti. L'interpretazione dei risultati in queste occasioni può andare a detrimento del paziente e comportare eventuali approfondimenti diagnostici o azioni terapeutiche non necessarie o addirittura pericolose.

Pertanto, ogni qualvolta ci si trovi di fronte ad un risultato inaspettato, occorre prendere in considerazione una variabile pre-analitica, confrontarsi con il laboratorio di riferimento, considerare l'esito del test alla luce di questa eventualità e piuttosto effettuare un secondo campionamento ed analisi.

Di seguito vengono schematizzate alcune cause di errori pre-analitici e fornite indicazioni relative a modalità di campionamento e trasporto delle varie matrici.



CAMPIONE ERRORI PRE-ANALITICI

1) ERRORI EVITABILI RELATIVI ALLA GESTIONE DEL PAZIENTE

- La mancata osservazione del digiuno (almeno 12 ore, a volte necessario 18 ore) può causare Lipemia / Iperglicemia.
- Lo stress (trasporto, contenimento, visita, personale sconosciuto, interazione con altri pazienti in sala d'attesa) può causare Iperglicemia / Ipertrigliceridemia / Eritrocitosi / Leucocitosi con neutrofilia, linfopenia o linfocitosi, monocitosi, eosinopenia.
- Segnalare eventuali farmaci ed anestetici somministrati, per via delle numerose alterazioni ematobiochimiche che possono provocare.

- L' esercizio intenso, Sforzi prolungati, Stress possono causare disidratazione, aumento acido lattico, CK, LDH, GOT.
- È necessario rispettare le tempistiche e dosi per test DINAMICI (ad es. stim. ACTH) e Monitoraggio Farmaci (ad es. Fenobarbitale).

2) ALTERAZIONI EMATOLOGICHE NON EVITABILI MA RICONOSCIBILI:

- Sono per esempio le alterazioni legate ad IPERLIPEMIA (endocrinopatie), ITTERO (colestasi\anemia emolitica immunomediata), EMOLISI (anemia emolitica immunomediata), AGGLUTINAZIONE (anemia emolitica immunomediata).

3) ERRORI EVITABILI RELATIVI ALLA MODALITÀ DI PRELIEVO:

- Tosatura energica può attivare il processo coagulativo.
- Aspirazione eccessiva può causare emolisi.
- Prelievo lento può causare emolisi e coagulazione campione.
- Trasferimento non delicato in provetta può causare emolisi.
- Agitazione eccessiva della provetta può causare emolisi.

4) ERRORI EVITABILI RELATIVI ALLA GESTIONE DELLA PROVETTA:

a) Esame Emocromocitometrico - EDTA

- Rispettare POSSIBILMENTE la quantità di sangue necessaria indicata nella provetta. Riempire la provetta con almeno il 50% della quantità di sangue richiesta.

b) Coagulazione - Sodio Citrato

- Rispettare TASSATIVAMENTE la quantità di sangue necessaria (rapporto 1:9 anticoagulante:sangue).

c) Esami Biochimici - Siero

- Nella provetta non deve essere presente ALCUN ANTICOAGULANTE.

d) Esami Ormonali

- Sono effettuabili da siero oppure sangue con anticoagulante (EDTA - Lito Eparina).

e) Progesterone, Dosaggio farmaci

- Evitare provette con GEL separatore.

5) CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE - ERRORI EVITABILI:

a) Esame emocromocitometrico - EDTA

- Effettuare striscio di sangue da allegare alla provetta - NON CONGELARE.
- Spedire refrigerato, il siberino NON deve essere messo a contatto diretto della provetta (semmai interporre della carta).

b) Coagulazione - Sodio Citrato

- Centrifugare la provetta con Sodio Citrato e separare il plasma ponendolo in una provetta vuota - NON CONGELARE.
- Spedire refrigerato.



c) **Esami biochimici**

- Utilizzare provette da siero.
- Lasciare a temperatura ambiente per 30 minuti, centrifugare e separare il siero in una provetta vuota.
- Spedire refrigerato.

e) **Esame Urine**

- Spedire il campione refrigerato in contenitori sigillati.

f) **Versamenti cavitari**

- Spedire in due provette, una con EDTA e una per siero (priva di anticoagulante).
- Effettuare strisci diretti da allegare alla spedizione in porta vetrini rigidi.

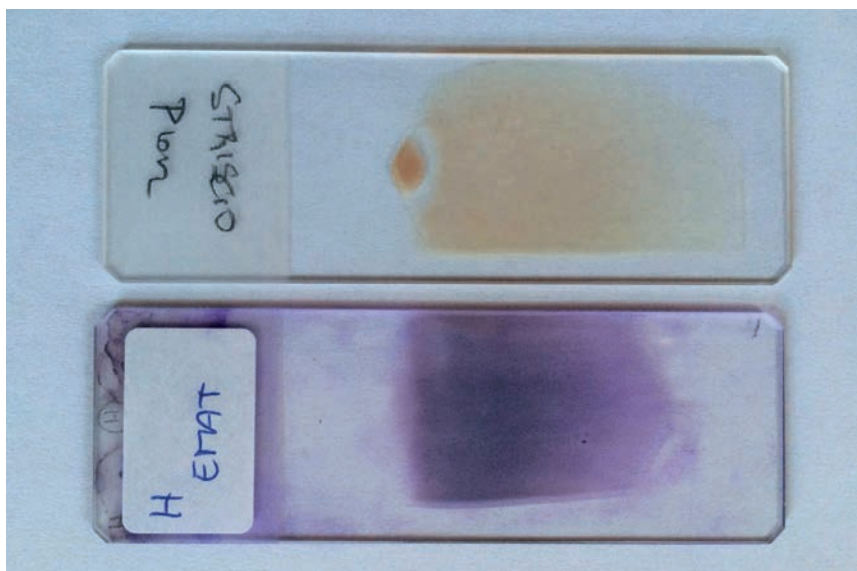
g) **Esami citologici**

- Spedire in porta vetrini rigidi.

L'IMPORTANZA DI ESEGUIRE UNO STRISCIO EMATICO E DI VALUTARNE LE CARATTERISTICHE

Gli analizzatori per ematologia si sono evoluti nel corso dei decenni sino ad arrivare ai più recenti e sofisticati strumenti che, sfruttando le tecnologie ad impedenza e laser, oggi riescono a fornirci emogrammi con molte più informazioni rispetto al passato.

Ciononostante, alcune peculiarità ematologiche non possono essere rilevate accuratamente nemmeno dai più costosi ed avanzati strumenti come ad esempio la presenza di neutrofili bandati e tossici, globuli rossi nucleati, cellule displasiche ed immature oppure la presenza di agenti eziologici.



Accanto alla conta cellulare automatizzata risulta pertanto sempre indispensabile la valutazione microscopica dello striscio ematico anche in presenza di conte cellulari automatizzate apparentemente normali.

In particolare, l'osservazione al microscopio ha lo scopo di:

1. Verificare la correttezza della conta differenziale leucocitaria effettuata dallo strumento.
2. Valutare la presenza di eventuali popolazioni cellulari atipiche o di cellule non classificabili che gli analizzatori non sono in grado di classificare adeguatamente.

3. Verificare la presenza di globuli rossi nucleati che possono alterare considerevolmente – se presenti in elevata percentuale – la conta leucocitaria fornita dall'analizzatore automatico (in particolare dei linfociti).
4. Valutare la morfologia leucocitaria, in particolare dei neutrofili, definendo la presenza di tossicità citoplasmatica e spostamento a sinistra (neutrofili in banda).
5. Valutare la morfologia eritrocitaria riportando eventuali anomalie di forma, nonché valutare la presenza di parassiti intracellulari o presenti sulla membrana eritrocitaria.
6. Verificare la correttezza della conta piastrinica fornita dallo strumento mediante l'esecuzione della stima piastrinica.
7. Ricerare la presenza di agenti eziologici (inclusi virali per es. cimurro, batteri, protozoi come i piroplasmii o le leishmanie, larve di nematodi, ecc.).

Affinché tutti questi aspetti possano essere adeguatamente valutati è necessario che lo striscio ematico sia di buona qualità ed eseguito a fresco subito dopo il prelievo. Per un laboratorio che effettua un servizio esterno come La Vallonea, è quindi indispensabile che ci sia la collaborazione dei clinici referenti, che per ciascun esame emocromocitometrico dovrebbero sempre preparare uno striscio di buona qualità da inviare allegato alla provetta di sangue in EDTA.

Lo striscio di sangue deve essere effettuato possibilmente su vetrini con banda sabbata sulla quale è possibile scrivere i dati identificativi del paziente.

Occorre depositare sul vetrino una piccola goccia di sangue, meglio se direttamente dalla siringa con cui viene eseguito il prelievo, in corrispondenza della estremità del vetrino porta oggetto. In alternativa si può deporre una goccia di sangue prelevato dalla provetta con EDTA in cui è campionato.

Successivamente si effettua lo striscio utilizzando un altro vetrino detto "incidente" che abbia bordi molati e che, posto davanti alla goccia di sangue depositata sul porta oggetto, inclinato di circa 30 – 45°, viene spostato verso la goccia di sangue che, a contatto con il vetrino stesso, si diffonde rapidamente lungo il suo bordo.

Non appena questo si verifica il vetrino incidente viene fatto avanzare dolcemente e rapidamente lungo il porta oggetto. Uno striscio ben eseguito dovrebbe estendersi per circa due terzi della lunghezza del vetrino e terminare con un bordo frastagliato (definito a penna d'uccello) prima della fine del vetrino stesso. Eseguito lo striscio, il vetrino deve essere asciugato rapidamente all'aria.

Attraverso questo link è possibile vedere il video dimostrativo su come effettuare uno striscio ematico corretto.

https://drive.google.com/file/d/0Bz8qLhvM3_mbSUo5X2h1NTJIWG8/edit

COME OTTIMIZZARE LA PREPARAZIONE DEI CAMPIONI CITOLOGICI: INTERVISTA A WALTER BERTAZZOLO



L'esame citologico è una metodica diagnostica molto comune in medicina veterinaria: rapida, facile da eseguire e a basso costo. Essa può fornire informazioni diagnostiche in numerose discipline cliniche (dermatologia, oncologia, medicina interna, ecc.).

Il citologo, chiamato ad affiancare il clinico nella soluzione del caso diagnostico, si trova ad operare dovendo interpretare i preparati in un mondo di luci e di colori che magicamente prendono forma agli occhi esperti di chi legge.

Uno degli aspetti più frustranti sia per il citologo che per il veterinario che ha riferito il caso è l'ottenere risultati non diagnostici, in particolar modo quando il materiale inviato risulta di cattiva qualità o non rappresentativo della lesione campionata a causa di un'errata scelta ed esecuzione della metodica di campionamento.

Tutto ciò si traduce in frustrazione anche da parte del cliente che ha pagato il test senza avere ottenuto indicazioni utili per la gestione del problema che affligge il proprio animale.

Allo scopo di ottimizzare il prelievo citologico ci sono alcune regole da seguire e consigli che, quando osservati, possono ridurre drasticamente la percentuale di campioni "acellulari o non conclusivi".

In questa intervista, il Dr. Walter Bertazzolo ci suggerisce 10 regole per un buon campionamento citologico.

Domanda: Ciao Walter, per cominciare qual è la regola più importante in citologia diagnostica?

Risposta: Regola N° 1: il clinico è più importante del citologo.

Ai fini di un buon risultato, chi esegue il campionamento è molto più importante di chi lo esamina al microscopio! Un prelievo di cattiva qualità sarà, infatti, sempre non conclusivo, anche se inviato al citopatologo più bravo del mondo.

Domanda: Ok, ma mettiamo il caso che io sia un clinico e debba decidere se fare o meno un prelievo citologico da una neoformazione o da un organo: come faccio a capire se ne vale la pena o se sia più indicato fare un esame istologico?

Risposta: Regola N° 2: cerchiamo di usare la logica e la testa prima di procedere con le mani.

In presenza di neoformazioni è sempre consigliabile eseguire inizialmente un prelievo citologico perché meno invasivo, poco costoso e con tempi di risposta più rapidi. In molte patologie d'organo, tuttavia, la citologia può essere poco indicativa e per ottenere la diagnosi si rende necessaria una biopsia istologica. Ne sono un esempio i prelievi citologici effettuati da fegato e reni in soggetti con sospetta epatopatia e/o nefropatia, che molto spesso non forniscono informazioni utili al clinico. In caso di dubbio è consigliabile chiedere una consulenza al laboratorio prima di avventurarsi in procedure che possono risultare poco utili, invasive e dai risultati incerti.

Domanda: I campionamenti citologici possono venire effettuati mediante diverse tecniche (FNA/Ago-infissione, apposizione, brushing, ecc.). Quale di queste è da preferirsi?

Risposta: Regola N° 3: non esiste il metodo di prelievo infallibile e perfetto.

Anche in questo caso non può esserci una risposta univoca perché dipende da cosa dobbiamo campionare. Ogni volta che si deve analizzare una neoformazione nodulare o un organo che “cede” facilmente cellule (es. linfonodo, fegato, tessuto ghiandolare, ecc.), sicuramente i campionamenti con ago fine sono da preferirsi. L'apposizione è da riservarsi a lesioni ulcerate o a superfici di taglio di un tessuto da analizzare, avendo cura di eliminare l'eccesso di sangue e di detriti superficiali inutili ai fini diagnostici. Il brushing e il raschiato sono da evitare quasi sempre,

in quanto raccolgono solo materiale superficiale, per cui possono essere utili quando si deve analizzare la parte superficiale di una mucosa (per esempio nasale). Sui preparati biotici endoscopici, infine, è consigliabile eseguire lo “squash-prep” ovvero lo schiacciamento vigoroso di un frammento tissutale tra due vetrini portaoggetto.

Domanda: Bene, facciamo finta che io abbia deciso di effettuare un campionamento citologico e stia raccogliendo il materiale da un tessuto. Cosa dovrei fare per allestire uno striscio qualitativamente valido?

Risposta: Regola N° 4: ottieni sempre un “monostrato” di cellule.

Per poter analizzare adeguatamente le cellule, queste dovrebbero essere disposte sul vetrino in uno strato sottile (monostrato), poichè le colorazioni rapide tipo Romanowsky utilizzate in ambulatorio necessitano di un sottile strato di cellule per consentire ai coloranti di penetrarle. Ciò si ottiene strisciando delicatamente il materiale prelevato tra due vetrini portaoggetto, sfruttando la pressione esercitata dai due vetrini e avendo cura di non esercitare una forza eccessiva che causerebbe il danneggiamento delle cellule e, di conseguenza, inficerebbe la lettura del preparato.

Domanda: E dopo lo striscio, cosa faccio con il vetrino?

Risposta: Regola N° 5: fissa immediatamente il campione.

Questo passaggio è in genere il più trascurato dai clinici, ma è forse il più importante.

Per poter consentire una corretta colorazione del vetrino le cellule, una volta strisciate, devono essere asciugate all'aria, per esempio scuotendo il vetrino, rapidamente. Non vanno mai utilizzati, invece (tranne rari casi eccezionali e per colorazioni particolari come la Papanicolau o l'ematossilina-eosina), i fissativi chimici spray.

Il processo di rapida fissazione all'aria è particolarmente importante per i campioni citologici composti da liquidi o con molto sangue (es. liquido sinoviale, versamenti, midollo osseo, ecc.), per i quali un'asciugatura troppo lenta è frequentemente la causa di insuccesso della valutazione citologica. In questi casi è utile utilizzare una fonte di calore (es. asciugacapelli) per fissare rapidamente il campione. Asciugate sempre bene i campioni prima di porli nei contenitori portavetrini da inviare al laboratorio.

Domanda: Perfetto, a questo punto il campione deve essere analizzato subito o può essere conservato? Inoltre, che accorgimenti devo avere per la



spedizione dei vetrini in laboratorio?

Risposta: Regola N° 6: i preparati citologici sono resistenti, ma non a tutto!

Se conservati in luogo asciutto e lontano dalla polvere, gli strisci possono essere conservati per parecchi giorni, se non per diverse settimane.

Sono però da evitare alcuni errori comuni:

- prima della colorazione definitiva bisogna evitare di bagnare i vetrini dal momento che le cellule verrebbero asportate.
- un altro motivo causa frequente di campioni “non interpretabili” è l'utilizzo di vetrini conservati in ambulatorio in prossimità della formalina o, evenienza più comune, di vetrini inviati al laboratorio nello stesso pacco con campioni istologici. La formalina è una sostanza molto volatile e, anche se i contenitori dei campioni istologici vengono chiusi ermeticamente, i suoi vapori possono fuoriuscire e venire in contatto con le cellule dei preparati citologici non consentendo più ai coloranti di penetrare in maniera ottimale, rendendo pertanto i campioni citologici non interpretabili.

Domanda: Ma quanti campionamenti devo eseguire per avere più possibilità di ottenere un preparato diagnostico?

Risposta: Regola N° 7: più campioni fai, più è probabile ottenere una diagnosi.

È ovvio che in questo caso bisogna mettere in conto molte altre variabili: la compliance del paziente, la dolorabilità della sede di prelievo, il rischio di complicanze in caso di punzioni multiple, ecc. È comunque consigliabile inviare tutti i vetrini allestiti, anche quelli che macroscopicamente sembrano poco cellulari o ematici.

Domanda: Devo sempre inviare tutto il materiale non colorato o posso iniziare a controllare già in ambulatorio i risultati del mio campionamento?

Risposta: Regola N° 8: impara dai tuoi errori (o da quelli degli altri).

Per evitare di inviare campioni non diagnostici, potrebbe essere conveniente colorare uno o più vetrini, valutare se è presente o meno del materiale significativo e inviare i campioni al laboratorio in caso ci fossero cellule. Qualora i campioni fossero acellulari, si può provare a ricampionare la lesione o a valutare la possibilità di eseguire un esame istopatologico.

Con un minimo di esperienza al microscopio e senza necessariamente essere dei citologi esperti, questo procedimento aiuta a migliorarci e a capire sia quando un campione non è cellulare o rappresentativo della lesione, sia qual è il motivo

dell'insuccesso. È opportuno inviare anche i vetrini che sono stati colorati come "controllo di adeguatezza" onde evitare di rischiare che l'unico vetrino diagnostico sia quello da te controllato.

Domanda: E nel caso in cui la mia percentuale di insuccesso fosse comunque troppo alta, cosa potrei fare per migliorare la mia tecnica di prelievo?

Risposta: Regola N° 9: confrontati sempre con colleghi più esperti di te.

Non avere timore di chiamare i colleghi consulenti del laboratorio La Vallonea, che sapranno darti consigli utili, caso per caso.

Domanda: E se anche con tutti questi accorgimenti non riuscissi ad ottenere materiale adeguato?

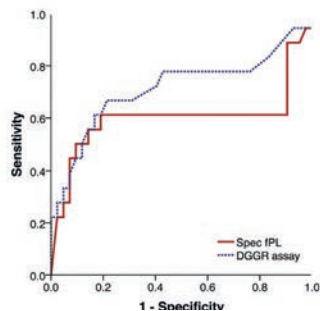
Risposta: Regola N° 10: ti resta sempre la biopsia istologica.

Nel caso in cui la citologia non fosse diagnostica, non fosse effettuabile o fosse inutile in quel caso specifico, ci resta sempre la possibilità di ricorrere al campionamento istologico, che rappresenta, sempre, il "gold standard".



LIPASI DGGR: COS'È E A COSA SERVE? 10 DOMANDE E 10 RAPIDE RISPOSTE PER UNA CORRETTA INTERPRETAZIONE.

Dal mese di ottobre il laboratorio La Vallonea ha reso disponibile nei profili biochimici estesi e in quelli pancreatici la lipasi-DGGR. Questo analita si è dimostrato molto utile per la diagnosi di pancreatite del cane e del gatto al pari delle lipasi specifiche pancreatiche (SpecPL). Può essere richiesta anche singolarmente per confermare un sospetto clinico di pancreatite. Ecco alcune domande e risposte per approfondire l'argomento.



1) Cosa significa DGGR?

Fino a 15 anni fa all'incirca, il metodo più comune per la misurazione della lipasi sierica utilizzava come substrato il 1,2-diglyceride (Lipasi-DiG). All'inizio del nuovo millennio è divenuto disponibile un nuovo metodo biochimico denominato DGGR, che utilizza come substrato l'estere 1,2-o-dilauril-rac-glicerolo-3-acido glutarico- (6'-metilresorufin).

2) Che differenza c'è tra la normale lipasi-DiG e la lipasi DGGR?

La lipasi-DiG misura l'attività lipasica sierica globale (lipasi totale). Nel siero esistono diverse forme di enzima con la medesima attività catalitica lipasica, ma con origine tissutale molto diversa: la maggior parte deriva dal pancreas, ma una minore quantità anche da fegato, tubo gastro-enterico e muscoli scheletrici. Quindi lievi aumenti dell'attività lipasica potrebbero essere conseguenti anche a patologie extra-pancreatiche. Inoltre, essendo escreta per via renale, una riduzione della filtrazione glomerulare può indurre aumenti della lipasemia. Da dati desunti dalla letteratura umana, la lipasi DGGR invece si correla meglio con la sola attività lipasica di origine pancreatica, e quindi potrebbe essere un marker più specifico per la diagnosi di pancreatite.

3) I due valori di attività misurati sullo stesso campione sono molto diversi?

Sì, l'attività della Lipasi-DiG è solitamente molto più elevata di quella DGGR, per i motivi sopra descritti. I valori di riferimento della DGGR sono infatti inferiori a 120 U/l nel cane e a 25-30 U/l nel gatto.

4) E in caso di azotemia, come cambiano?

Come già sottolineato, la lipasi in genere viene eliminata per via renale, per cui è possibile in un animale azotemico riscontrare una lipasi-DiG (lipasi totale) elevata pur in assenza di una patologia gastroenterica e/o pancreatica conclamata. Questo effetto non è stato studiato in maniera approfondita né per le lipasi specifiche pancreatiche (SpecPL) né per la lipasi DGGR, sebbene sia probabile che i risultati ottenuti con queste due ultime metodiche risentano meno della ridotta filtrazione glomerulare.

5) Quindi se trovo una lipasi totale elevata ed una DGGR normale, cosa devo pensare?

È probabile che non si tratti di una pancreatite. Se l'animale è azotemico, la causa è da imputarsi ad una ridotta funzione renale. Se non è azotemico, allora la prima cosa da valutare è una possibile patologia enterica o epatica. Non possiamo però escludere al 100% che non ci sia comunque una pancreatite.

6) Se invece la trovo elevata?

Allora la pancreatite può essere considerata la causa principale, sia in forma acuta (con i classici segni clinici imponenti e gravi) che in forma cronica (molto più subdola e difficile da diagnosticare).

7) Che relazione c'è tra valore della lipasi-DGGR e lipasi pancreatiche specifiche feline e canine (SpecPL)?

Alcuni studi pubblicati negli ultimi anni hanno chiaramente dimostrato che l'efficienza diagnostica per l'individuazione di una pancreatite (acuta o cronica) è molto simile tra le due, in alcuni casi addirittura superiore per la DGGR. Alla fine di questa breve trattazione troverete i riferimenti bibliografici per chi volesse approfondire l'argomento leggendo gli articoli originali.

8) Quindi la Lipasi-DGGR può sostituire le lipasi pancreatiche specifiche (SpecPL)?

Secondo questi studi i risultati sono sovrapponibili, quindi la risposta è sì.

9) Quali altri vantaggi ci sono usando la Lipasi-DGGR?

Ci sono almeno altri due vantaggi non indifferenti: in primo luogo è molto più economica delle lipasi specifiche felina e canina (SpecPL). In secondo luogo, essendo misurabili in chimica clinica, il risultato è disponibile in poco tempo e non



richiede l'invio a laboratori di riferimento per la misurazione delle SpecPL. Questa determinazione può quindi essere inclusa in un qualsiasi profilo biochimico insieme agli altri analiti.

10) La concentrazione della lipasi DGGR è proporzionale all'entità del danno pancreatico?

Non esistono studi a riguardo, ma è probabile che l'entità dell'innalzamento ematico sia proporzionale all'entità del danno cellulare e all'estensione dello stesso nel parenchima pancreatico.

Per chi fosse interessato ad approfondire gli argomenti sopra riassunti, vi rimandiamo alla seguente bibliografia.

Bibliografia:

Graca et al (2005) Validation and diagnostic efficacy of a lipase assay using DDGR for the diagnosis of acute pancreatitis in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*. 34: 39-43.

Oppliger et al (2013) Agreement of the serum Spec fPL and DGGR lipase assay for the determination of serum lipase in cats with suspicion of pancreatitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 27: 1077-1082.

Kook et al (2014) Agreement of serum Spec cPL with the DGGR lipase assay and with pancreatic ultrasonography in dogs with suspected pancreatitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 28: 863-870.

Oppliger et al (2016) Comparison of serum Spec fPL and DGGR assay in 60 cats using standardized assessment of pancreatic histology. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 30: 764-770.

UTILITÀ CLINICA DI ALCUNI TEST DI LABORATORIO PER LA DIAGNOSI DI PANCREATITE ACUTA NEL CANE

Tratto da:

Clinical Utility of Diagnostic Laboratory Tests in Dogs with Acute Pancreatitis: a Retrospective Investigation in a Primary Care Hospital.

Yuki M. et al. – Journal of Veterinary Internal Medicine, 30: 116-122; 2016.

INTRODUZIONE

- La **PANCREATITE ACUTA** è una patologia diagnosticata frequentemente nella specie canina. Si manifesta con segni relativamente vaghi ed aspecifici quali debolezza, anoressia, vomito, diarrea e dolore addominale.
- Generalmente la diagnosi si basa sui segni clinici, sulla diagnostica per immagini e sugli esami di laboratorio.
- Gli esami di laboratorio riconducibili a “danno pancreatico” sono rappresentati da **amilasi**, **lipasi**, **TLI** (trypsin-like immunoreactivity) e **PLI** (pancreatic lipase immunoreactivity). Quest'ultimo test permette di evidenziare esclusivamente la lipasi pancreatica.
- Per evidenziare la **PLI** nel cane è stato messo a punto un metodo recentemente validato (**Spec-cPL**) ma che viene eseguito da un unico laboratorio commerciale. È stato successivamente messo in commercio un test rapido semi quantitativo per la **Spec-cPL**. Infine, in commercio è presente un nuovo test in “Chimica secca” che permette una valutazione quantitativa immediata dell'attività della lipasi (**FDC lip**). Quest'ultimo test ha mostrato una buona correlazione con la Spec-cPL per la diagnosi di PANCREATITE ACUTA.

SCOPO DEL LAVORO - MATERIALI E METODI

- La finalità dello studio è stata valutare l'**accuratezza diagnostica** di alcuni test di laboratorio per la diagnosi di pancreatite acuta. Inoltre si è voluto verificare se i test di laboratorio eseguiti il primo giorno fossero in grado di predire la **durata dell'ospedalizzazione stessa**, e se CRP (proteina C reattiva) e FDC-lip fossero biomarker utili – se misurati periodicamente – a **monitorare la guarigione** dall'episodio di pancreatite.
- Sono stati inclusi **64 cani** divisi in due gruppi: 20 con malattia non pancreatica e 44 con pancreatite acuta.
- **Sono stati considerati i seguenti parametri:** conta leucocitaria e piastrinica, ematocrito, BUN, Calcio, Albumine, CRP, amilasi, ALT, FDC-lip e Spec-cPL.



RISULTATI

- Premessa: nel gruppo dei soggetti non affetti da malattia pancreatica erano inclusi animali con: gastroenteriti, ascessi prostatici, pielonefriti batteriche, epatiti, ipoadrenocorticismo.
- **I test di laboratorio** che si differenziavano significativamente tra i due gruppi erano rappresentati da: **amilasi, FDC-lip e Spec-cPL**. Le conte leucocitaria e piastrinica, ematocrito, BUN, Calcio, Albumine, CRP e ALT non erano in grado di discriminare tra soggetti con pancreatite acuta ed animali affetti da malattie non pancreatiche, ma con sintomatologia simile.
- La **ALT** risultava significativamente più **elevata** al giorno 1 nei soggetti che andavano successivamente incontro ad una **ospedalizzazione con durata maggiore** (8-11 giorni rispetto a 0-3 giorni).
- **CRP diminuiva** significativamente **dopo 5 giorni** dall'inizio della terapia rispetto ai valori misurati al momento della diagnosi, a differenza di FDC-lip.

DISCUSSIONE

- Sebbene in corso di pancreatite si identifichi spesso trombocitopenia, ipovolemia, anemia, ipoalbuminemia, ipocalcemia, iperazotemia, incremento di ALT e CRP, questi parametri non sono in grado di differenziare la pancreatite acuta da malattie con sintomatologia simile, non essendo pertanto in grado, da soli, di diagnosticare una pancreatite acuta con sicurezza.
- **Amilasi, FDC-lip e Spec-cPL** erano invece significativamente differenti tra i due gruppi di cani, risultando pertanto utili alla diagnosi. L'elevata sovrapposizione dei valori di amilasi tra i due gruppi non permetteva di ottenere tuttavia valori di sensibilità e specificità diagnostiche soddisfacenti, al contrario della FDC-lip.
- **ALT** si associa alla durata dell'ospedalizzazione: animali che rimangono ospedalizzati più a lungo posseggono valori di ALT più elevati al giorno 1.
- L'incremento di ALT non è correlato ad aumento di mortalità durante l'ospedalizzazione e, pertanto, non è correlato ad esito negativo della pancreatite.
- La durata dell'ospedalizzazione non si correla con altre variabili classicamente più riferibili alla gravità della pancreatite (Amilasi, FDC-lip e Spec-cPL).
- **CRP** rappresenta un **marker utile** per monitorare la progressione clinica e la risposta alla terapia e monitorare la guarigione.

INSUFFICIENZA PANCREATICA ESOCRINA NEL GATTO

Cari colleghi, questa settimana vi riassumiamo un articolo recentemente comparso sul Journal of Veterinary Internal Medicine relativo ad uno studio sull'EPI (exocrine Pancreatic Insufficiency) del gatto.

In base a questo studio emerge chiaramente come alcuni rilievi clinici di questa patologia felina siano differenti da quelli ben conosciuti dell'EPI canina, mentre la diagnosi definitiva si basa come nel cane sul riscontro di bassi livelli di TLI sierico.



Tratto da:

Feline Exocrine Pancreatic Insufficiency: A Retrospective Study of 150 Cases.

Xenoulis P.G. et al. – Journal of Veterinary Internal Medicine 2016 Sep 19. doi: 10.1111/jvim.14560.

INTRODUZIONE

- L'INSUFFICIENZA PANCREATICA ESOCRINA (EPI) – che consiste in un'inadeguata produzione di enzimi pancreatici - rappresenta una patologia considerata relativamente poco comune nella specie felina.
- Sono stati in precedenza pubblicati studi in base ai quali il test per la concentrazione della trypsin-like immunoreactivity specifica felina (fTLI) rappresenta il metodo migliore per la diagnosi di EPI.
- La finalità dello studio è stata descrivere segnalamento, sintomatologia, anomalie laboratoristiche, malattie concomitanti e risposta alla terapia in gatti con EPI. Inoltre sono stati analizzati fattori potenzialmente associati alla risposta alla terapia messa in atto.

MATERIALI E METODI

- Il criterio diagnostico applicato per la diagnosi di EPI è stato la concentrazione di fTLI ≤ 8 $\mu\text{g/L}$, che rappresenta il cut-off attualmente stabilito per la diagnosi.
- Per ogni soggetto incluso, la risposta alla terapia è stata soggettivamente valutata dal veterinario referente in buona, parziale e scarsa.
- Ove disponibili, sono state valutate anche le concentrazioni di folati e di cobalamina al momento della diagnosi.



RISULTATI

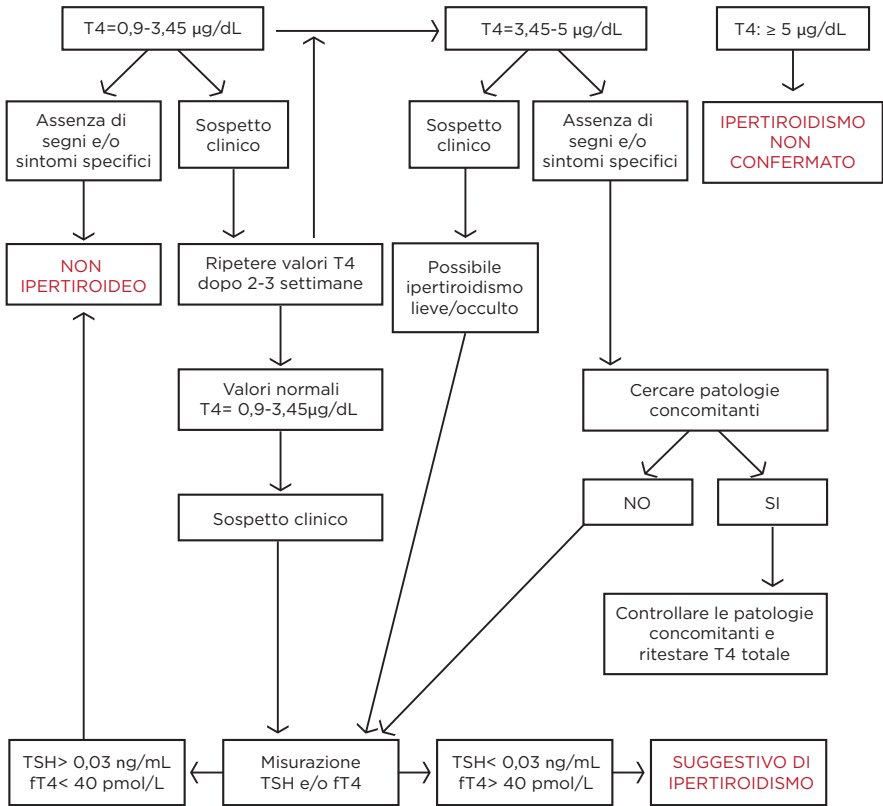
- Nello studio sono stati inclusi 150 casi. La razza più rappresentata era il gatto comune europeo a pelo corto (94 gatti). I maschi erano il 59% e le femmine il 41%. L'età mediana era 7 anni e mezzo circa, con ampia variabilità di età.
- Il segno clinico più rappresentato è stato la perdita di peso (91%), la cui durata mediana è stata di 6 mesi, oltre a feci non formate e diarrea, mantello di scarsa qualità, polifagia, anoressia, letargia e vomito in percentuali variabili.
- Cobalamina e folati sono stati misurati in 119 gatti: 92 (77%) possedevano la concentrazione di cobalamina al di sotto del valore di riferimento ($< 290 \mu\text{g/L}$). I gatti con ipocobalaminemia possedevano anche valori di fTLI molto bassi. Inoltre, 56 dei 119 gatti (47%) possedevano aumento dei folati, mentre 6 gatti (5%) avevano riduzione del valore di folati.
- Le patologie concomitanti erano presenti in 87 gatti (58% dei casi) ed erano rappresentate da: problemi gastroenterici (30 gatti), endocrinopatie (21 gatti, di cui 13 con diabete mellito), pancreatite e lipidosi epatica.
- Le terapie prescritte sono state: enzimi pancreatici, antibiotici, cobalamina, steroidi e cambio della dieta.
- Relativamente alla risposta alla terapia, dei 121 gatti di cui si sono ottenute informazioni, la risposta alla terapia è stata considerata buona in 72, parziale in 33 e scarsa in 16. La risposta migliore alla terapia si è verificata in gatti con valori di fTLI $< 4 \mu\text{g/L}$. Inoltre, gatti che hanno ricevuto concomitante terapia con cobalamina avevano maggiori possibilità di rispondere positivamente ai trattamenti.

DISCUSSIONE - CONCLUSIONI

- L'ampia variabilità di età di gatti in cui è stata fatta diagnosi suggerisce di prendere sempre in considerazione la diagnosi di EPI (spesso evoluzione di pancreatite cronica) in presenza di segni clinici compatibili.
- Il segno clinico "diarrea" era presente solo nel 62% dei gatti, percentuale più bassa di quanto non si verifichi nella specie canina, in cui rappresenta il segno clinico più comune. La presentazione clinica di molti gatti con EPI non rispecchia la tipica presentazione clinica del cane (diarrea, perdita di peso, polifagia), e quindi molti casi di EPI nel gatto possono non essere diagnosticati correttamente. **Nel gatto EPI dovrebbe pertanto essere sospettata in soggetti con inspiegabile perdita di peso ed anoressia, anche senza i segni clinici tipici della specie canina.**
- Occorre considerare EPI anche in gatti molto giovani (< 5 anni).
- **La supplementazione con cobalamina ha un effetto positivo sull'esito delle terapie messe in atto**, anche nei casi in cui la concentrazione della vitamina è all'interno dell'intervallo di riferimento. La somministrazione di antibiotici invece non sembra avere impatto sull'esito delle terapie.
- Nel complesso la maggior parte di gatti con EPI rispondono abbastanza bene alle terapie che vengono intraprese.

ALGORITMO DIAGNOSTICO DELL'IPERTIROIDISMO FELINO

**ALGORITMO DIAGNOSTICO: COSA TESTARE IN CASO
DI SOSPETTO IPERTIROIDISMO FELINO**
INIZIARE SEMPRE CON MISURAZIONE DEL T4 TOTALE



**LO STATO DELL'ARTE SULLA TERAPIA FARMACOLOGICA
PIÙ APPROPRIATA PER IL GATTO IPERTIROIDEO
(J SMALL ANIM PRACT. 2014 JAN;55(1):4-13).**



L'ipertiroidismo felino è senza dubbio l'endocrinopatia più comune nei gatti al di sopra degli 8 anni di età. L'aspetto clinico del gatto ipertiroideo è abbastanza tipico, la patologia deve essere sospettata ogni volta si abbiano dei sintomi caratteristici quali dimagrimento e polifagia, poliuria/polidipsia, ipereccitabilità e caratteristiche peculiari del mantello con aree alopeciche ed opache e con aumento dei comportamenti di grooming.

Questi sono solo alcuni dei sintomi che caratterizzano l'endocrinopatia, mentre altri possono essere notati solo da un occhio clinico esperto.

La diagnosi viene posta sia sulla base della sintomatologia che della palpazione accurata della ghiandola endocrina, palpazione che deve essere effettuata con tecnica appropriata.

La conferma diagnostica si ottiene monitorando gli ormoni tiroidei, spesso indicativi della patologia in atto, altre volte con significato certo solo sulla base dell'iter diagnostico.

TERAPIA

Trattandosi di una patologia tanto grave quanto frequente e che comporta un trattamento farmacologico ad vitam, è di fondamentale importanza che venga riconosciuta e diagnosticata presto e che altrettanto presto si inizi il trattamento terapeutico.

Fondamentalmente si possono seguire 4 strade differenti per approcciare il problema: una chirurgica (tiroidectomia) e una medica con farmaci antitiroidei, oppure con iodio radioattivo e dieta appropriata povera di iodio.

La terapia farmacologica è probabilmente quella più utilizzata ed anche più apprezzata dal proprietario che è sempre restio, salvo alcuni casi, a sottoporre il gatto ad un intervento chirurgico di asportazione d'organo.

La terapia farmacologica, comunque, può essere praticata sia come unica terapia per tutta la vita del gatto, sia anche come terapia preparatoria e stabilizzante il paziente, prima della chirurgia o del trattamento con iodio radioattivo.

Due sono, ad oggi, i principi attivi largamente utilizzati per la terapia antitiroidea: il metimazolo ed il suo pro-farmaco carbimazolo; quest'ultimo viene rapidamente trasformato nella molecola farmacologicamente attiva, il metimazolo, rapidamente e completamente dopo la somministrazione orale.

In sostanza il rapporto di equivalenza fra le due molecole è, approssimativamente, di 5/3 e cioè 5 mg di carbimazolo corrispondono a 3 mg di metimazolo

DOSE DI ATTACCO

La dose di attacco raccomandata per il trattamento dei gatti ipertiroidei è di 2,5 mg di metimazolo 2 volte al giorno o da 10 a 15 mg di carbimazolo una volta al giorno. La dose di attacco massima (5 mg/bid per il metimazolo o 15 mg/die per il carbimazolo) dovrebbe essere utilizzata solo nei casi di grave ipertiroidismo con un valore di TT4 molto elevato e nei gatti non iperazotemici.

AGGIUSTAMENTO DELLA TERAPIA

METIMAZOLO: Molti gatti nei quali è stata utilizzata la dose di attacco raccomandata divengono eutiroidei già dalle 2 alle 3 settimane dopo l'inizio della terapia; qualora questo non dovesse accadere si raccomanda di aumentare la dose giornaliera totale di metimazolo di 2,5 mg sino all'ottenimento dello stato di eutiroidismo.

CARBIMAZOLO: in questo caso il controllo può essere effettuato già 10 gg. dopo l'inizio della terapia e può prevedere un aumento della dose di aggiustamento di massimo 5 mg/die.



MONITORAGGIO DELLA TERAPIA

Il monitoraggio della terapia dovrebbe basarsi, oltre che sul controllo clinico accurato dell'animale, anche su alcune indagini strumentali quali, ad esempio, il controllo della pressione sistemica e le analisi del sangue e delle urine dell'animale. Il monitoraggio ematologico con valutazione del TT4 dovrebbe seguire lo schema seguente:

1. primo controllo dopo 2 - 3 settimane dall'inizio della terapia o dopo qualsiasi aggiustamento della stessa, finché non si sarà raggiunto lo stato di eutiroidismo;
2. secondo controllo tre mesi dopo la stabilizzazione;
3. successivamente ogni 6 mesi per tutta la vita dell'animale.

MANAGEMENT DELL'IPOTIROIDISMO IATROGENO

L'ipotiroidismo felino iatrogeno, dovuto, cioè, ad un dosaggio non appropriato della terapia, è una condizione ben conosciuta in clinica.

Il riconoscimento dello stato di ipotiroidismo iatrogeno si basa, ovviamente, sull'individuazione di alcuni segni clinici caratteristici quali, ad esempio: letargia, disappetenza, cambiamenti del mantello e aumento del peso corporeo; va comunque confermato dal monitoraggio degli ormoni tiroidei.

In questo caso il dosaggio del TT4, da solo, non è sufficiente a confermare la diagnosi poiché questo ormone si abbassa anche in condizioni non legate strettamente alla patologia tiroidea. Per tale ragione, in caso di un valore di TT4 eccessivamente basso, è necessario testare anche il TSH (con metodica validata per il cane ma utilizzabile anche nella specie felina) che, in caso di ipotiroidismo iatrogeno, aumenta notevolmente.

Il management terapeutico in questo caso prevede lo schema di aggiustamento seguente:

1. se il gatto presenta un TT4 inferiore a 0,77 µg/dl occorre diminuire il dosaggio del farmaco del 25 - 50%;
2. se il TT4 è compreso fra 0,77 µg/dl e 1,17 µg/dl e l'animale non è iperazotemico il dosaggio non deve essere modificato;
3. se il TT4 è compreso fra 0,77 µg/dl e 1,17 µg/dl ma il gatto è iperazotemico, il dosaggio del farmaco dovrebbe essere comunque diminuito;
4. se il gatto è in terapia con una dose di induzione molto bassa, al limite minimo raccomandato, si potrà variare l'intervallo di somministrazione fino a una somministrazione ogni 36 o 48 ore.

QUANTO PUÒ ESSERE UTILE MISURARE IL TSH NEL GATTO?

Nel gatto non si ricorre frequentemente al dosaggio del TSH (ormone tireostimolante) ciò dipende da diversi motivi:

1. Il test utilizza un kit specifico per il TSH canino. Tuttavia è stato dimostrato che esiste una cross-reattività con il TSH felino e pertanto il test è in grado di dare risultati accurati anche nel gatto.
2. Un secondo motivo è legato all'utilità clinica di dosare il TSH nel gatto, che notoriamente è frequentemente interessato da **ipertiroidismo** e molto raramente da una condizione di **ipotiroidismo** e storicamente si è sempre considerato il TSH come una determinazione ormonale essenziale per la diagnosi di ipotiroidismo nell'uomo e nel cane (in cui l'ormone tireostimolante tende a risultare elevato). Tuttavia, **un recente studio** condotto da Peterson e collaboratori nel 2015 e pubblicato sul Journal of Veterinary Internal Medicine **ha dimostrato che la misurazione del TSH con un kit canino può essere utile nell'iter diagnostico dell'ipertiroidismo felino, in particolar modo per dirimere i casi dubbi.** In questo lavoro viene dimostrato che la concentrazione sierica di TSH, nel 98% dei gatti ipertiroidici, viene soppressa al di sotto del limite di quantificazione (ovvero ad un livello non misurabile dal laboratorio e quindi inferiore a 0,03 µg/mL). Poiché quasi tutti i gatti ipertiroidici presentano un TSH non misurabile, un TSH quantificabile (seppur basso) tenderebbe ad escludere l'ipertiroidismo. Questo test è risultato quindi molto sensibile per una diagnosi di ipertiroidismo per valori <0,03 µg/mL. Risulta tuttavia un test poco specifico, infatti i gatti affetti da "euthyroid sick syndrome" possono avere un TSH indosabile, ma con valori di T4 totale nei limiti di normalità o bassi. **Quindi sulla base di questo studio, la combinazione dei valori di tT4, di fT4 e di TSH aumentava la capacità di diagnosticare l'ipertiroidismo felino.**

Nei rarissimi casi di ipotiroidismo felino, il dosaggio del TSH è ovviamente indispensabile, come d'altronde nel cane, e il trend classico è rappresentato da una bassa concentrazione di tT4/fT4 associata ad un rialzo del TSH.

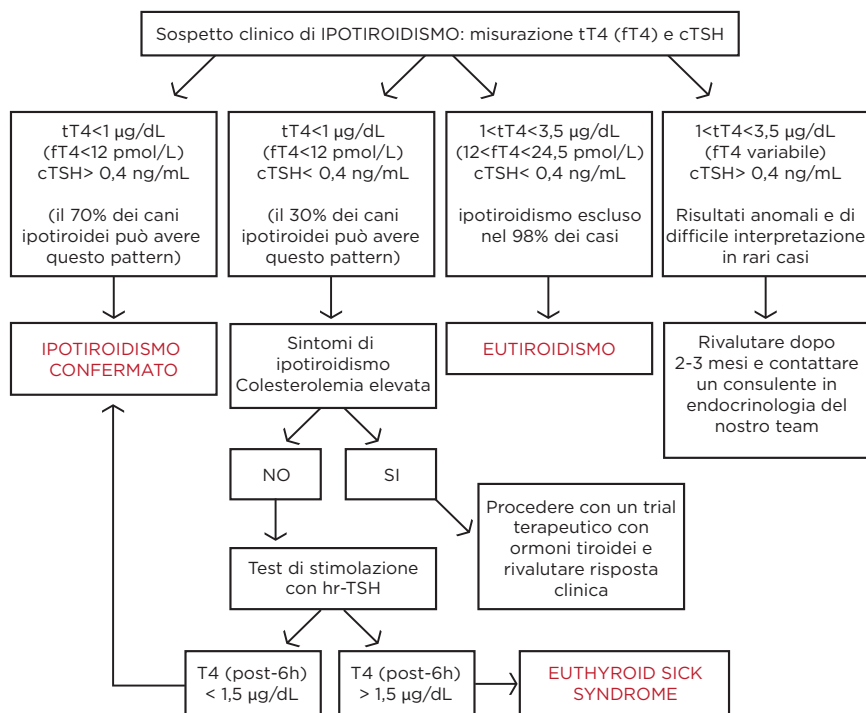


ALGORITMO DIAGNOSTICO PER L'IPOTIROIDISMO CANINO

Cari colleghi, in questo post di aggiornamento in medicina interna, vi proponiamo un algoritmo per la diagnosi di ipotiroidismo canino, secondo quelle che sono le più recenti acquisizioni scientifiche in questa materia.

Sappiamo come la diagnosi di questa patologia endocrina possa essere molto semplice in alcuni casi, molto complessa in altri e vorremmo pertanto fornirvi delle linee guida di semplice consultazione per la vostra pratica clinica.

A cura del Prof. Federico Fracassi e della Dott. ssa Martine Didier.



COSA FARE NEI CANI CON T4 TOTALE BASSO MA TSH NORMALE?

Questa condizione si verifica comunemente nei profili tiroidei dei cani sospetti per ipotiroidismo, ma spesso affetti da altre patologie.

Quindi cosa fare nei casi in cui il T4 risulta diminuito e il TSH normale?

Ci sono due possibili scenari:

1. Il cane ha un T4 basso poiché ha una patologia concomitante non tiroidea, la così detta “euthyroid sick syndrome” che abbassa i livelli di ormoni tiroidei senza che il soggetto abbia reali problemi tiroidei. Tali malattie concomitanti possono essere svariate, ad esempio neoplasie, malattie infettive, pancreatite, Sindrome di Cushing, diabete mellito scompensato, ecc. Il T4 può essere fisiologicamente basso anche in certe razze, ad esempio in molti levrieri. Anche molti farmaci (es. fenobarbitale, sulfamidici, corticosteroidi ecc.) determinano un abbassamento del T4 senza che vi sia ipotiroidismo. In tal caso la supplementazione con ormoni tiroidei non deve essere effettuata.
2. Il cane è affetto da ipotiroidismo. Circa un terzo dei cani ipotiroidei non presenta il classico aumento del TSH. Questo sembra essere dovuto ad un esaurimento del TSH e si osserva solitamente dopo molto tempo dallo sviluppo della malattia (forme molto cronicizzate). Questi cani, essendo ipotiroidei, necessitano di supplementazione con levotiroxina.

Discriminare queste due forme non è semplice. Per prima cosa è importante valutare i segni clinici e laboratoristici di base ed escludere possibili malattie concomitanti responsabili di “Euthyroid sick syndrome”.

Più dell'80% dei cani ipotiroidei presenta segni dermatologici e circa il 75% un aumento del colesterolo; se mancano entrambi questi aspetti è bene dubitare fortemente della diagnosi (è estremamente improbabile che un cane ipotiroideo sia privo di segni dermatologici e abbia il colesterolo e il TSH normali).

Altri test ottimali per la diagnosi sono la scintigrafia tiroidea (tuttavia non disponibile in Italia) e il test di stimolazione con rhTSH.

Personalmente, nei casi dubbi eseguo sempre questo test che prevede la misurazione del T4 basale sierico e del T4 dopo 6 ore dalla somministrazione endovenosa di 75 mcg di rhTSH (Thyrogen). Attualmente questo è considerato il test **“gold standard”** per la diagnosi di ipotiroidismo nel cane. Purtroppo il Thyrogen è costoso e disponibile in pochi centri in Italia. In alcuni soggetti si può ricorrere all'ecografia tiroidea, molti cani ipotiroidei hanno infatti una riduzione del volume della tiroide ed altri aspetti ecografici peculiari.

In ultimo, per giungere ad una diagnosi, si può ricorrere al trial terapeutico. Se il cane è molto sintomatico ma con TSH normale (e T4 basso) si può provare la terapia con levotiroxina. Solitamente tutti i sintomi rientrano entro 1-2 mesi. Se i sintomi non migliorano, significa che il cane non aveva l'ipotiroidismo e la terapia deve essere sospesa. Ovviamente questa pratica risulta utile solo nei cani gravemente sintomatici e nei quali le altre procedure diagnostiche hanno fallito.



IPERLIPEMIA NEL CANE: QUALE APPROCCIO CLINICO?

Nella pratica quotidiana è frequente il riscontro di campioni sierici/plasmatici lipemici. L'aspetto macroscopico, legato ad una elevata concentrazione di trigliceridi ed eventualmente anche di colesterolo, può riconoscere molte cause, oltre che essere responsabile di problemi analitici in laboratorio.

Tratto da:

Canine Hyperlipidaemia

Xenoulis P.G. et al. – Journal of Small Animal Practice, 56: 595-605; 2015.

Con il termine di IPERLIPIDEMIA si intende un aumento della concentrazione di lipidi (COLESTEROLO o TRIGLICERIDI, o entrambi) nel sangue.

Il termine LIPEMIA fa riferimento all'aspetto macroscopicamente torbido o lattescente di siero o plasma. La LIPEMIA è la conseguenza di ipertrigliceridemia moderata o severa (200 o 300 mg/dL), ma non rappresenta la conseguenza di ipertrigliceridemia lieve o di ipercolesterolemia.

- COLESTEROLO e TRIGLICERIDI sono trasportati nel sangue mediante proteine. Il complesso che si forma viene definito LIPOPROTEINA. Le LIPOPROTEINE sono suddivise in quattro classi: Chilomicroni, lipoproteine a densità molto bassa (VLDL), lipoproteine a bassa densità (LDL) e lipoproteine a densità elevata (HDL).
- Chilomicroni e VLDL trasportano principalmente TRIGLICERIDI, mentre LDL ed HDL trasportano primariamente colesterolo. I Chilomicroni sono principalmente coinvolti nel trasporto dei lipidi introdotti con la dieta ed assorbiti dall'intestino, mentre VLDL, LDL ed HDL sono primariamente coinvolti nel trasporto dei lipidi endogeni prodotti dall'organismo.

CAUSE DI IPERLIPIDEMIA NEL CANE

1. **Iperlipidemia post-prandiale:** rappresenta Iperlipidemia fisiologica e deve risolversi dopo 12 – 15 ore di digiuno.
2. **Iperlipidemia persistente dopo il digiuno** risulta sempre patologica, e può essere primaria, o secondaria ad altre patologie o alla somministrazione di farmaci.

Le principali cause di Iperlipidemia secondaria sono rappresentate da:

- Ipotiroidismo
- Diabete mellito
- Iperadrenocorticismo

Altre cause riportate in letteratura:

- Pancreatite
- Obesità
- Nefropatia proteino-disperdente
- Colestasi

- Diete ad elevato contenuto di lipidi
- Linfoma
- Leishmaniosi
- Insufficienza cardiaca congestizia
- Somministrazione di farmaci (glucocorticoidi, estrogeni, fenobarbitale, bromuro di potassio)

Inoltre sono descritte alcune forme di **Iperlipidemie primarie** in alcune razze:

- **Schnauzer nani** (IPERTRIGLICERIDEMIA)
- **Shetland Sheepdog** (in particolare IPERCOLESTEROLEMIA)
- **Beagle** (IPERTRIGLICERIDEMIA ed IPERCOLESTEROLEMIA)

È stato dimostrato come l'Iperlipidemia consistente e perdurante possa essere alla base di alcuni processi patologici tra cui:

- Pancreatite
- Malattie epatobiliari (Lipidosi epatica o steatosi; mucocoele biliare)
- Resistenza insulinica
- Aterosclerosi
- Malattie oculari (lipemia retinalis, cheratopatia lipidica, xantogranuloma intraoculare)
- Crisi epilettiche ed altri sintomi neurologici

Dal punto di vista laboratoristico, si ricorda come "lipemie gravi" possano alterare la misurazione di altri analiti causando risultati di laboratorio inaccurati. In questi casi sarebbe in teoria necessario misurare gli analiti previa ultracentrifugazione del campione o utilizzando degli agenti chiarificatori del plasma / siero, prima di procedere con l'esame.

L'approccio diagnostico di laboratorio in un cane iperlipidemico deve:

1. Escludere lipemia postprandiale
2. Eseguire un profilo ematobiochimico completo, acidi biliari compresi
3. Valutare la funzionalità tiroidea
4. Valutare l'asse ipofisi - surrene
5. Misurare la Lipasi Pancreatica Specifica canina
6. Eseguire un esame delle urine completo di PU/CU

Dal punto di vista terapeutico risulta evidentemente necessario, in caso di Iperlipidemia secondaria, trattare la causa sottostante e monitorare il profilo lipidico dopo 4 - 6 settimane.

In caso di Iperlipidemie primarie o secondarie persistenti occorre ridurre, per quanto possibile, la concentrazione di trigliceridi - specie se al di sopra dei 500 mg/dL - al fine di ridurre la possibilità dell'insorgenza di complicanze.

A tal fine si rendono necessari:

- Cambio della dieta
- Terapie mediche
- Acidi grassi omega 3
- Fibrati (Derivati dell'acido fibrico)
- Niacina
- Statine



LA CITOLOGIA FECALE IN GASTROENTEROLOGIA - INTERVISTA AD ENRICO BOTTERO

In questo post di aggiornamento, ci occuperemo di una branca della citologia ancora poco conosciuta, quella che gli autori anglosassoni chiamano “dry-mount fecal cytology”, e lo faremo con il nostro consulente per la gastroenterologia Enrico Bottero.

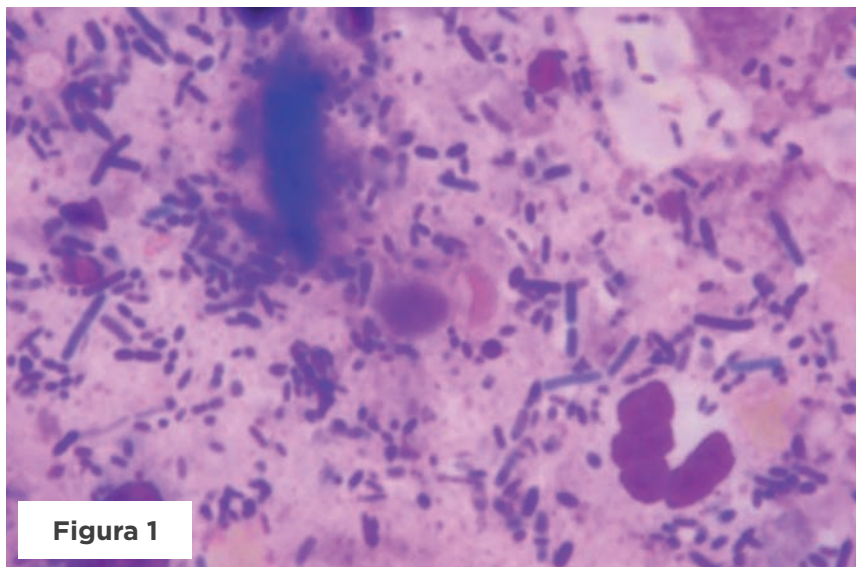


Figura 1

Figura 1: esempio di striscio fecale asciugato e colorato con metodi rapidi per citologia. Si osservano numerosi batteri polimorfi e un neutrofilo in fagocitosi batterica, indicativo di infiammazione attiva.

Domanda: Innanzitutto, cosa si intende con citologia fecale a secco e che differenza c'è con l'esame delle feci che siamo abituati a fare di routine?

E.B.: La citologia fecale è una metodica accessoria e non sostitutiva dell'esame delle feci. Si propone di indagare la popolazione batterica fecale e la cellularità ad essa associata.

Domanda: In pratica, come prepari i campioni? Come si devono conservare e colorare?

E.B.: Il materiale viene prelevato tramite un tampone da citologia a manico lungo, con un cotton fioc o un citobrush; questi strumenti vengono inseriti

nell'ampolla rettale e fatti rotolare sulla mucosa. Il materiale raccolto viene poi allestito mediante rotolamento o spatolamento su di un vetrino porta-oggetto e poi colorato mediante colorazioni rapide tipo Romanowsky.

Domanda: Quali sono le informazioni cliniche che puoi ricavare da questo tipo di esame?

E.B.: In corso di diarrea è possibile evidenziare cellule infiammatorie come neutrofili o eosinofili che aiutano a classificare il processo patologico in atto e a decidere l'approccio terapeutico (come l'utilizzo o meno degli antibiotici). In corso di diarrea cronica è possibile individuare, o quantomeno sospettare, la presenza di rari agenti eziologici (es. *Prototheca*, *Cryptococcus*) o cellule infiammatorie per definire quali ulteriori esami proporre.

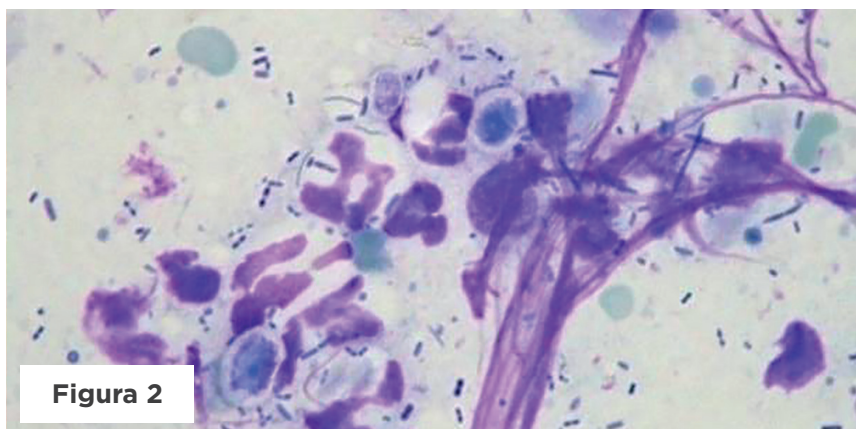


Figura 2

Figura 2: striscio fecale in cui si osservano granulociti neutrofili con tendenza alla cariolisi e con segni di fagocitosi batterica. Oltre a batteri di fondo, si osservano alcuni microrganismi più voluminosi ovali dotati di capsula incolore, riferibili a *Prototheca*.

Domanda: Quando ricorri a questa indagine? Sempre o in casi selezionati?

E.B.: Utilizzo la citologia fecale in tutti i pazienti che manifestano diarrea acuta e cronica, soprattutto in ragione del basso costo e della rapidità del risultato.

EFFICACIA DELLA SUPPLEMENTAZIONE ORALE DI COBALAMINA NEL CANE

Vi proponiamo un recente articolo comparso sul Journal of Veterinary Internal Medicine, nel quale è stata studiata l'efficacia terapeutica della somministrazione per via orale di VitB12 in pazienti canini con enteropatia.

Tratto da:

Oral Cobalamin Supplementation in Dogs with Chronic Enteropathies and Hypocobalaminemia.

Toresson L. et al. - Journal of Veterinary Internal Medicine, 30: 101-107; 2016)

La Cobalamina (vitamina B12) svolge un ruolo fondamentale nella sintesi di proteine, nella produzione di eritrociti ed ha una funzione enzimatica in molte reazioni biochimiche essenziali.

La carenza di Cobalamina induce vari segni clinici e conseguenze metaboliche tra cui anoressia, perdita di peso, scarsa crescita, neuropatie centrali e periferiche, immunodeficienza e alterazioni intestinali come atrofia dei villi e malassorbimento di altri nutrienti. L'ipocobalaminemia è stata anche riportata essere un fattore di prognosi negativo (per livelli sierici $<150 \mu\text{g}$) in pazienti associati a malattia intestinale cronica.

Dopo l'ingestione, la Cobalamina viene rilasciata dalle proteine della dieta nello stomaco. Si lega quindi a proteine di legame e con esse passa nel duodeno. Nel piccolo intestino la vitamina B12 si lega al fattore intrinseco (IF) che viene sintetizzato dal pancreas. I complessi Cobalamina - IF passano lungo l'intestino fino a che non giungono al tratto distale del tenue (ileo), dove la cobalamina viene trasportata attraverso la mucosa ed assorbita nella circolazione portale.

Di conseguenza malattie della mucosa intestinale, la diarrea antibiotico responsiva, l'EPI, le malattie dell'ileo o la sua resezione chirurgica sono comuni cause di carenza di cobalamina nel cane.

Una carenza congenita familiare (scarso assorbimento) è anche riportata negli Schnauzer giganti, Shar Pei, Border Collie e nei Beagle.

Il trattamento classico di una eventuale carenza di vitamina B12 prevede la sua somministrazione per via parenterale con una scadenza settimanale, almeno nel primo periodo di terapia, proprio perché si suppone che nei pazienti affetti da malassorbimento la capacità di assorbire tale vitamina possa essere difficilmente prevedibile.

La somministrazione parenterale può tuttavia non venir bene tollerata da animali e proprietari e l'assunzione orale potrebbe essere una alternativa molto più gestibile. Basandosi su diversi studi in medicina umana, che suggerivano la somministrazione giornaliera per via orale come via alternativa a quella parenterale, gli autori dell'articolo che vi proponiamo e pubblicato recentemente

su JVIM hanno effettuato uno studio retrospettivo che includeva 51 cani trattati con Cobalamina orale con compresse da 1 mg. In questo lavoro le concentrazioni ematiche aumentavano significativamente in quasi tutti i pazienti nell'arco di 20 - 200 giorni. Solo in tre cani si osservava un incremento modesto. Una possibile spiegazione del perché la via orale sia efficace nel normalizzare le concentrazioni di Cobalamina nel sangue risiede nella possibilità di una via alternativa di assorbimento rispetto a quelle già note, così come è stato riportato in medicina umana.

Anche il semplice fatto di aumentare la dose assunta per via orale potrebbe spiegare la normalizzazione osservata nei livelli sierici.

Tutti i cani inclusi nello studio sono stati trattati con compresse di vitamina B12 in base al loro peso.

Cani compresi tra 1 e 10 kg hanno ricevuto di compressa (0.25 mg), i cani compresi tra 10 e 20 kg compressa (0.50 mg) e quelli di peso > 20 kg hanno ricevuto 1 compressa (1mg) al giorno.

Nonostante alcuni limiti della pubblicazione, gli attuali risultati suggeriscono che la somministrazione per via orale su base giornaliera di Cobalamina sia efficace nella maggior parte di cani con ipo-cobalaminemia, con un vantaggio evidente sulla compliance dei proprietari rispetto alla somministrazione parenterale.



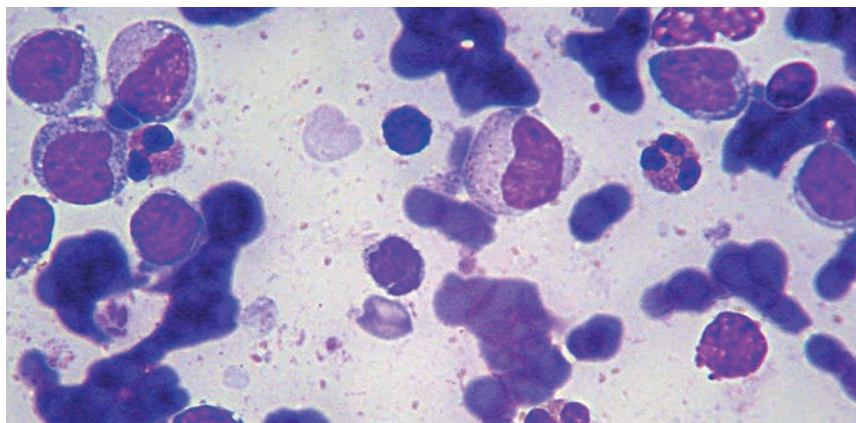
COME DIFFERENZIARE UNA IBD DA UN LINFOMA INTESTINALE FELINO?

Vi proponiamo un lavoro recentemente pubblicato da colleghi italiani, tra cui il nostro consulente in gastro-enterologia Enrico Bottero, sulla prestigiosa rivista inglese Journal of Small Animal Practice. In questo studio vengono confrontate tra loro diverse tecniche diagnostiche al fine di rilevare quale sia l'approccio migliore per una corretta diagnosi differenziale tra IBD e linfoma felino.

Tratto da:

Differentiating feline inflammatory bowel disease from alimentary lymphoma in duodenal endoscopic biopsies.

S. Sabattini, E. Bottero, M. E. Turba, F. Vicchi, S. Bo e G. Bettini - Journal of Small Animal Practice • Vol 57 • August 2016.



INTRODUZIONE

- **IBD e linfoma** sono le principali patologie croniche dell'apparato gastroenterico del gatto.
- **L'IBD** è una patologia infiammatoria caratterizzata da enterite linfoplasmocitica cronica del piccolo intestino.
- Il **linfoma intestinale** è la principale forma di linfoma del gatto; il linfoma a piccole cellule a basso grado **T cell** è la forma più frequente e interessa soprattutto il piccolo intestino; il **B cell** linfoma e il linfoma **LGL** sono meno frequenti e possono interessare stomaco e grosso intestino e spesso si manifestano in maniera molto aggressiva.
- La citologia è utile per diagnosticare il linfoma LGL, ma non per distinguere

un linfoma a piccole cellule da un'IBD; per questo scopo è necessario eseguire biopsie chirurgiche o endoscopiche ed un esame istologico.

- L'**esame endoscopico** è la prima scelta per il campionamento perché poco invasivo e privo di effetti collaterali, tuttavia permette l'ispezione solo parziale dell'intestino e non sempre è in grado di fornire campioni qualitativamente adeguati.
- Dal punto di vista **istologico** spesso è difficile distinguere un'IBD da un linfoma a piccole cellule; i patologi si affidano abitualmente per la diagnosi di linfoma a parametri come la distruzione mucosale e l'invasione trasmurale da parte di piccoli linfociti, ma questi parametri non sono sempre valutabili.
- L'utilizzo dell'**immunoistochimica (IHC)** e dei **test di clonalità (PARR)** aumentano la possibilità di diagnosticare con certezza il linfoma a basso grado.
- La PARR nel gatto è meno sensibile che nel cane, e deve sempre essere interpretata insieme alla clinica, all'istologia e all'IHC.

Lo scopo di questo lavoro è valutare l'utilità e la sensibilità/specificità di citologia, istologia, IHC e PARR nella distinzione tra IBD e linfoma a piccole cellule nel gatto su campioni endoscopici duodenali e studiare se queste tecniche possono fornire informazioni relative alla prognosi della malattia.

MATERIALI E METODI

Sono stati inclusi 77 gatti sottoposti ad endoscopia gastroenterica per la presenza di sintomi cronici e con principale diagnosi differenziale di IBD o linfoma. Sono stati esclusi i gatti con evidenza ecografica di lesioni trasmurali e con lesioni localizzate a tratti intestinali non ispezionabili con l'esame endoscopico. Sono state prelevate 8-10 biopsie duodenali. Di queste, da 2 a 4 sono state utilizzate per l'esame citologico che è stato eseguito mediante tecnica di schiacciamento (squash prep) e colorato con colorazioni di Romanosky; le altre biopsie sono state sottoposte ad esame istologico secondo la standardizzazione WSAVA. A partire dalle biopsie istologiche sono state eseguite IHC (CD3 e CD79a) e PARR.

RISULTATI

- La citologia ha diagnosticato 58 casi di IBD e 19 di linfoma; l'istologia 61 di IBD e 16 di linfoma. Con l'IHC 52 casi di IBD e 25 di linfoma T cell, alla PARR 39 casi erano IBD e 38 linfomi in base alla clonalità. 14 casi diagnosticati come IBD all'IHC erano monoclonali alla PARR.
- Complessivamente la PARR è risultata il metodo maggiormente sensibile e specifico per identificare il linfoma. L'IHC è risultata maggiormente sensibile rispetto a citologia e istologia nel distinguere un IBD da un linfoma, tuttavia la specificità di IHC e istologia è sovrapponibile.
- I casi con diagnosi di IBD sono stati trattati con dieta, antibiotici e glucocorticoidi; solo raramente con clorambucile. I casi di linfoma sono stati trattati con prednisolone e clorambucile.
- La sopravvivenza media è stata di 683 giorni, tuttavia i tempi di sopravvivenza



erano differenti tra IBD e linfoma (minori nel secondo caso). I tempi di sopravvivenza erano sovrapponibili tra i gruppi diagnosticati con citologia, istologia e IHC.

- La prognosi peggiore è stata identificata solo per i casi di linfoma diagnosticati con la PARR per i quali è stata calcolata una probabilità di morte 2.8 maggiore rispetto agli altri gruppi.

DISCUSSIONE - CONCLUSIONI

- Molti linfomi felini vengono erroneamente diagnosticati come IBD basandosi solo su istologia e IHC e ciò può derivare dalla presenza di scarsi infiltrati linfoidi nelle sezioni e dal fatto che molti linfomi a piccole cellule sono evoluzione di IBD e vengono campionati in forme di transizione da queste.
- Non sempre la clonalità corrisponde alla presenza di una neoplasia. Un'espansione oligoclonale o monoclonale è possibile anche nelle IBD con possibilità di falsi positivi. Possono essere presenti forme di linfoma con cloni neoplastici multipli su una base infiammatoria (falsi negativi): una PARR negativa comunque non esclude con certezza la presenza di un linfoma.
- I protocolli attuali nel gatto sono in grado di identificare il 60-65% dei linfociti neoplastici; il trattamento con corticosteroidi e la fissazione in formalina possono causare falsi negativi alla PARR.
- La valutazione della clonalità linfoide è una metodica preziosa che viene associata alla valutazione istopatologica e IHC, in quanto consente l'individuazione tempestiva dei casi di linfoma e riduce la possibilità di sottovalutare infiltrati linfocitari.
- Il sospetto istologico di linfoma alimentare però, anche se non confermato da clonalità, non dovrebbe essere ignorato, perché può rappresentare una forma di linfoma esordiente o un processo infiammatorio che successivamente può evolvere in neoplasia: deve quindi essere attentamente monitorato nel corso del tempo.
- Si sottolinea infine che la PARR non deve però mai essere utilizzata da sola per una diagnosi definitiva, ma sempre nell'ambito di un approccio multimodale che riduca al minimo i rischi di diagnosi errate.

TROMBOCITOPENIA AMEGACARIOCITICA NEL CANE

Tratto da:

Clinical data, clinicopathologic findings and outcome in dogs with amegakaryocytic thrombocytopenia and primary immune-mediated thrombocytopenia.

Cooper S.A. et al. – Journal of Small Animal Practice, 57: 142-147; 2016

- Le **trombocitopenie immunomediate (IMT)** possono essere primarie o secondarie. Le **IMT primarie** possono essere la conseguenza della distruzione periferica delle piastrine, o conseguire a distruzione immunomediata dei megacariociti midollari.
- La maggior parte dei cani con **IMT periferica** hanno un aumentato numero di megacariociti nel midollo, che significa un'adeguata risposta alla distruzione periferica. Di contro, la **trombocitopenia amegacariocitica (AMTP)** si caratterizza per l'assenza, o la riduzione del numero di megacariociti midollari.
- Poiché in questi casi la diagnosi si ottiene mediante biopsia citologica o istologia del midollo, procedura in questi casi ritenuta rischiosa da alcuni autori, con il presente lavoro si cercano caratteristiche clinicopatologiche utili a **differenziare IMT da AMTP** e definire la gravità delle due entità patologiche.
- Sono stati inclusi **7 cani con AMTP**. Criteri di inclusione principali erano: conta piastrinica < 40.000 cellule / microlitro, ed ipoplasia o aplasia dei megacariociti midollari, oltre ad esclusione di qualsiasi causa di trombocitopenia secondaria.
- Sono stati inclusi **34 cani con IMT**. Criteri di inclusione principali erano: conta piastrinica < 40.000 cellule / microlitro, ed iperplasia dei megacariociti midollari (numero normale), oltre ad esclusione di qualsiasi causa di trombocitopenia secondaria.
- **AMTP**: Età mediana di presentazione: 6 anni. Razze differenti. Dati laboratoristici salienti: 0-4.300 piastrine / microlitro (mediana: 230); 9-36% di Hct (mediana: 23); 16.000 – 46.000 WBC / microlitro (mediana: 23.000). Tutti i cani manifestavano segni clinici di sanguinamento. Una maggior percentuale di cani in questo gruppo necessitava di trasfusione rispetto al gruppo dei IMT. Solo un soggetto era sopravvissuto al momento della dimissione. La sopravvivenza mediana è stata di 6 giorni, con un paziente sopravvissuto oltre 2 anni.
- **IMT**: Età mediana di presentazione: 7 anni. Razze differenti, ma con prevalenza di meticci. Dati laboratoristici salienti: 0-28.000 piastrine / microlitro (mediana: 800); 10-56% di Hct (mediana: 35); 6.500 – 100.000 WBC / microlitro (mediana: 18.100). La maggior parte dei cani (91%) manifestava



segni clinici di sanguinamento. Una minor percentuale di cani in questo gruppo necessitava di trasfusione. Solo 5 casi non sono sopravvissuti alla dimissione. La sopravvivenza mediana è stata di 19 giorni, con un paziente sopravvissuto oltre 1 anno.

- La durata della ospedalizzazione è stata simile tra i due gruppi.
- **La presentazione clinica era simile tra i due gruppi, ma i pazienti con AMTP avevano prognosi peggiore, più infausta, e tempi di sopravvivenza inferiori, rispetto a quelli con IMT.**
- Inoltre, soggetti con AMTP erano più trombocitopenici ed anemici rispetto a quelli del gruppo con IMT, anche se si evidenziava una consistente sovrapposizione di segni clinici e risultati di laboratorio tra i due gruppi. A motivo di questi rilievi si sottolinea come **la valutazione cito - istologica del midollo osseo rappresenti ancora il metodo diagnostico più accurato per differenziare le due entità patologiche.**

ANEMIA ED OSPEDALIZZAZIONE NEI CANI E GATTI CRITICI

In questo nuovo post di aggiornamento bibliografico, vorremmo sottoporvi questo recente articolo pubblicato sul Journal of Veterinary Internal Medicine, in cui gli autori hanno studiato l'incidenza dell'anemia nei pazienti ospedalizzati in condizioni critiche, oltre alla possibile correlazione con procedure mediche e chirurgiche.

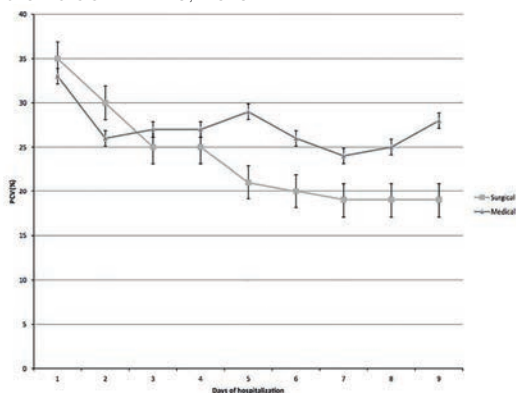
Tratto da:

Hospital-acquired Anemia in Critically Ill Dogs and Cats: A Multi-Institutional Study Linch A.M et al.

Journal of Veterinary Internal Medicine 30: 141-146; 2016

Hospital - acquired Anemia

Fig 1 Median and interquartile range for packed cell volume versus time for dogs with medical and surgical disease.



L'anemia rappresenta un rilievo laboratoristico comune nel paziente critico. Eziologia, entità e cronicità dell'anemia influiscono sulle strategie terapeutiche del paziente, ed in particolare su eventuali pratiche trasfusionali.

L'anemia del paziente ospedalizzato rappresenta un rilievo frequente nelle unità di terapia intensiva degli ospedali umani. Flebotomie ripetute, scarsa risposta del midollo ematopoietico ed uno stato di iposideremia cronica sono responsabili dello sviluppo di anemia in pazienti umani.

Le informazioni in medicina veterinaria sono limitate. In uno studio nel gatto è stata dimostrata l'insorgenza di anemia nel 74% dei pazienti che non erano anemici al momento dell'ospedalizzazione. Gli stessi pazienti necessitavano di un periodo di degenza maggiore rispetto ai non anemici.

In questo lavoro è stata pertanto studiata la prevalenza dell'anemia, l'associazione tra sviluppo di anemia, flebotomie, pratiche trasfusionali, durata dell'ospedalizzazione ed esito finale.



Sono stati inclusi **688 cani e 163 gatti**. 567 pazienti erano affetti da patologie mediche e 284 da patologie chirurgiche.

Al momento dell'ospedalizzazione, **la prevalenza dell'anemia era del 32%** (272/851), presente nel 30% di cani (210/688) e nel 49.7% (81/163) di gatti.

I gatti erano significativamente **più a rischio di sviluppare anemia rispetto ai cani**, ma questi ultimi, se sviluppavano anemia, era meno probabile che sopravvivessero dopo la dimissione. Il rischio di sviluppare anemia nel corso dell'ospedalizzazione era significativamente maggiore nei soggetti ospedalizzati per motivi chirurgici, rispetto a quelli per motivi medici.

I pazienti che si anemizzavano durante l'ospedalizzazione **subivano un numero significativamente superiore di prelievi di sangue (flebotomie)**, rispetto a quelli che non sviluppavano anemia.

CONCLUDENDO:

Lo studio in oggetto conferma che l'anemia rappresenta evenienza frequente nel paziente ospedalizzato nelle unità di terapia intensiva, nonostante l'elevata prevalenza al momento dell'ospedalizzazione.

Sembra si verifichi un'apparente associazione tra l'insorgenza o il peggioramento dell'anemia ed i successivi e continui prelievi di sangue (flebotomie). Tale rilievo giustifica approfondimenti relativi all'impatto reale dei prelievi di sangue (in termini sia di numero, sia di volume di sangue prelevato).

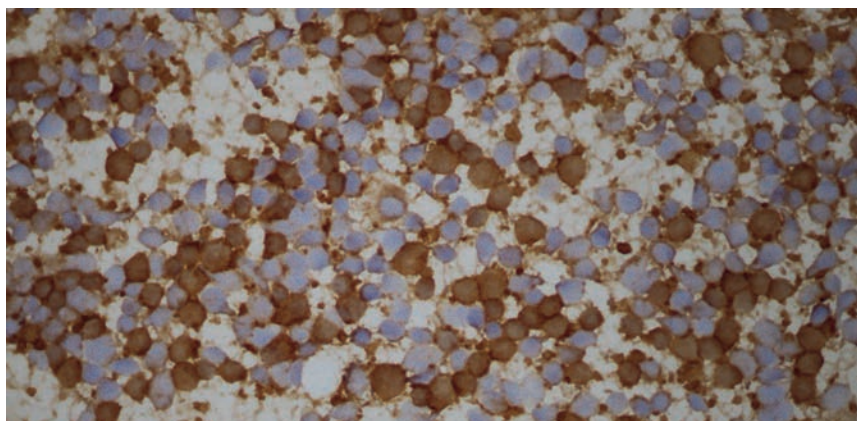
L'esito finale nei cani che tendevano a sviluppare anemia era con più frequenza infausto, rispetto ai gatti.

Sembra opportuno e prudente **istituire misure atte a limitare l'anemia** in corso di ospedalizzazione nel paziente critico, quali ad esempio **prelevare piccole quantità di sangue**, limitando pertanto la quantità di sangue prelevato all'essenziale.

IMMUNOCITOCHIMICA E FENOTIPIZZAZIONE DEI LINFOMI

La fenotipizzazione dei linfomi nel cane e nel gatto si può ottenere mediante diverse tecniche.

I metodi più consigliabili perché in grado di fornire maggiori informazioni cliniche ed oncologiche sono sicuramente l'immunoistochimica da biopsie istologiche e la citofluorimetria su sospensioni cellulari ottenute da aspirati degli organi colpiti.



Un metodo alternativo, a cui si può ricorrere nel caso in cui si disponga solamente di strisci citologici di buona qualità, è l'immunocitochimica.

Con questa metodica, si utilizzano principi analoghi a quelli della corrispettiva tecnica istologica (immunoistochimica), utilizzando anticorpi primari in grado di riconoscere specifici antigeni cellulari canini e felini delle cellule linfoidi B (es. CD20 e CD79a) e T (es. CD3), il cui legame con le cellule target viene poi svelato attraverso anticorpi secondari marcati con sostanze colorate.

Il problema principale dell'immunocitochimica risiede nella variabile qualità dei campioni da analizzare e nella standardizzazione del metodo di marcatura delle cellule. Inoltre, le procedure manuali conducono spesso a risultati poco ripetibili e di scarsa qualità, che ne hanno limitato l'utilizzo negli anni passati.

Il nostro laboratorio è dotato di immunocoloratore automatico che permette di ottimizzare le procedure di colorazione immunoistochimiche ed immunocitochimiche, oltre che di ridurre i tempi di esecuzione e refertazione della procedura.

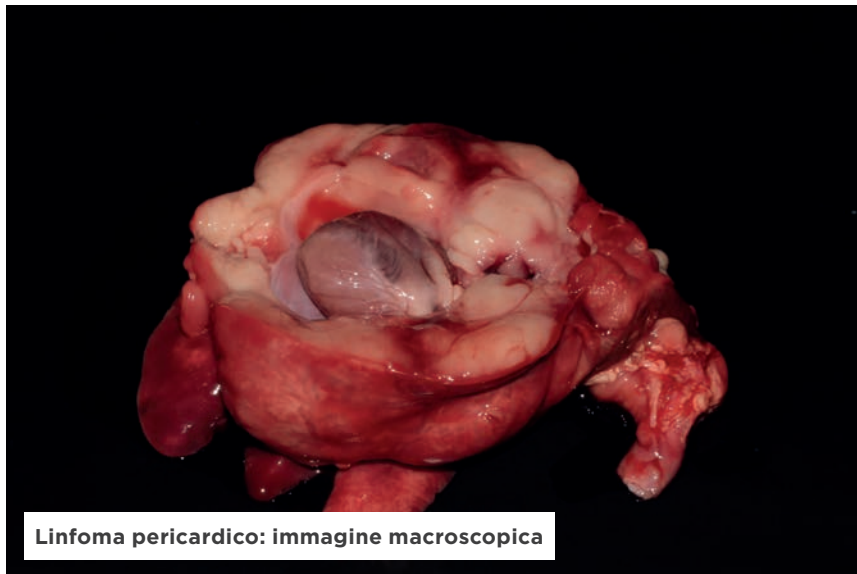


Ad oggi possiamo quindi fenotipizzare con regolarità la maggior parte dei preparati citologici di buona qualità in corso di linfoma, al fine di stabilirne l'origine B-cell vs T-cell.

Tale metodica, che non va mai disgiunta da una caratterizzazione citomorfologica/istologica del linfoma, può essere richiesta allorché le altre metodiche di fenotipizzazione non siano possibili.

UNA NUOVA LOCALIZZAZIONE DEL LINFOMA NEL GATTO DESCRITTA DAI CONSULENTI LA VALLONEA

Il Dr. Luigi Venco, EVPC Diplomate, e il Dr. Walter Bertazzolo, ECVCP Diplomate, consulenti del Laboratorio La Vallonea, ci parlano, in questa intervista a quattro mani, di una loro recente pubblicazione apparsa sulla prestigiosa rivista internazionale Journal of Feline Medicine and Surgery.



Linfoma pericardico: immagine macroscopica

Domanda: Di cosa si tratta innanzitutto?

Risposta: Nel corso degli ultimi 15 anni abbiamo diagnosticato, presso la nostra struttura, 7 casi di linfoma pericardico felino, che sono stati descritti nell'articolo in questione. A questi dobbiamo aggiungerne altri due recentemente diagnosticati, per un totale di 9 casi.

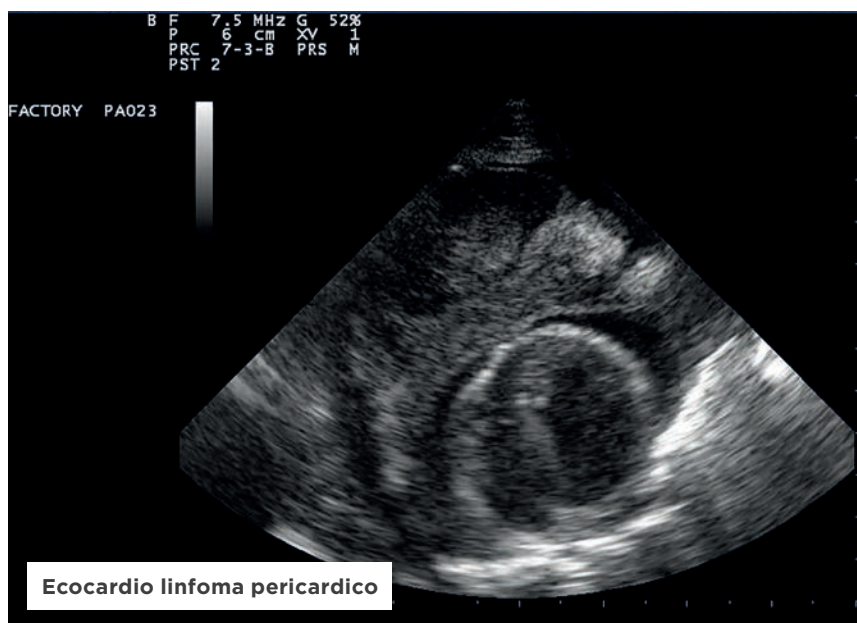
Domanda: Perché questa localizzazione è così rara e non è mai stata descritta precedentemente, nemmeno in un singolo case report?

Risposta: Domanda dalla difficile risposta: alcuni linfomi pericardici potrebbero venire diagnosticati erroneamente come linfoma mediastinico. Una diagnostica per immagini adeguata, però, riesce a discriminare molto agevolmente le due localizzazioni. Inoltre, potrebbe anche accadere che alcune neoplasie non

vengano approfondite con biopsie, trascurando la possibilità che si tratti di una neoplasia linfoide.

Domanda: La neoplasia era localizzata solo al pericardio?

Risposta: Sulla base dei riscontri ecografici e patologici, i gatti presentavano un coinvolgimento massivo e diffuso del pericardio con focali invasioni microscopiche di altri organi. Il pericardio appariva notevolmente ispessito (fino a 2 cm) sia all'esame eco-cardiografico che alla necropsia. Per queste ragioni possiamo presumere che la localizzazione primaria fosse proprio quella pericardica.



Domanda: Quale sintomatologia presentavano questi gatti alla visita clinica?

Risposta: Tutti manifestavano gravi problemi respiratori, scarse condizioni corporee, anemia, attenuazione dei toni cardiaci e presenza di versamento pleurico e/o pericardico.

Domanda: Avete notato una relazione con una eventuale infezione da FeLV?

Risposta: In effetti 6 gatti su 7 risultavano positivi al test sierologico antigenico o alla ricerca dell'antigene virale mediante immuno-istochimica. Presumibilmente,

questa forma linfomatosa presenta, quindi, caratteristiche eziopatologiche simili al linfoma mediastinico, anch'esso frequentemente associato all'infezione da FeLV.

Domanda: Come siete giunti ad una diagnosi definitiva?

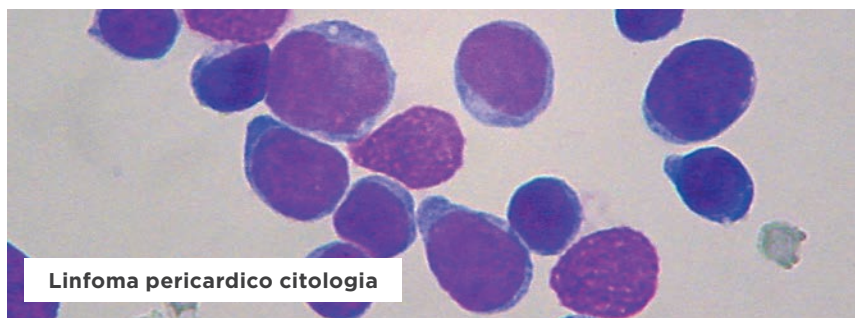
Risposta: Innanzitutto l'ecocardiografia era assolutamente suggestiva, con un ispessimento diffuso di tutto il pericardio (fino a 1-2 cm) che presentava un aspetto "cerebroide", esigua falda di versamento, senza peraltro evidenza di tamponamento o compressione della camere cardiache. Inoltre in molti casi abbiamo avuto una conferma in vita mediante esame citologico della neoplasia e/o del versamento, confermata poi anche dalla necropsia e dall'esame istologico.

Domanda: Domanda per patiti dell'oncologia: erano linfomi T o B-cell?

Risposta: Dei 7 pubblicati, 3 erano B-cell e 3 T-cell, in uno non abbiamo potuto effettuare l'immunofenotipo.

Domanda: È una neoplasia trattabile?

Risposta: È ovvio che abbiamo dati molto scarsi vista la rarità della condizione. Possiamo però dire che l'unico gatto sottoposto ad un trattamento polichemioterapico ha vissuto per quasi due anni, salvo poi recidivare con metastasi a distanza. Gli altri soggetti sono stati soppressi e non hanno risposto a singoli trattamenti con cortisonici o doxorubicina.

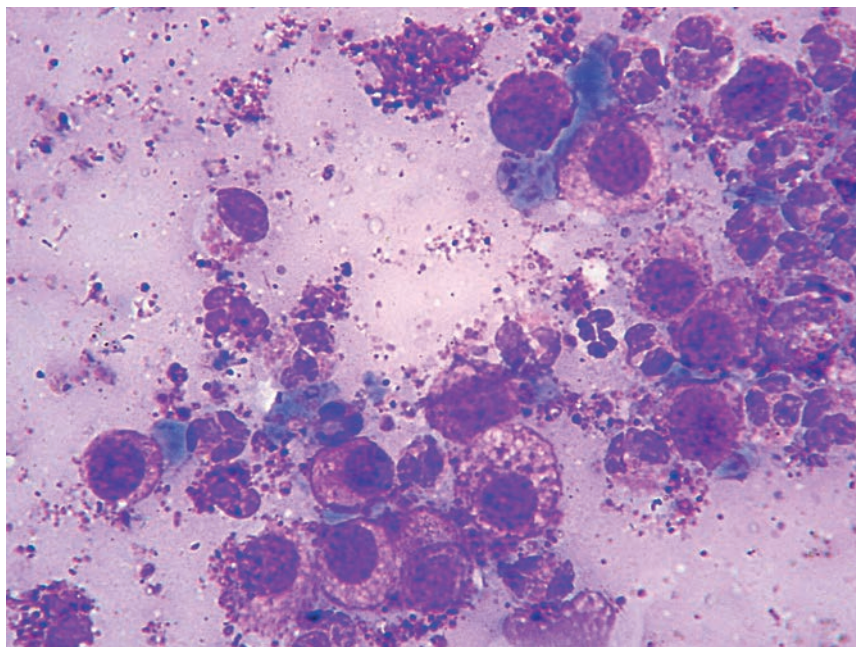


Per chi volesse sapere di più, questa è la referenza bibliografica completa: **Perycardial lymphoma in seven cats (2014)** Amati M, Venco L, Roccabianca P, Santagostino SF, Bertazzolo W. Journal of Feline Medicine and Surgery 16: 507-512.



CLASSIFICAZIONE CITOLOGICA DEI MASTOCITOMI DEL CANE E VALORE PROGNOSTICO

Cari colleghi, in questo nuovo post di aggiornamento bibliografico, vi proponiamo un articolo relativo all'utilizzo di un sistema classificativo citologico per stabilire il grado dei mastocitomi del cane. L'utilizzo di questo sistema sembra ben correlarsi con la nuova classificazione istopatologica di Kiupel in soli due gradi (basso e alto grado) ed avere significato prognostico.



Tratto da:

Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome

Camus M.S. et al. – Veterinary Pathology 2016 Mar 31. [Epub ahead of print]

INTRODUZIONE

- Il MASTOCITOMA rappresenta una patologia neoplastica molto frequente nella specie canina, che costituisce circa il 20 % di tutte le neoplasie cutanee.
- La recente classificazione istologica di Kiupel ha permesso di suddividere i

mastocitomi in neoplasie di grado I (basso grado) e di grado II (alto grado), rendendo di fatto obsoleta la precedente classificazione di Patnaik che prevedeva anche un grado intermedio, il cui comportamento clinico era difficilmente prevedibile.

- L'applicabilità della classificazione istologica di Kiupel, utilizzando i criteri morfologici istologici, alla valutazione dei campioni citologici è stata dimostrata da alcuni precedenti lavori, al fine di fornire utili indicazioni prognostiche.
- Scopo del lavoro è stato confrontare le caratteristiche cito - istologiche, utilizzando l'istologia come gold standard ed applicando la nuova classificazione alla citologia, al fine di definire un accurato e riproducibile sistema di gradazione citologica che risulti utile per predire l'evoluzione/sopravvivenza del paziente affetto da mastocitoma.

MATERIALI E METODI

- Sono stati inclusi 152 casi di cui erano disponibili vetrini citologici e relativi preparati istologici.
- La valutazione istologica è stata effettuata basandosi sia sulla precedente classificazione di Patnaik (3 gradi) sia sulla più recente classificazione di Kiupel (2 gradi).
- **L'interpretazione citologica** si è basata sulla valutazione della granularità delle cellule, del pleomorfismo nucleare, della presenza di collagene, della presenza di figure mitotiche, della presenza di binucleazione e multinucleazione e della valutazione dell'anisocariosi.
- In 139 dei 152 casi è stata valutata l'evoluzione completa in termini di sopravvivenza, modalità terapeutiche, recidive ed eventuale causa del decesso.

RISULTATI

- Utilizzando la classificazione istologica di Patnaik, il 7.9% sono stati classificati come grado 1, l'85.5% come grado 2, ed il 6.6% come grado 3.
- Utilizzando la classificazione istologica di Kiupel, l'88.8% sono stati classificati come basso grado, e l'11.2% come alto grado.
- In base all'algoritmo citologico, sono stati classificati tumori di grado elevato quelli con scarsa granularità citoplasmatica, o quelli che manifestavano almeno due delle seguenti caratteristiche citologiche: presenza di figure mitotiche, anisocariosi, binucleazione o multinucleazione, e pleomorfismo nucleare.
- I cani con mastocitomi di **grado istologico elevato**, in base alla più recente classificazione istologica, avevano una probabilità di decesso 38 volte superiore rispetto a quelli con mastocitomi di basso grado. Similmente, cani con mastocitomi di **grado citologico elevato** avevano una probabilità di decesso 25 volte superiore rispetto a quelli con mastocitomi di basso grado.



- Le caratteristiche citologiche significativamente correlate alla sopravvivenza sono state la granularità citoplasmatica, la presenza di figure mitotiche e la multinucleazione.

DISCUSSIONE - CONCLUSIONI

- La gradazione citologica proposta è stata predittiva della sopravvivenza dei soggetti ai quali è stata applicata, e si è ben correlata alla nuova classificazione istologica di Kiupel.
- Con questa gradazione, la valutazione citologica può rappresentare un valido test di screening ed aiutare l'oncologo ad approcciare il caso in modo corretto.
- I mastocitomi definiti citologicamente di grado elevato sono stati in numero superiore rispetto a quelli valutati istologicamente: questo potrebbe potenzialmente comportare di emettere una percentuale superiore di prognosi peggiori, rispetto alla valutazione istologica definitiva.
- Il pleomorfismo nucleare non si è dimostrato parametro accurato per prevedere la sopravvivenza, come pure la presenza di eosinofili, necrosi e collagene.

Concludendo, mastocitomi citologicamente di basso grado hanno dimostrato tempi di sopravvivenza superiori rispetto a quelli di grado elevato, ed è risultato altamente improbabile che mastocitomi classificati citologicamente di basso grado venissero successivamente classificati di grado elevato all'istologia.

L'ONCOLOGO (LAURA MARCONATO) ED IL PATOLOGO CLINICO (WALTER BERTAZZOLO) A CONFRONTO: IL MASTOCITOMA DEL GATTO: SIMILITUDINI E DIFFERENZE CON IL MASTOCITOMA DEL CANE

Abbiamo chiesto a Laura Marconato, Dipl. ECVIM-CA (Oncology), del Centro Oncologico Veterinario di Sasso Marconi e Consulente del Laboratorio La Vallonea, ed a Walter Bertazzolo, Dipl. ECVCP e Direttore scientifico del Laboratorio La Vallonea, quali sono le similitudini e quali le differenze tra mastocitoma del gatto e del cane.

Domanda: Quali sono le similitudini tra mastocitoma del gatto e del cane?

Laura: in realtà da un punto di vista clinico sono più le differenze. Se dobbiamo guardare cosa hanno in comune, in entrambe le specie il mastocitoma è un tumore maligno, la cui aggressività biologica dipende però da numerosi fattori. Inoltre, in entrambe le specie il mastocitoma può interessare sedi cutanee e viscerali. Infine, sia nel cane che nel gatto le mutazioni di c-kit giocano un ruolo importante nel meccanismo patogenetico (anche se in percentuali variabili e coinvolgendo esoni differenti).

Walter: come per il cane la diagnosi è molto semplice, perché i mastociti sono facili da identificare mediante citologia ed istologia. Anche nel gatto esistono varianti citologiche ben differenziate, costituite da mastociti apparentemente normali per morfologia, oltre a forme meno differenziate, caratterizzate da maggiore pleomorfismo, presenza di cellule poco granulate, multi-nucleate ed atipie citologiche evidenti.



Domanda: Quali sono, invece, le differenze?

Laura: moltissime! Innanzitutto, nel gatto, il mastocitoma a sede viscerale è più frequente di quello a sede cutanea, e si accompagna (come del resto anche nel cane) ad un comportamento biologico molto aggressivo.

Di contro, il mastocitoma a sede cutanea primitiva ha spesso un comportamento biologico poco aggressivo nel gatto (ad eccezione del mastocitoma pleomorfo), e la chirurgia può essere curativa nella maggior parte dei casi. Attenzione alla stadiazione, che è sempre obbligatoria, poiché se le lesioni cutanee sono multiple, frequentemente è presente anche un coinvolgimento viscerale (solitamente sede primaria in questi casi della neoplasia con metastatizzazione cutanea successiva). In questo caso, la chirurgia delle lesioni cutanee non ha senso, e la prognosi diventa sfavorevole.

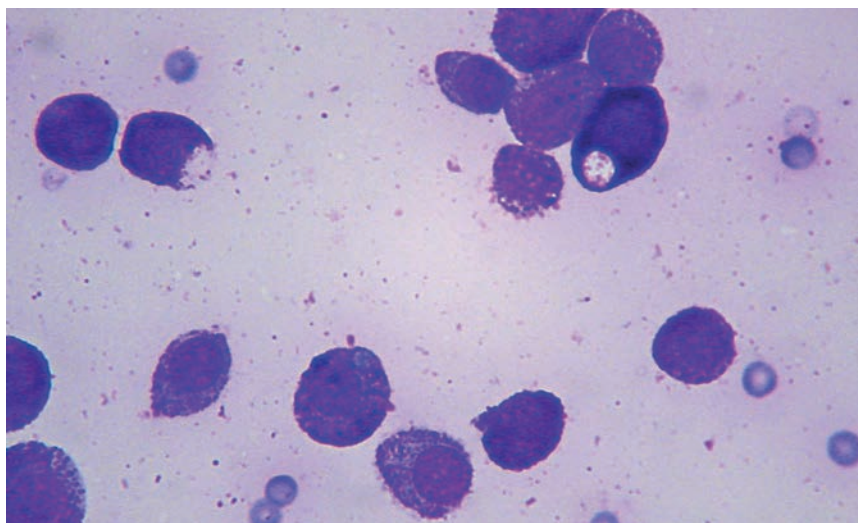


Walter: a differenza del mastocitoma canino, da un punto di vista clinico-patologico si assiste spesso alla presenza di mastocitemia, in particolare quando vi è un coinvolgimento splenico. Non esiste inoltre un grading istologico che abbia una confermata valenza prognostica anche perché, a differenza del cane, in cui esistono ormai decine di pubblicazioni relative a questa comune neoplasia, nel gatto le informazioni scientifiche disponibili sono abbastanza scarse e quindi ancora poco consistenti dal punto di vista statistico.

Domanda: Come si stadia, quindi, il mastocitoma del gatto?

Laura: come nel cane, è necessario valutare il linfonodo regionale (citologia), il torace (radiografie) e l'addome (ecografia). Consiglio anche nel gatto di valutare i visceri mediante citologia.

Walter: trattandosi di una neoplasia che è più spesso viscerale che cutanea, e conoscendo la bassa sensibilità diagnostica dell'ecografia per questo tipo di neoplasie, è mandatorio eseguire aspirati viscerali, in particolare di milza e fegato, in quanto spesso coinvolti. Va ricordato però che questo tipo di procedura non è scevra da rischi coagulativi tra cui sanguinamenti legati alla degranulazione che possono anche essere letali. Va quindi eseguita con criterio e con le adeguate precauzioni (per esempio valutando prima un profilo coagulativo ed essendo pronti per una trasfusione o a una chirurgia d'emergenza).



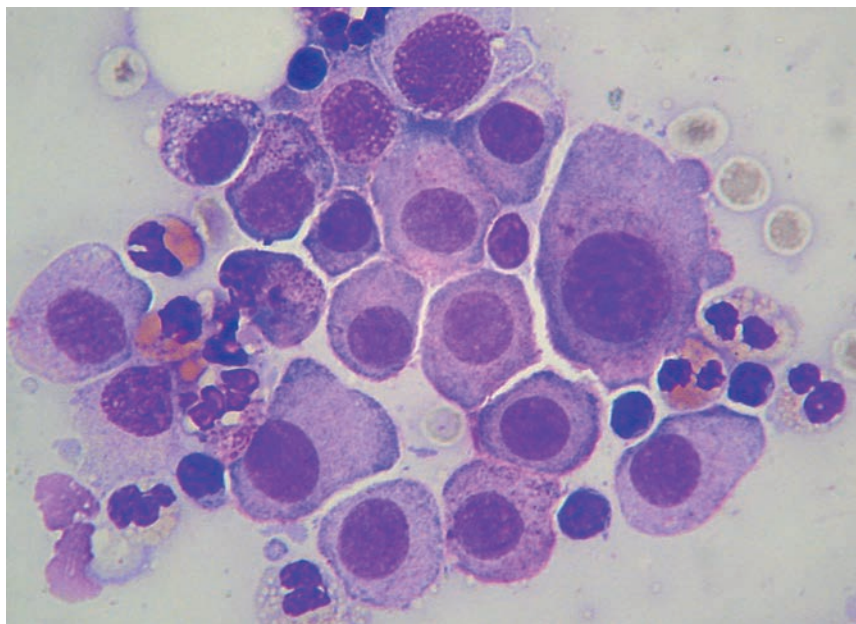
Domanda: Altre differenze?

Laura: nel cane abbiamo a disposizione più farmaci, ma anche più dati in letteratura, che ci permettono di scegliere tra diverse opzioni. Nel gatto invece ci sono davvero poche indicazioni e non esiste un trattamento di prima linea. Inoltre, ci tengo a ricordare che i farmaci a bersaglio molecolare sono attualmente approvati soltanto per la specie canina. Solo mediante ulteriori studi sarà possibile avere delle linee guida più consistenti come per il cane.



L'ONCOLOGO (LAURA MARCONATO) ED IL PATOLOGO CLINICO (WALTER BERTAZZOLO) A CONFRONTO: IL MASTOCITOMA NEL CANE, COSA FARE E COSA NON FARE

In questo nuovo articolo abbiamo chiesto alcuni utili consigli pratici riguardo il mastocitoma canino a Laura Marconato, Dipl. ECVIM-CA (Oncology), del Centro Oncologico Veterinario di Sasso Marconi e Consulente del Laboratorio La Vallonea, e a Walter Bertazzolo, Dipl. ECVCP e Direttore scientifico del Laboratorio La Vallonea

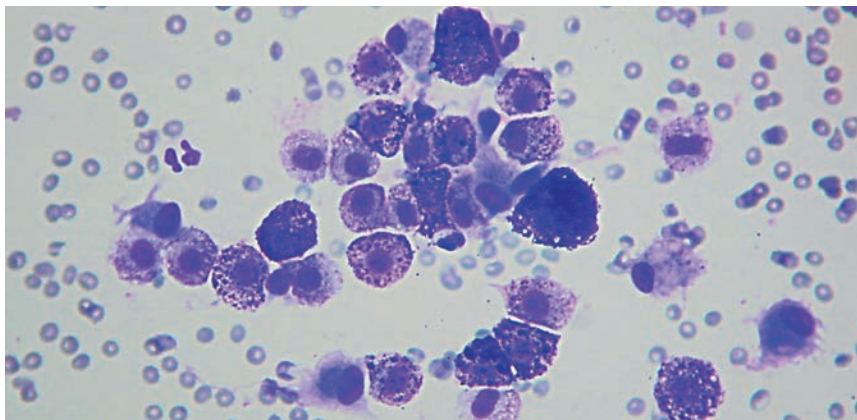


Domanda: Innanzitutto parliamo di una neoplasia estremamente frequente nella pratica oncologica, ma iniziamo col fare alcune puntualizzazioni. I mastocitomi del cane non sono tutti uguali: in cosa differiscono principalmente?

Laura: è verissimo! Lo spettro del comportamento biologico è estremamente variabile. Alcuni mastocitomi possono essere curati con la sola chirurgia, altri sono terribilmente aggressivi e, di fatto, non esistono valide opzioni terapeutiche. Tra un'estremità e l'altra ci sono tutte le sfumature. A stabilire il comportamento biologico (e quindi prognosi e terapia) sono essenzialmente due fattori: stadio clinico e grado istologico.

Walter: sono d'accordissimo con Laura. Il solo aspetto citologico del mastocitoma non è indicativo necessariamente della prognosi o, meglio, mi correggo: se siamo di fronte a forme poco differenziate c'è sicuramente da aspettarsi un comportamento biologico aggressivo.

Viceversa, la presenza di un mastocitoma ben differenziato non indica necessariamente che siamo di fronte ad una neoplasia "poco maligna". In questo caso dipende molto dallo stadio clinico e quindi dall'aspetto clinico della lesione, dalle sue dimensioni, estensione, ecc.



Domanda: Quale dovrebbe essere l'approccio clinico corretto nella gestione di un cane con mastocitoma? È diverso in base al tipo/grado, alla sede, dimensione, ecc.?

Laura: già da un'accurata visita clinica riusciamo ad ottenere tante informazioni, che indirizzano il sospetto verso una forma più o meno aggressiva. Ad esempio, un nodulo singolo, non ulcerato, non eritematoso, di dimensioni < 3 cm, in aree corporee definite "biologicamente non aggressive", quali torace, fianco, arti, senza linfadenomegalia regionale, depone a favore di un mastocitoma a comportamento biologico più benigno e quindi (probabilmente) curabile con la sola chirurgia.

Al contrario, un nodulo in sede anatomica considerata maligna (muso, dita, inguine, perineo, scroto), ulcerato, eritematoso, eventualmente con noduli satelliti, con linfadenomegalia regionale, e/o con sintomi sistemici, depone a favore di un mastocitoma decisamente più aggressivo!

Qualunque sia il sospetto clinico, è necessario stadiare accuratamente il cane, eseguendo: esami del sangue, citologia del linfonodo regionale, radiografie del torace, ecografia dell'addome, citologia eco guidata di fegato e milza



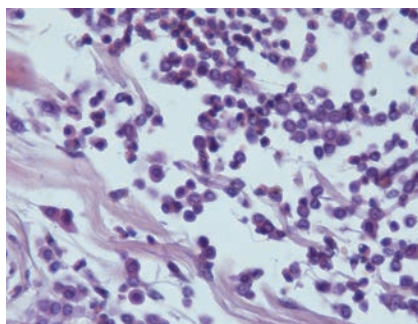
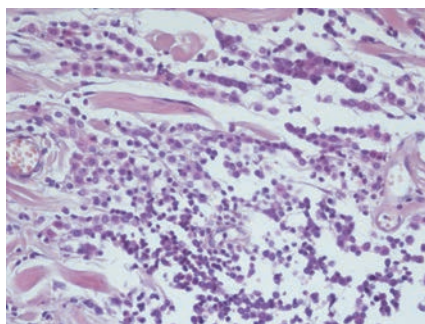
indipendentemente dall'aspetto ecografico, citologia del midollo osseo in caso di metastasi evidenziate altrove!

Domanda: Esistono diversi gradi di mastocitoma. È necessario fare sempre un esame istologico oppure è sufficiente una citologia?

Laura: l'istologia fornisce al clinico moltissime informazioni davvero utili per stabilire la prognosi e scegliere la terapia più indicata. I mastocitomi di grado 3 secondo Patnaik o di alto grado secondo Kiupel non possono essere guariti con la sola chirurgia, e richiedono sempre una terapia medica, poiché il loro tasso metastatico è elevato.

Inoltre, laddove il mastocitoma venisse asportato in toto, il patologo ci darà informazioni sui margini di escissione chirurgica, importantissimi per stabilire se è richiesto un ulteriore intervento locale (seconda chirurgia o radioterapia). Infine, talvolta l'immunoistochimica (in particolare Ki67 e KIT) fornisce informazioni prognostiche aggiuntive.

Ovviamente non sempre è possibile ricorrere all'istologia: si tratta di casi inoperabili oppure di casi con metastasi a distanza, dove la chirurgia non modificherebbe in modo sostanziale la prognosi e probabilmente neanche la terapia. In questi casi è sufficiente la citologia.



Walter: la sola citologia ci può dare un'idea del grado istologico che avrà il mastocitoma, in particolare con la più recente classificazione Kiupel. Però altre informazioni devono necessariamente passare attraverso l'istologia (es. i margini di escissione, oppure la già citata immuno-istochimica per Ki67, indicatore di proliferazione cellulare, e KIT). Durante lo staging d'altronde non è possibile fare biopsie istologiche agli organi da indagare, per cui ci si deve per forza "accontentare" della citologia (per milza, midollo osseo, ecc.).

Domanda: Quale approccio dovrebbe avere un bravo medico veterinario, anche non specializzato, nel proprio ambulatorio, di fronte ad una diagnosi di mastocitoma?

Laura: staging, staging, staging! Mentre la terapia, spesso, richiede l'intervento di uno specialista, la stadiazione è alla portata di tutti! I casi ben stadiati fanno la felicità dell'oncologo medico, ma anche del paziente, che non deve subire ritardi nell'inizio della terapia.

Domanda: Quali sono le cose assolutamente da non fare?

Laura: l'errore più frequente che ho riscontrato è l'utilizzo, molto spesso scriteriato, di inibitori tirosin-chinasici. Questi farmaci NON sono farmaci di prima linea. Al contrario, l'indicazione al loro utilizzo è limitata a mastocitomi di grado 2/3 secondo Patnaik, non operabili e/o recidivanti, non metastatici (Masivet) o eventualmente con metastasi al linfonodo regionale (Palladia). Inoltre, tali farmaci funzionano meglio se c-kit è mutato. Ricordo che la presenza di mutazione non significa l'espressione immunoistochimica di KIT, e richiede una valutazione a parte!

Walter: quindi Laura, giusto per spiegare anche ai non addetti ai lavori ed esperti di immuno-istochimica: il Ki67 ti serve per sapere qual è l'indice di proliferazione cellulare dei mastociti neoplastici e quindi in linea teorica il grado di malignità della neoplasia; mentre il KIT come lo utilizzi?

Laura: L'espressione immuno-istochimica di Ki67 e del KIT hanno un significato prognostico.

Generalmente si usano in tandem e danno un'indicazione prognostica. L'analisi della mutazione del gene c-kit, invece, mi dice se alla base della neoplasia c'è una mutazione di questo gene e quindi avrebbe senso o meno l'utilizzo di farmaci tirosin-chinasici.

In ultima analisi, quando siamo di fronte ad una patologia neoplastica come quella trattata in questo articolo e che può compromettere la sopravvivenza del nostro paziente, è sempre bene rivolgersi ad uno specialista e, possibilmente, fornire al collega tutti gli elementi necessari ad un corretto e completo approccio clinico.



CORRELAZIONE DI BIOMARKER SIERICI ED URINARI CON IL DANNO RENALE IN CANI CON NEFROPATIE CRONICHE PROTEINURICHE

Di Silvia Benali e Luca Aresu

Tratto da:

Correlation of Urine and Serum Biomarkers with Renal Damage and Survival in Dogs with Naturally Occurring Proteinuric Chronic Kidney Disease

J.A. Hokamp, R.E. Cianciolo, M. Boggess, G.E. Lees, S.L. Benali, M. Kovarsky, and M.B. Nabity Journal of Veterinary Internal Medicine 2016;30:591-601

INTRODUZIONE

La malattia renale cronica è una condizione patologica caratterizzata da perdita progressiva della funzione renale. Si riscontra frequentemente nel cane e può riconoscere varie cause scatenanti.

La proteinuria, tipicamente quantificata misurando il rapporto tra proteina e creatinina urinaria (PU/CU), è un indicatore sensibile e precoce di malattia renale. La presenza nelle urine di proteine ad alto peso molecolare indica un danno glomerulare, mentre l'identificazione di proteine a basso peso molecolare è ritenuto più specifico per un danno tubulare.

Attualmente la biopsia renale rappresenta il gold standard per identificare il tipo di danno renale ma rappresenta una procedura invasiva e non sempre applicabile.

Mancano quindi metodi diagnostici non invasivi, sensibili e specifici in grado di identificare precocemente un danno renale e caratterizzare il meccanismo patologico sottostante.

SCOPO DEL LAVORO E MATERIALI E METODI

Testare nuovi marcatori URINARI di danno renale, in associazione alla valutazione patologica del danno glomerulare e tubulo interstiziale, con l'obiettivo di determinare se tali marcatori forniscono informazioni sulla presenza/assenza ed entità di danno glomerulare e/o tubulo interstiziale.

Lo studio è stato svolto su 180 cani con patologie renali di vario tipo e di cui fossero disponibili urine, siero e tessuto renale (quest'ultimo esaminato tramite tecniche di microscopia ottica, elettronica ed immunofluorescenza secondo le linee guida WSAVA Cianciolo RE et al Vet Pathol 2015;53:113-135).

Parametri analizzati:

Parametri convenzionali di valutazione della funzionalità renale: creatininemia, PU/CU, peso specifico urinario.

Nuovi marcatori:

Immunoglobuline G (IgG) urinarie e sieriche; Immunoglobuline M (IgM) urinarie

e sieriche; retinol binding protein (RBP) urinaria e sierica; neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) urinaria e sierica; N-acetyl-b-D-glucosaminidase urinaria (NAG).

RISULTATI

Sono stati esaminati 180 cani di età compresa tra 2 mesi e 14 anni di cui 44.4% femmine sterilizzate, 31.7% maschi castrati, 13.9% maschi interi e 10% femmine intere. Rappresentate numerose razze.

Diagnosi:

Sono state diagnosticate le seguenti patologie: 34,4% Glomerulonefrite immunomediata; 26,1% Glomerulosclerosi; 10% Amiloidosi; 17,8%; altre Nefropatie; 8,3% patologie tubulari primarie; infine il 3,3% è risultato normale o non diagnostico.

Parametri urinari:

Si è trovata una buona correlazione tra i nuovi parametri testati, l'aumento del rapporto PU/CU e la presenza di danno renale.

Molecole ad alto peso molecolare (tra cui IgG ed IgM) sono state maggiormente correlate con danno glomerulare, l'incremento di IgM e NAG è risultato specificamente associato a glomerulonefriti immunomediate.

Parametri sierici:

È risultata una scarsa correlazione tra i parametri analizzati e il danno renale, il valore di creatininemia presenta la maggiore correlazione con la gravità di danno tubulo interstiziale.

Un incremento di: creatininemia, delle escrezioni frazionate di IgM, RBP, NGAL, IgG, nonché incremento di uRBP/c, e della gravità del danno morfologico sono **SIGNIFICATIVAMENTE ASSOCIATI AD UN MINOR TEMPO DI SOPRAVVIVENZA** (i più rilevanti: creatininemia, escrezione frazionata di IgM e il danno glomerulare tramite microscopia elettronica).

DISCUSSIONE

Dei 5 nuovi parametri analizzati molti appaiono correlati con la presenza/gravità di danno renale glomerulare, tubulo interstiziale o entrambi.

PARAMETRI CONVENZIONALI di funzionalità renale (creatinemia e PU/CU) sono buoni indicatori di danno renale.

La **Creatininemia** è il miglior parametro indicativo del danno tubulo interstiziale anche se più tardivo.

NB. nei cani di piccola taglia e/o con danno muscolare può essere di difficile interpretazione.



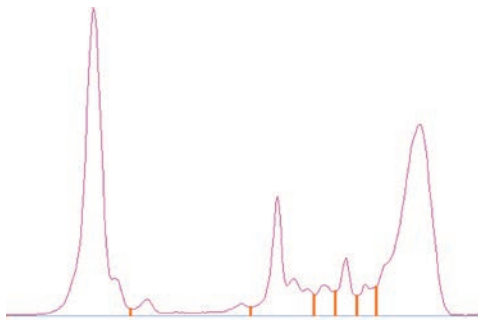
PU/CU ottimo parametro per valutare il danno glomerulare. Parametro sensibile in grado di identificare un danno glomerulare lieve (evidente a livello ultrastrutturale).

I NUOVI PARAMETRI potrebbero fornire informazioni AGGIUNTIVE sul tipo di danno (glomerulare/tubulare; glomerulopatia immunomediata/non-immunomediata) ed informazioni prognostiche.

La valutazione di IgM e NAG urinari appaiono potenzialmente utili per identificare una patologia immunomediata.

La BIOPSIA RENALE valutata tramite microscopia ottica, elettronica ed immunofluorescenza rimane attualmente il gold standard per la diagnosi.

Cari colleghi, vi proponiamo il riassunto di un interessante articolo appena apparso sul prestigioso Journal of Feline Medicine & Surgery, in cui sono state analizzate le caratteristiche elettroforetiche dei gatti affetti da FIP negli ultimi 10 anni. Come vedrete non mancano le sorprese...



Frequency of electrophoretic changes consistent with feline infectious peritonitis in two different time periods (2004-2009 vs 2013-2014).

Stranieri A et al. - Journal of Feline Medicine and Surgery 2016 DOI: 10.1177/1098612X16664389 jfms.com

INTRODUZIONE

- L'ELETTROFORESI delle SIEROPROTEINE rappresenta un classico test indiretto impiegato a supporto della diagnosi di Peritonite Infettiva Felina (FIP).
- Il classico tracciato elettroforetico si caratterizza per un incremento delle α_2 e delle γ globuline, anche se la presenza di una gammopatia policlonale non rappresenta un rilievo specifico di FIP.
- La finalità dello studio è stata verificare retrospettivamente la frequenza - apparentemente elevata - di tracciati elettroforetici non riconducibili a FIP in gatti con FIP confermata negli anni recenti (2013-2014), rispetto ai tracciati elettroforetici in gatti con FIP di anni antecedenti (2004-2009).

MATERIALI E METODI

- Sono stati inclusi gatti deceduti per FIP e gatti sani, dei quali era presente elettroforesi capillare (CZE) o in gel di agarosio (AGE). In particolare, i gatti deceduti per FIP possedevano caratteristiche necroscopiche riconducibili a FIP e presenza del virus all'interno di lesioni confermata in immunohistochimica.
- Di ogni gatto sono stati considerati i seguenti parametri: proteine totali, albumine, α_2 e γ globuline, globuline totali e rapporto albumine:globuline (A:G ratio).
- Inoltre, i tracciati elettroforetici sono stati confrontati visivamente e classificati in "consistenti con FIP", "dubbi per FIP" e "non consistenti con FIP".



- Sono stati infine confrontati i risultati ottenuti nei due periodi distinti: 2013-2014 e 2004-2009

RISULTATI

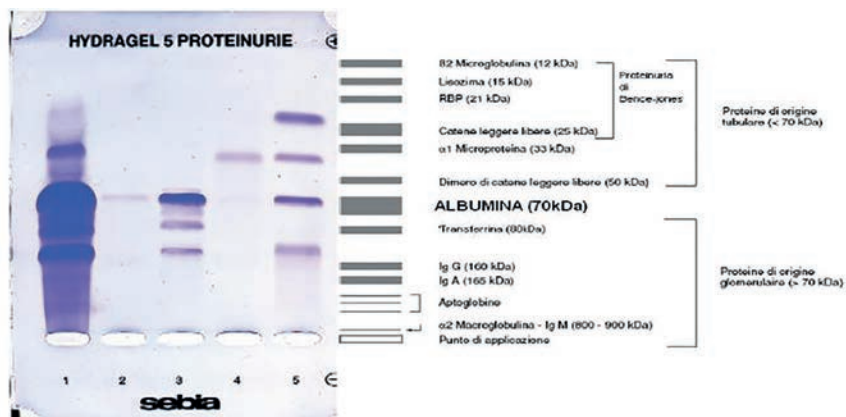
- Nello studio sono stati incluse 91 AGE e 45 CZE.
- Utilizzando l'elettroforesi in gel di agarosio AGE, nei gatti con FIP, il valore di proteine totali, la concentrazione e la percentuale delle globuline totali e delle globuline erano significativamente inferiori, mentre la percentuale di α_2 globuline, il valore di albumine e l'A:G ratio erano significativamente superiori negli anni recenti (2013-2014), rispetto agli anni antecedenti (2004-2009).
- La proporzione di gatti con FIP ed iperprotidemia era inferiore negli anni più recenti, rispetto agli anni antecedenti.
- Indipendentemente dalla tecnica elettroforetica utilizzata, nel secondo periodo (2013-2014) si è verificato un incremento di pazienti affetti da FIP con incremento delle α_2 globuline senza Gammopatia, o di pazienti con gammopatia senza incremento delle α_2 globuline.

DISCUSSIONE-CONCLUSIONI

- Il valore delle proteine totali in gatti con FIP risultava significativamente inferiore nei soggetti testati negli anni recenti (2013-2014). Inoltre, concentrazioni relative ed assolute delle γ globuline totali e delle globuline risultavano significativamente inferiori negli anni recenti (2013-2014).
- Le alterazioni dei tracciati elettroforetici nei gatti con FIP erano più evidenti nei gatti testati negli anni antecedenti (2004-2009). Le differenze più evidenti tra i due periodi è stata la ridotta frequenza di casi con ipergammaglobulinemia negli anni recenti, ed un incremento dei casi che manifestava esclusivamente aumento delle α_2 globuline senza concomitante gammopatia nello stesso periodo.
- **I risultati dello studio sembrano indicare un'inferiore stimolazione antigenica nei gatti con FIP (testimoniata da riduzione delle globuline totali e delle globuline) negli anni recenti (2013-2014).** Giustificazioni possibili a questo rilievo potrebbero risiedere nella differente interazione tra ospite e coronavirus, o in una differente risposta immunitaria nella popolazione felina analizzata.
- Anche se una spiegazione definitiva non può essere fornita, risulta importante sottolineare la possibilità che non si verifichino le alterazioni elettroforetiche tipiche di FIP in gatti con FIP. Questo problema risulta evidentemente più manifesto nelle forme non effusive in cui non sono a disposizione test da effettuare sul versamento.
- **In conclusione, la ridotta frequenza di gammopatie identificabili in gatti con FIP confermata - indipendentemente dalla tecnica elettroforetica utilizzata - tende a ridurre la sensibilità (accuratezza diagnostica) di questo test, solitamente elevata, nella diagnosi di questa patologia infettiva.**

VALUTAZIONE QUALITATIVA DELLE PROTEINE URINARIE MEDIANTE METODICA SDS-AGE

L'elettroforesi delle proteine urinarie su gel di agarosio mediante Sodio-Dodecil-Solfato (SDS-AGE) è una metodica di laboratorio che può avere rilevanza clinica nella classificazione delle patologie renali, in particolare di quelle associate a proteinuria.



- Campione n.1: Grave proteinuria mista
- Campione n.2: Albuminuria probabilmente non rilevante
- Campione n.3: Proteinuria glomerulare non selettiva
- Campione n.4: Proteinuria tubulare
- Campione n.5: Tracciato di controllo peso molecolare

Questa tecnica elettroforetica permette di separare le proteine urinarie in base alla massa molecolare, facendole migrare su un gel di agarosio, previo trattamento denaturante con un detergente anionico (Sodio-Dodecil-Solfato - SDS) che le converte in complessi "proteina - SDS".

La denaturazione fa assumere alle proteine la medesima carica negativa per unità di massa, per cui la migrazione avviene solamente in base alla massa molecolare e non come nella elettroforesi tradizionale, in base a carica, massa e conformazione. In tal modo la composizione proteica urinaria viene caratterizzata in base alle dimensioni delle molecole escrete. Una volta separate le proteine vengono colorate e visualizzate sul gel, appearing quindi come bande discrete. Il confronto con un marker di peso molecolare fatto migrare nella stessa sessione permette di stabilirne la massa, in base alla quale è possibile classificare la proteinuria. Questa valutazione deve essere associata sempre alla determinazione quantitativa della perdita proteica urinaria mediante rapporto

proteine/creatinina urinaria (PU/CU).

Classificazione dei diversi tipi di proteinuria:

La **proteinuria glomerulare** è caratterizzata dalla presenza di proteine urinarie con peso molecolare ≥ 69 kDa (es. albumina, transferrina, immunoglobuline), che nel gel sono localizzate tra il punto di applicazione e la frazione albuminica.

La presenza di proteinuria glomerulare è indicativa di una aumentata permeabilità del glomerulo.

La proteinuria **tubulo-interstiziale** è caratterizzata dalla presenza di proteine con peso molecolare < 69 kDa [per esempio α_1 microglobulina, catene leggere libere monoclonali o policlonali, β_2 microglobulina, RBP (retinol binding protein), lisozima, localizzate tra l'albumina e il lato anodico del gel. Queste sono piccole proteine dotate quindi di maggiore mobilità elettroforetica. La loro presenza può essere indicativa di una incapacità del tubulo renale di riassorbirle, in quanto esse sono normalmente filtrate dal glomerulo. La presenza di proteine tubulari PM di 25 e/o 50 kDa può essere indicativa di proteinuria di Bence-Jones.

La **proteinuria mista** infine è caratterizzata dalla presenza sia di proteine tubulari che glomerulari.

In genere la presenza di proteinuria persistente nel tempo può avere una notevole rilevanza clinica, in quanto può contribuire alla progressione della malattia renale. Tuttavia esistono forme di proteinuria fisiologica, conseguenti ad una modica e transitoria permeabilizzazione glomerulare, che sono quindi di scarsa rilevanza clinica. Queste sono spesso conseguenti ad esercizio fisico intenso, febbre, stress, ecc. La proteinuria fisiologica si caratterizza per una banda molto lieve e poco visibile in corrispondenza dell'albumina. In questi casi il PU/CU è molto basso, solitamente inferiore alla soglia che viene considerata patologica (0.5 per il cane e 0.4 per il gatto).

A questo proposito ricordiamo che le più recenti linee-guida di IRIS (International Renal Interest Society) considerano “border-line” una proteinuria compresa tra 0.2 e 0.4 nel gatto e tra 0.2 e 0.5 nel cane. Si definiscono “non proteinurici” i soggetti di entrambe le specie il cui PU/CU risulti < 0.2 .

Ricapitolando, mediante la valutazione della proteinuria con SDS-AGE è possibile prevedere con buona approssimazione la localizzazione del danno renale. Ovviamente tale metodica non prescinde dall'importanza della valutazione istopatologica di una biopsia renale, che spesso aiuta a definire con maggior precisione l'eziologia, la cronicità e l'entità della nefropatia.

MUTAZIONE DEL GENE MDR1 (MULTI-DRUG RESISTANCE GENE) E TOSSICITÀ DA FARMACI: QUANDO ANDREBBE FATTO IL TEST GENETICO?

Di Luigi Venco, Med. Vet. Dipl EVPC, consulente del Laboratorio La Vallonea

L'attività di molti farmaci dipende dalla loro capacità di attraversare le barriere per raggiungere il loro bersaglio. Alcuni farmaci sono in grado di farlo mediante diffusione passiva attraverso le membrane plasmatiche, altri necessitano invece di meccanismi di trasporto specifici. Una volta all'interno del tessuto e delle cellule bersaglio, il farmaco viene poi eliminato attraverso meccanismi di efflusso attivi. La proteina MDR1, nota anche come glicoproteina P1, è una proteina di membrana che funziona da pompa di efflusso ed è responsabile dell'escrezione biliare e renale di molte sostanze tossiche e farmaci di uso comune anche in medicina veterinaria (per es. antibiotici, chemioterapici, ecc.). Questa glicoproteina funziona come pompa unidirezionale muovendo i composti da eliminare dal citoplasma allo spazio extracellulare o in un compartimento intracellulare specifico (es. reticolo endoplasmatico, mitocondri e perossisomi). In cani di razza **collie (pastori scozzesi)** è stata identificata una mutazione consistente in una delezione di 4 paia di basi a carico del gene MDR1, ed è stata associata ad un fenotipo sensibile all'ivermectina. Nei cani con genotipo omozigote per la mutazione MDR1 la funzionalità della glicoproteina è alterata; ciò comporta un incremento della sensibilità di questi soggetti a farmaci quali **ivermectina, doramectina, moxidectina, milbemicina ossima, vincristina, diglossina e loperamide**.

Esistono anche farmaci sospettati di provocare tossicità legata all'alterazione genetica di MDR1: **ciclosporina, acepromazina e butorfanolo**. Per alcuni di questi farmaci, nei cani con la mutazione per il gene MDR1 la penetrazione a livello encefalico è aumentata, e gli animali possono andare incontro a neurotossicosi anche quando i medicinali siano somministrati ai normali dosaggi terapeutici. La mutazione del gene MDR1 è particolarmente frequente nei collie e negli Australian Shepherd dog (cane da pastore australiano), ma è stata segnalata in numerose altre razze. Trattandosi di un carattere autosomico recessivo, si manifesta nei cani omozigoti.

Il test per tale mutazione, eseguibile su un normale campione di sangue intero, è pertanto consigliabile ogni qual volta si debba somministrare una terapia a base di lattoni macrociclici (es. Ivermectina e simili), butorfanolo, chemioterapici, ecc. al fine di evitare possibili effetti tossici.

Come detto, a parte i pastori scozzesi, anche altre razze sono coinvolte frequentemente da questa mutazione, tra cui ad esempio: **Australian Shepherd**



Mini, Shetland Sheepdog, English Shepherd, Pastore Tedesco, Bob Tail.

Alcuni Farmaci possono con certezza creare problemi in cani con mutazione MDR1: Lattoni macrociclici (Ivermectina, Selamectina, Moxidectina, Milbemicina). Tutti questi farmaci possono essere tossici nei cani con mutazione MDR1. Sono tutti utilizzati in varie formulazioni per la prevenzione della filariosi cardiopolmonare.

Nelle formulazioni in vendita per il cane il dosaggio utilizzato deve essere per legge almeno 12 volte inferiore a quello potenzialmente tossico nei cani con mutazione MDR1. Quindi tutti i farmaci in commercio per la prevenzione della Filariosi cardiopolmonare possono essere utilizzati ai dosaggi consigliati con tranquillità e sicurezza.

Questa famiglia di farmaci è utilizzata in formulazione destinate ad altre specie come bovini e suini (IVOMEC, CYDECTIN) che ne contengono elevate concentrazioni. L'uso di queste formulazioni, oltre che estremamente pericoloso, nei cani MDR1 è illegale e come tale dovrebbe essere denunciato.

L'uso di ivermectina per la profilassi della filariosi cardiopolmonare al dosaggio di 6 microgrammi/Kg è assolutamente sicuro. Dosaggi molto più alti (usati per la terapia della Demodicosi: 300-600 microgrammi/Kg) sono tossici nei cani omozigoti MDR1 (MDR1 mutante/mutante) e possono esserlo negli eterozigoti (MDR1 mutante/normale). Selamectina, Milbemicina, Moxidectina, appartengono alla stessa famiglia di farmaci dell'ivermectina (Lattoni macrociclici).

Loperamide - Valgono le STESSÉ considerazioni. Ai dosaggi consigliati nei prodotti in commercio per il cane (non per altre specie) sono TUTTI assolutamente sicuri.

Acepromazina - È necessario utilizzare dosaggi ridotti o evitare il suo uso nei cani omozigoti MDR1 (mutante/mutante) ed eterozigoti MDR1 (mutante/normale). Tossico a dosaggi terapeutici. Da evitare nei cani con mutazione MDR1.

Butorfanolo - È necessario utilizzare dosaggi ridotti o evitare il suo uso nei cani omozigoti MDR1 (mutante/mutante) ed eterozigoti MDR1 (mutante/normale) con 25 % di riduzione negli eterozigoti, 50% negli omozigoti).

Agenti chemioterapici (Vincristina, Vinblastina, Doxorubicina, Paclitaxel)- È necessario utilizzare dosaggi ridotti nei cani omozigoti MDR1 (mutante/mutante: riduzione almeno del 50%) ed eterozigoti MDR1 (mutante/normale: riduzione 25%) per evitare TOSSICITÀ SEVERA.

Da somministrare in ogni caso, anche a dosi ridotte:

Emodepside - Antiparassitario (parassiti intestinali). Ci sono segnalazioni di tossicità neurologica nei soggetti con mutazione MDR1. Devono essere utilizzati sotto stretto monitoraggio.

Eritromicina - Può causare neurotossicità reversibile con sospensione del trattamento nei cani con mutazione MDR1. Meglio utilizzare altri farmaci.

Farmaci il cui metabolismo coinvolge sicuramente il gene MDR1 e la glicoproteina P-450 e che teoricamente potrebbero essere tossici ma di cui non ci sono segnalazioni di effetti tossici.

Ciclosporina

Digossina

Doxiciclina

Non si consiglia di evitare questi farmaci se necessari, né di ridurne il dosaggio, ma di somministrarli sotto accurato monitoraggio.

Farmaci il cui metabolismo coinvolge **PROBABILMENTE** il gene MDR1 e la glicoproteina P-450 e che teoricamente potrebbero essere tossici ma di cui non ci sono ad oggi segnalazioni di effetti tossici:

Morfina, Buprenorfina, Fentanyl

Domperidone

Etoposide

Mitoxantrone

Ondansetron

Paclitaxel

Rifampicina

Non si consiglia di evitare, se necessari, questi farmaci né di ridurne il dosaggio, ma di somministrarli sotto accurato monitoraggio.

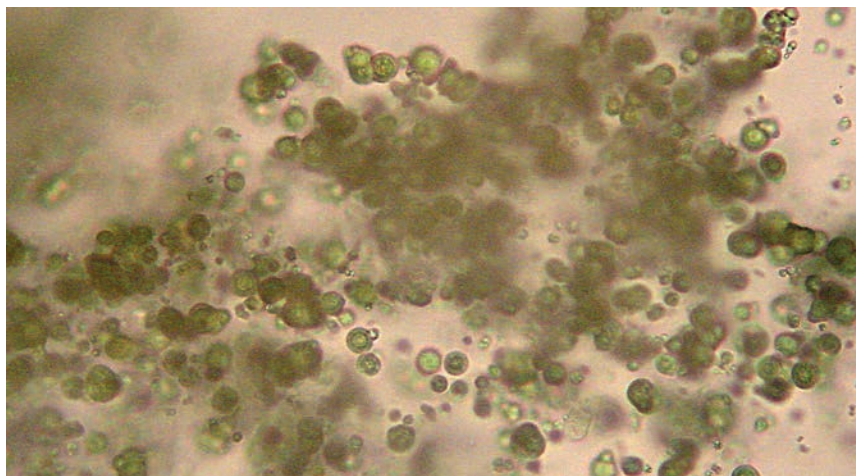
In conclusione si consiglia di effettuare il test genetico nelle razze predisposte:

- a titolo precauzionale (nel caso si renda necessaria la somministrazione urgente di principi attivi rischiosi o potenzialmente rischiosi).
- prima di procedure anestetiche o di controllo del dolore (alcuni farmaci oppiacei, sedativi o preanestetici sono potenzialmente rischiosi).
- prima di somministrare Lattoni macrociclici a dosaggi extralabel (Terapia Demodicosi).



EFFETTI COLLATERALI DEL TRATTAMENTO CON ALLOPURINOLO NEI CANI AFFETTI DA LEISHMANIOSI

Cari colleghi, in questo nuovo post di aggiornamento bibliografico ci occuperemo degli effetti collaterali dell'uso dell'allopurinolo per il trattamento di mantenimento della leishmaniosi canina. Come comunemente sperimentato da chi utilizza spesso questo farmaco, la formazione di uroliti e cristalli di xantina è un'evenienza comune. In questo riassunto troverete i risultati dell'articolo pubblicato sulla prestigiosa rivista inglese *Journal of Small Animal Practice*.



Adverse urinary effects of allopurinol in dogs with leishmaniasis

Torres M. et al. – *Journal of Small Animal Practice Medicine*, 57: 299-304; 2016.

INTRODUZIONE

- Come ben risaputo, la leishmaniosi canina è una malattia zoonosica trasmessa da un flebotomo e sostenuta da *Leishmania infantum*.
- La terapia nel cane si basa primariamente sull'impiego di antimonio di meglumina per via sottocutanea (50 mg/kg BID per 4 settimane) e di allopurinolo, farmaco parassitostatico utile a prevenire per quanto possibile le recidive, per via orale (10 mg/kg BID per 6 mesi).
- L'allopurinolo, farmaco abbastanza sicuro, è peraltro in grado di indurre la comparsa di xantinuria e di uroliti di xantina, a seguito di terapie prolungate.
- La xantina è un prodotto che si forma nell'ambito della degradazione delle purine. L'allopurinolo inibisce un enzima (xantino – ossidasi) in grado di degradare la xantina. In corso di xantinuria da allopurinolo si riduce la

formazione di acido urico ed aumenta la produzione di metaboliti delle purine, tra i quali la xantina è quella meno solubile nelle urine. Gli uroliti di xantina, infine, sono anche difficili da diagnosticare perché radiotrasparenti.

SCOPO DEL LAVORO - MATERIALI E METODI

- La finalità dello studio è stata descrivere i principali effetti collaterali conseguenti alla somministrazione di allopurinolo.
- Sono stati inclusi cani con leishmaniosi, ai quali veniva somministrato allopurinolo, nei quali erano identificabili alterazioni ecografiche dell'apparato urinario:
- 1) solo cristalli di xantina;
- 2) mineralizzazione renale senza urolitiasi, con xantinuria;
- 3) urolitiasi senza mineralizzazione renale, con xantinuria;
- 4) tutte e tre le alterazioni: cristalluria, urolitiasi e mineralizzazione renale.

RISULTATI

- Su 320 cani inclusi nello studio - tra il 2009 ed il 2012 - 42 soggetti hanno sviluppato alterazioni a carico dell'apparato urinario associate alla terapia con allopurinolo.
- I 42 soggetti inclusi hanno ricevuto esclusivamente antimonio ed allopurinolo. In particolare, l'intervallo di tempo tra l'inizio della terapia con allopurinolo e la comparsa di xantinuria variava da 3 settimane a 9 anni, con una mediana di 1 anno.
- 9 soggetti hanno manifestato esclusivamente xantinuria, 11 mineralizzazione renale, 9 urolitiasi con xantinuria, e 13 le tre alterazioni in contemporanea.
- 22 cani hanno manifestato uroliti distribuiti in differenti distretti (rene, vescica, reni ed uretere). Segni clinici riferibili ad ostruzione urinaria o disuria si sono identificati in 19 pazienti.

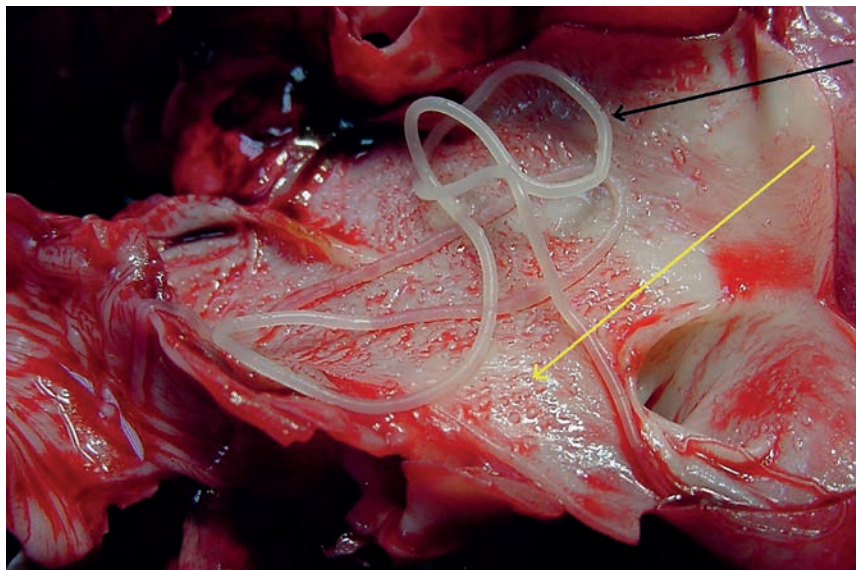
DISCUSSIONE

- In accordo con quanto riportato in letteratura, xantinuria e urolitiasi da xantina rappresentano il caratteristico effetto collaterale della terapia con allopurinolo.
- Sembra che la durata della terapia con allopurinolo non influenzi la comparsa di xantinuria e della urolitiasi da xantina.
- Poiché la xantinuria rappresenta un evento non infrequente, si consiglia di monitorare l'apparato escretore di soggetti trattati con allopurinolo mediante esami ecografici seriali.
- Viene consigliato, in questi soggetti, di utilizzare diete a ridotto contenuto di purine per ridurre la possibilità di formazione di uroliti di xantina.
- La formazione di questi uroliti rappresenta un processo irreversibile con effetti collaterali potenzialmente gravi, poiché non sono disponibili terapie mediche utili alla dissoluzione di questi uroliti.



FILARIOSI CARDIOPOLMONARE NEL CANE: VALORE DIAGNOSTICO/ PROGNOSTICO DELLA PROTEINA C REATTIVA (CRP) (INTERVISTA A LUIGI VENCO)

La filariosi cardiopolmonare nel cane è una patologia parassitaria che causa ipertensione polmonare e che può esitare, negli stadi avanzati, nell'insufficienza cardiaca destra.



FILARIOSI

I vermi adulti si localizzano nelle arterie polmonari causando una “endoarterite proliferativa” la cui gravità dipende sia dalla carica infestante che dalla durata dell’infestazione stessa.

In medicina umana è stato evidenziato come la proteina C reattiva (proteina positiva della fase acuta) aumenti sensibilmente anche in corso di endoarterite ed è, quindi, assai probabile che anche nel cane la CRP possa aumentare in corso di danno delle arterie polmonari.

È anche vero, tuttavia, che la proteina C reattiva, sebbene sia considerata tanto in medicina umana quanto in veterinaria un ottimo marker infiammatorio (aumenta, infatti, molto rapidamente in corso di flogosi ed altrettanto rapidamente diminuisce terminato lo stimolo flogistico), in realtà è un test che

affianca ad un'altissima sensibilità una altrettanto bassa specificità aumentando, indistintamente, in tutti i fenomeni infiammatori.

Il dott. Luigi Venco ha presentato al Heartworm Society's Triennial Symposium tenutosi a New Orleans dall'8 al 10 settembre 2013 uno studio che ha valutato il valore sia diagnostico che prognostico della proteina C reattiva quale biomarker nella valutazione dell'infestazione naturale del cane da *Dirofilaria immitis*.

Domanda: Ciao Gigi, perché hai pensato di valutare l'andamento della CRP in corso di dirofilariosi cardiopolmonare nel cane?

La CRP è una proteina di fase acuta considerata aspecifica ma che, attualmente, è molto indagata in medicina umana nelle patologie cardiovascolari. I macrofagi ne sono tra i principali produttori. L'endoarterite proliferativa in corso di Filariosi cardiopolmonare è un processo centrale nella patogenesi della malattia che porta ad ipertensione polmonare. È un'alterazione unica nel genere ed è presente esclusivamente nel cane e solo se infestato da *Dirofilaria immitis*. Nella sua genesi i macrofagi svolgono un ruolo essenziale. Ho pensato quindi che fosse la patologia ideale per valutare proprio la CRP.

Domanda: Hai avuto dei risultati prevedibili e misurabili?

Sì, i risultati sono stati molto confortanti ed addirittura, per certi versi, sorprendenti al punto di poter assegnare un "cut off" affidabile che indica la presenza di malattia vascolare polmonare in corso di Filariosi cardiopolmonare.

Domanda: A cosa sembra legata la crescita della CRP nei cani con la patologia in atto?

L'incremento dei valori della CRP è legato all'endoarterite proliferativa (malattia vascolare polmonare) e si correla allo stato ipertensivo polmonare piuttosto che alla carica parassitaria (numero dei parassiti adulti).

Domanda: Eliminando la causa (trattamento dirofilaricida) la proteina rientra nei valori fisiologici in breve oppure richiede tempi più lunghi?

L'endoarterite proliferativa (e l'ipertensione polmonare conseguente) è un processo irreversibile o scarsamente reversibile anche dopo eliminazione spontanea o conseguente a terapia degli adulti di *D. immitis* ed anche i valori di CRP calano solo moderatamente. In questa ottica la valutazione della CRP può essere utile nella valutazione clinica di cani con ipertensione polmonare e test negativi per Filariosi cardiopolmonare dei quali non si conosca anamnesi o vi siano dubbi che siano stati infestati in passato.



Domanda: Considerata la scarsa specificità del test non credi che anche in danni cardiovascolari di altro genere la CRP possa avere lo stesso andamento?

No. Dai dati che abbiamo raccolto e comparato nelle altre patologie cardiovascolari congenite o acquisite nel cane l'incremento dei valori è molto limitato e sicuramente non assimilabile a quello in corso di Filariasi cardiopolmonare. Nessun overlapping quindi. Unica eccezione è la Cardiomiopatia dilatativa (DCM) nella quale in fase di scompenso si osservano notevoli incrementi verosimilmente indotti dalla produzione di TNF .

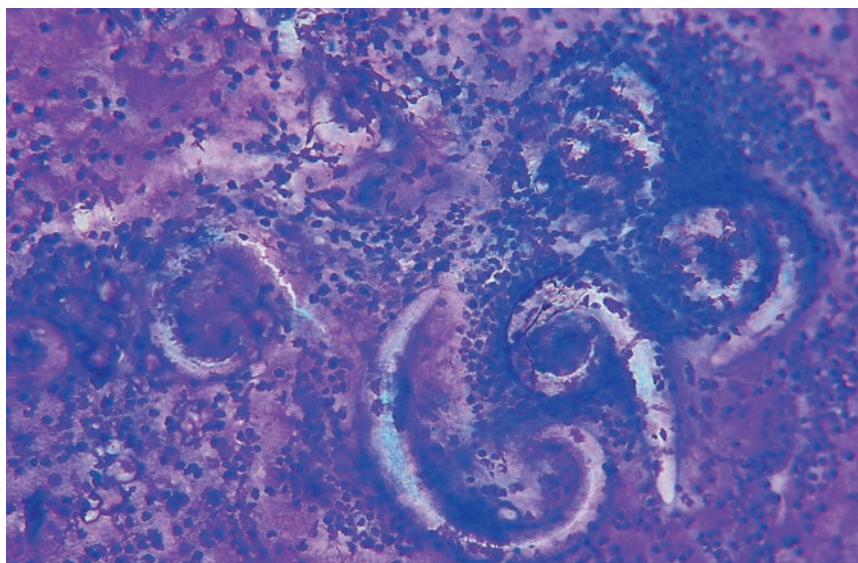
Stiamo ora valutando se la misurazione della CRP possa essere utile per una diagnosi precoce di questa patologia. Dal punto di vista clinico e strumentale, peraltro, la DCM è facilmente differenziabile dalla Filariosi cardiopolmonare.

Domanda: Ritieni che lo studio ed il monitoraggio di questo marker dell'infiammazione possa rappresentare un valore aggiunto in termini sia di celerità diagnostica che di completezza prognostica rispetto ad altri metodi più conosciuti ed utilizzati quali, ad esempio, la radiografia toracica e l'ecocardiografia?

Sicuramente valutazione e monitoraggio di questo marker (facilmente realizzabile) offrono un ulteriore punto di vista sulle condizioni delle arterie polmonari ad integrazione di radiogrammi toracici ed ecocardiografia Doppler, specialmente quando questi siano "dubbi" (assenza di rigurgito tricuspideale) o in loro vece quando non vi sia la possibilità di eseguirli.

DIAGNOSI E TRATTAMENTO DELLE INFESTAZIONI BRONCOPOLMONARI NEL GATTO

Una review pubblicata sul prestigioso Journal of Feline Medicine and Surgery da autori italiani (Traversa & Di Cesare) ha riassunto gli aspetti epidemiologici, clinici, diagnostici e terapeutici delle infestazioni da nematodi polmonari nel gatto.



A tale proposito si ricorda l'importanza di eseguire correttamente l'esame delle feci per la ricerca delle forme larvali degli strongili e delle uova di *Capillaria* sp., anche ricorrendo a tecniche di concentrazione (di Baermann per le larve e di flottazione per le uova).

Sebbene l'esame citologico di campioni mediante BAL o FNA polmonare possano risultare diagnostici (vedi foto a fianco), questa procedura non è da considerarsi di prima scelta nella ricerca degli agenti infestanti, a causa dei rischi ad essa correlati nei pazienti con segni clinici severi.

Tratto da:

Diagnosis and management of lungworm infections in cats Cornerstones, dilemmas and new avenues.

Traversa D., Di Cesare A. Journal of Feline Medicine and Surgery (2016) 18, 7–20
doi: 10.1177/1098612X1562311 jfms.com.



Tradizionalmente, i nematodi polmonari nel gatto sono stati per decenni identificati esclusivamente in *Aelurostrongylus abstrusus* e *Capillaria aerophyla* (*Eucoleus aerophilus*).

Il primo, parassita con ciclo indiretto che prevede un ospite intermedio (lumaca o chiocciola) e ospiti paratenici (uccelli, roditori) con impatto clinico di rilievo nei soggetti giovani, il secondo con ciclo indiretto è ritenuto responsabile di infestazioni paucisintomatiche.

Il notevole incremento delle segnalazioni, sporadiche in passato ma oggi sempre più frequenti, pone il dubbio su un reale incremento della loro prevalenza conseguente ai cambiamenti climatici ma soprattutto ai cambiamenti dell'habitat fauna selvatica (urbanizzazione) che ne costituisce il reservoir piuttosto che in una maggiore attenzione diagnostica dei medici veterinari.

Anche il riscontro oggi non infrequente di una specie quale *Troglostrongylus brevior* morfologicamente molto simile a *A. abstrusus*, ma responsabile di forme cliniche di maggior gravità e soprattutto con possibilità di trasmissione verticale, fa insorgere il sospetto che in passato parte delle infestazioni causate da questo parassita fosse erroneamente diagnosticata come *Aelurostrongilosi*, anche se alcuni studi epidemiologici sembrano mostrare una maggior prevalenza di questo parassita in aree in cui è presente il gatto selvatico (*Felis silvestris silvestris*) suo naturale reservoir.

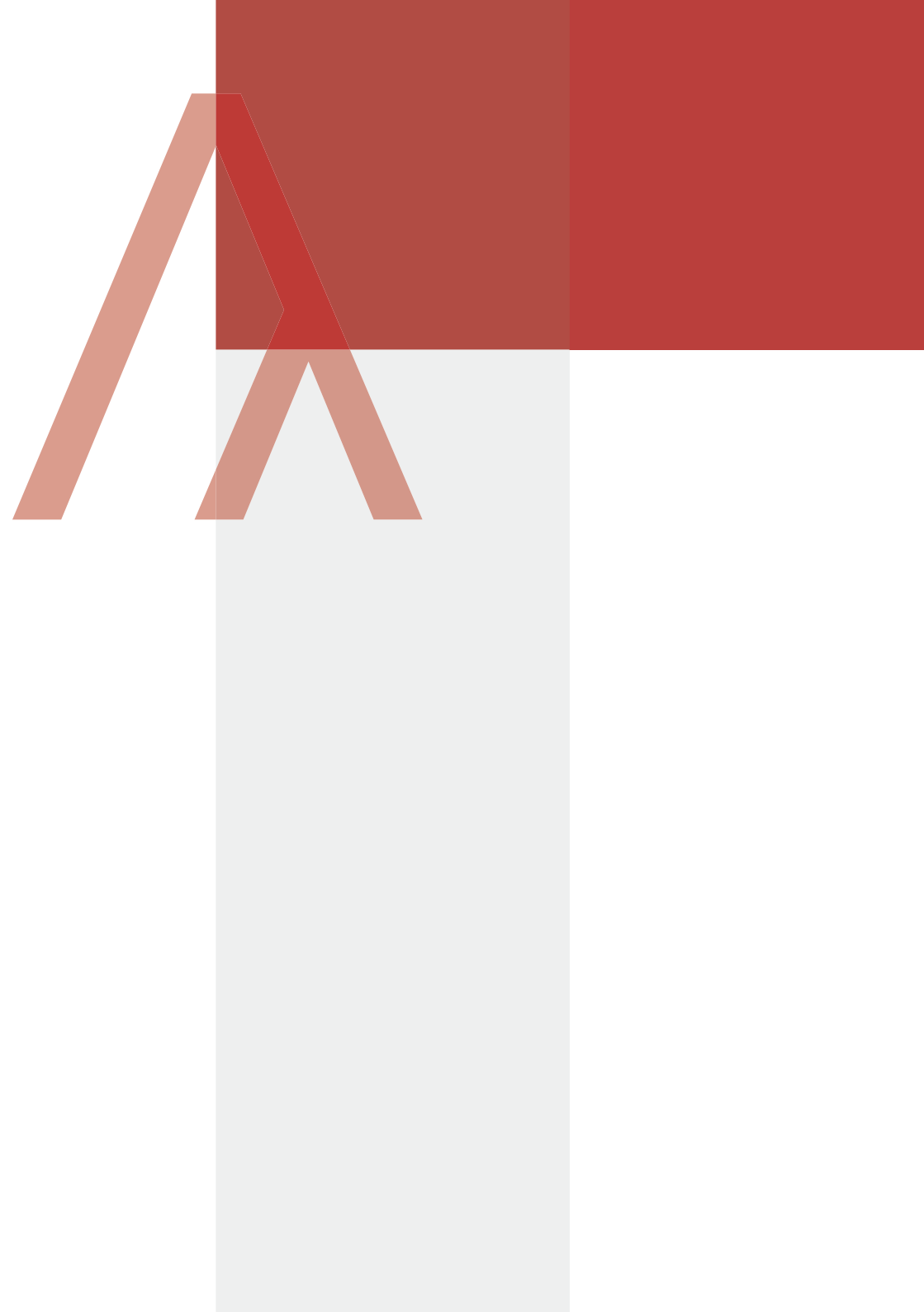
Qualunque sia la dinamica di questi cambiamenti nell'ambito delle conoscenze epidemiologiche, è importante che i medici veterinari pratici mantengano un elevato indice di sospetto nei confronti di **parassiti che possono essere responsabili di forme imprevedibilmente gravi** (morte inaspettata di gatti asintomatici in corso di anestesia per sterilizzazione nel caso di *Aelurostrongylus abstrusus*, forme gravi ed iperacute di broncopolmonite in gatti di poche settimane di età da *Troglostrongylus brevior*) e si avvalgano di una diagnostica adeguata per l'identificazione di specie, anche alla luce del trattamento antiparassitario da utilizzare.

Lattoni macrociclici (Moxidectina, Milbemicina, Eprinomectina, Selamectina), Fenbendazolo ed Emodepside sono farmaci che possono essere utilizzati con diversa efficacia in relazione alla specie di nematode polmonare ed alla situazione clinica.

TABELLA RIASSUNTIVA DEI FARMACI UTILIZZABILI IN CORSO DI INFESTAZIONI DA NEMATODI POLMONARI NEL GATTO

Parassita	Molecola	Efficacia
A. abstrusus	Spot-on moxidectina/imidacloprid	Efficace nel bloccare la produzione di uova e rilascio di larve, e nella cura dei segni clinici nei gatti naturalmente infetti
	Spot-on emodepside, selamectin e eprinomectin	Elevata efficacia nel trattamento della aelurostrongilosi in condizioni di infezione naturale o sperimentale
	Mibemicina oxima orale	Efficace in alcuni case-report
T. brevior	Moxidectina ed emodepside spot-on	Efficacia promettente in alcuni case-report
	Eprinomectin spot-on	Dimostrata efficacia sperimentale nel bloccare la produzione di uova e rilascio di larve, oltre che lo sviluppo di larve in adulti
	Milbemicina oxima orale	Efficace in alcuni case-report
C. aerophila	Moxidectina/imidacloprid spot-on	Efficace nel bloccare la produzione di uova e rilascio di larve, e nella cura dei segni clinici nei gatti naturalmente infetti
	Emodepside spot-on	Efficace in un singolo case-report
Ulteriori studi su gruppi più numerosi di animali saranno necessari per valutare l'efficacia di milbemicina oxima nei confronti di <i>A. abstrusus</i>, <i>T. brevior</i> e <i>C. aerophila</i>, di selamectina contro <i>T. brevior</i> e <i>C. aerophila</i>, e di moxidectina ed emodepside contro <i>T. brevior</i>. Tali studi dovranno tenere in considerazione che l'efficacia antelmintica contro <i>T. brevior</i> sembra dipendere da età del gatto, carica parassitaria, posologia e gravità del danno polmonare oltre che dall'immunità dell'ospite.		





RINGRAZIAMENTI

Ringraziamo per il loro impegno tutti gli Autori dei Post, i Consulenti Scientifici MyLAV - La Vallonea e coloro che curano la redazione del nostro Blog di Aggiornamento Scientifico.

Ringraziamo tutti i nostri Clienti che, seguendoci e dandoci supporto, ci permettono di proseguire nello sviluppo di tutte le attività e servizi, fra cui il servizio di Consulenza ed Aggiornamento Scientifico, di cui siamo molto fieri.

INDICE

6	L'importanza della fase preanalitica in diagnostica di laboratorio. Tutto quello che accade al campione prima di giungere al laboratorio per essere "analizzato".
9	L'importanza di eseguire uno striscio ematico e di valutarne le caratteristiche.
11	Come ottimizzare la preparazione dei campioni citologici : intervista a Walter Bertazzolo.
16	Lipasi DGGR : cos'è e a cosa serve? 10 Domande e 10 rapide risposte per una corretta interpretazione.
19	Utilità clinica di alcuni test di laboratorio per la diagnosi di pancreatite acuta nel cane.
21	Insufficienza pancreatica esocrina nel gatto.
23	Algoritmo diagnostico dell' ipertiroidismo felino .
24	Lo stato dell'arte sulla terapia farmacologica più appropriata per il gatto ipertiroidico .
27	Quanto può essere utile misurare il TSH nel gatto ?
28	Algoritmo diagnostico per l' ipotiroidismo canino.
29	Cosa fare nei cani con T4 totale basso ma TSH normale?
30	Iperlipemia nel cane: quale approccio clinico?
32	La citologia fecale in gastroenterologia, intervista a Enrico Bottero.
34	Efficacia della supplementazione orale di cobalamina nel cane.
36	Come differenziare un IBD da un linfoma intestinale felino?
39	Trombocitopenia amegacariocitica nel cane.
41	Anemia ed ospedalizzazione nei cani e gatti critici.
43	Immunocitochimica e fenotipizzazione dei linfomi .
45	Una nuova localizzazione del linfoma del gatto descritta dai Consulenti La Vallonea.
48	Classificazione citologica dei mastocitomi del cane e valore prognostico.
51	L'oncologo (Laura Marconato) ed il patologo clinico (Walter Bertazzolo) a confronto: il mastocitoma nel gatto, similitudini e differenze con il mastocitoma del cane.
54	L'oncologo (Laura Marconato) ed il patologo clinico (Walter Bertazzolo) a confronto: il mastocitoma nel cane, cosa fare e cosa non fare.
58	Correlazione di biomarker sierici ed urinari con il danno renale in cani con nefropatie croniche proteinuriche .
61	Elettroforesi sierica e FIP .
63	Valutazione qualitativa delle proteine urinarie mediante metodica SDS-AGE .
65	Mutazione del gene MDRI (Multi-Drug Resistance Gene) e tossicità da farmaci : quando andrebbe fatto il test genetico?
68	Effetti collaterali del trattamento con allopurinolo nei cani affetti da leishmaniosi.
70	Filariosi cardiopolmonare nel cane: valore diagnostico/prognostico della proteina C reattiva (CRP) (Intervista a Luigi Venco).
73	Diagnosi e trattamento delle infestazioni broncopolmonari nel gatto.

Progetto grafico

