

CONGRESSO SCIVAC

Quali novità nella diagnosi e nella terapia della leishmaniosi

FERRARA, 5-7 APRILE 2019

Comunicazioni brevi

UN CASO DI GASTRITE E COLITE GRANULOMATOSA SECONDARIA A LEISHMANIA

S. Bocconi, DVM, F. Brugnoli, DVM

Clinica veterinaria "Città di Bolzano", Bolzano, Italia

Introduzione - La Leishmaniosi canina è una zoonosi parassitaria a carattere globale potenzialmente letale per uomo e cane. Quest'ultimo costituisce sicuramente il principale serbatoio. La patologia è endemica in più di 70 paesi nel mondo con particolare concentrazione nell'Europa mediterranea; in Africa; Asia e Centro/Sud America. Noto è anche l'importanza in sanità pubblica nelle aree non endemiche a causa della sempre più frequente importazione di soggetti infetti o malati. Trattandosi di una patologia a carattere sistemico i segni clinici sono spesso aspecifici e soggettivamente variabili. Segni gastroenterici sono riportati in genere in corso di Leishmaniosi con malattia renale cronica da immunocomplessi ma ad oggi raramente sono stati descritti casi di diarrea come primo e unico sintomo di Leishmaniosi. Descriviamo un caso peculiare di gastro-enterocolite cronica da Leishmania spp..

Descrizione del caso - Connor, un Dobermann, MI, di 2 anni, viene portato in visita per polifagia e diarrea cronica presenti da un anno e mezzo e apparentemente non responsive a nessuna terapia fino ad allora impostata. Il paziente proviene dalla Puglia dove è stato acquistato all'età di 4 mesi e poi è sempre vissuto in Alto Adige.

All'esame fisico, presenta uno stato nutrizionale scadente (BCS 2/5, peso 28 kg). È debole e abbattuto; il suo mantello è secco, opaco e forforoso.

Eseguiamo un esame coprologico per flottazione e uno Snap test per Giardia che risultano negativi. L'ecografia addominale mostra ispessimento diffuso della mucosa enterica e reattività dei linfonodi colici e mesenterici.

Come da protocollo per la diarrea cronica del cane, effettuiamo comunque un ciclo di Fenbendazolo alla dose di 50 mg/kg per 5 giorni e prescriviamo cambio alimentare con dieta rigida a base di idrolizzato proteico (Z/D Hill's) e probiotici (VLS 3).

Al controllo a 4 settimane non riscontriamo nessun miglioramento. Vengono dunque eseguiti esami ematobiochimici completi ed esame delle urine dai quali emerge esclusivamente una moderata ipoalbuminemia (1,9 gr/dl range: 2,2-3,2 gr/dl). Sempre da protocollo, impostiamo trial antibiotico con metronidazolo 10 mg/kg BID.

Nonostante la terapia antibiotica le condizioni cliniche di Connor vanno peggiorando e agli esami di controllo ri-

scontriamo una grave ipoalbuminemia (1,4 mg/dl). Eseguiamo quindi gastroduodeno-colonscopia con biopsie che macroscopicamente rileva un quadro moderato di gastrite e colite.

Il referto biotico descrive una gastrite e colite a carattere granulomatoso con numerosi protozoi riferibili a Leishmania spp. nello spessore della parete. La PCR quantitativa real time su midollo conferma un'alta carica parassitaria (940 milioni di copie di chinetoplasto). Impostiamo terapia con miltefosina 2 mg/kg SID e allopurinolo 10 mg/kg BID. In seguito ad un apparente miglioramento iniziale, le condizioni cliniche di Connor peggiorano nuovamente e con il proprietario si decide per l'eutanasia.

Conclusioni - Il presente case report descrive una presentazione clinica atipica di Leishmania nel cane.

Il paziente mostrava, infatti, esclusivamente sintomi gastroenterici.

In letteratura troviamo descritti due casi in particolare di cani affetti da Leishmaniosi, residenti in area endemica (Spagna), con soli segni gastroenterici. Considerando la frequente e crescente importazione di cani provenienti da zone endemiche, segnaliamo la necessità di raccogliere attentamente l'anamnesi relativa a viaggi e provenienza e tenere presente tra le diagnosi differenziali anche la Leishmaniosi in pazienti con soli sintomi gastroenterici non responsivi alle normali terapie.

Bibliografia

1. Ayala I, Bernal LJ, Garcia-Martinez JD, Gomez MA, Navarro JA, Bernabe A. "An Atypical Case of Leishmaniasis Associated with Chronic Duodenitis in a Dog." J Am Anim Hosp Assoc. 2017 Mar/Apr;53(2):101-106. doi: 10.5326/JAAHA-MS-6401.
2. Silva DT, Neves MF, de Queiroz NM, Spada JC, Alves ML, Flóro e Silva M, Coelho WM, Panosso AR, Noronha Junior AC, Starke-Buzetti WA. "Correlation study and Rev Bras Parasitol Vet. histopathological description of intestinal alterations in dogs infected with Leishmania infantum." 2016 Jan-Mar;25(1):24-36. doi: 10.1590/S1984-29612016009. Epub 2016 Mar 11.
3. Ruiz G, Laloy E, Benckroun G. "Chronic gastritis and enterocolitis associated with Leishmania infection in an 18-month-old, intact female dog." Vet Q. 2015;35(4):236-9. doi: 10.1080/01652176.2015.1050529. Epub 2015 Jun 8.
4. Solano-Gallego L1, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G, The LeishVetGroup. "LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis." Parasit Vectors. 2011 May 20;4:86. doi: 10.1186/1756-3305-4-86.

NEOFORMAZIONE RINOFARINGEA: UN CASO ATIPICO DI LEISHMANIOSI FELINA**R. Franchi**, Med Vet, W. Bertazzolo, Med Vet, Dipl

ECVCP, E. Antoniazzi, Med Vet

Clinica Veterinaria Tibaldi, Milano

Introduzione - La Leishmaniosi felina (FeL) è stata riportata in tutto il mondo ma si verifica più frequentemente nel bacino del Mediterraneo e nel Centro-Sud America, presentandosi con quadri clinici aspecifici che spesso la rendono sottodiagnosticata.¹ Nel caso qui descritto, la peculiarità è la presenza di una forma respiratoria secondaria a una neoformazione rinofaringea, che all'esame citologico ed istologico risultava essere un piogranuloma contenente numerosi amastigoti di *Leishmania*, associato ad accumulo di sostanza amiloide intra- ed extraistocitaria.

Descrizione del caso - Una gatta di 15 anni, CE, FS, con stile di vita indoor-outdoor, proveniente dal Piemonte, veniva portata a visita per anoressia, condizioni generali scadenti ed episodi di soffocamento. Clinicamente si evidenziava deformazione del profilo frontale, scolo nasale purulento bilaterale, linfadenomegalia mandibolare. Venivano eseguiti test FIV-FelV (negativi) ed esami ematochimici di base, che mostravano moderata anemia normocitica normocromica non rigenerativa (Hct 20.9%, RI 27.7-46.8%), aumento delle PT (9.2 g/dL; RI 5.8-8.5 g/dL), di AST (69 IU/L, RI 13-49 IU/L) e ALT (111 IU/L, RI 6-62 IU/L). Si effettuava una terapia sintomatica (doxiciclina 10 mg/kg SID, meloxicam 0,1 mg/kg SID), con scarso miglioramento clinico. Si decideva quindi di procedere ad ispezione del cavo orale ed esame TC. Nel rinofaringe si evidenziava una neoformazione infiltrante di dimensioni cospicue: si effettuava una biopsia per esame istopatologico e FNA dalla massa e dai linfonodi mandibolari per esame citologico. L'esame TC evidenziava completa oblitterazione del rinofaringe e delle bolle timpaniche, empiema dei seni frontali, severa adenopatia dei linfonodi mandibolari. L'esame citologico e istologico erano diagnostici di flogosi piogranulomatosa con infestazione da *Leishmania* spp, con presenza di numerosi amastigoti liberi e fagocitati, in associazione a sostanza amorfa rosata riferibile ad amiloide intra ed extraistocitaria (confermata mediante colorazione Rosso Congo sulla sezione istologica). Risultava positiva per la presenza di amastigoti anche la citologia linfonodale, che mostrava un quadro reattivo. Venivano eseguite sierologia IFI per *Leishmania* (titolo 1:320) ed elettroforesi sieroproteica (Alb 1.5 g/dL, Glob 7.7 g/dL). Si impostava una terapia con allopurinolo (10 mg/kg BID), senza alcun miglioramento clinico; si passava quindi ad antimonio (50 mg/kg SC SID), ma vista l'inefficacia del trattamento, dopo poche settimane, si procedeva ad eutanasia. In sede autopsica venivano eseguiti prelievi di fegato e rene in cui si evidenziava un quadro infiltrativo linfoplasmacellulare compatibile con lesioni secondarie ad infestazione da *Leishmania* spp.

Discussione - I segni clinici principali riportati in corso di FeL sono aspecifici e includono cachessia, linfadenomegalia, lesioni dermatologiche (dermatite ulcerativa, crostosa, nodulare o esfoliativa), mucocutanee ed oculari (uveite),^{1,2} raramente scolo nasale e dispnea (< 25% dei casi).² Per il tipo di lesione qui descritta, le diagnosi differenziali principa-

li includevano una neoplasia rinofaringea (linfoma, carcinoma o sarcoma) con interessamento linfonodale e rinosinusi- te cronica secondaria, o una rinite micotica (aspergillosi e criptococcosi).³ Sono stati descritti altri casi di rinite granulomatosa secondaria a infezione da *Leishmania* spp.,^{3,4} ma in base alla conoscenza degli autori, questo è il primo caso di FeL che si presenta con una neoformazione in regione rinofaringea che risulta essere un piogranuloma associato a presenza di amastigoti e ad abbondante deposizione di fibrille di sostanza amiloide intra- ed extraistocitarie. L'amiloidosi è stata riportata anche in casi di Leishmaniosi canina viscerale.⁵ Recentemente, macrofagi contenenti una sostanza proteinacea fibrillare simil-amiloide sono stati evidenziati in un gatto con amiloidosi epatica: la colorazione con Rosso Congo ha confermato la presenza di depositi della proteina AA amiloide anche nel citoplasma dei macrofagi,⁶ mettendo in evidenza il ruolo che questi potrebbero avere nella produzione di tale sostanza.

In conclusione, si può affermare che la rinite piogranulomatosa cronica secondaria a infezione da *Leishmania* spp. dovrebbe essere inclusa tra le diagnosi differenziali in caso di rilievo di neoformazione infiltrante nella regione rinofaringea nel gatto, soprattutto nelle aree endemiche.

Bibliografia

1. Soares CSA, Duarte SC, Sousa SR. What do we know about feline leishmaniosis? JFMS. 2016; 18(6) 435-442.
2. Pennisi et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. Parasites & Vectors. 2015; 8:302.
3. Altuzarra R et al. Computed tomographic features of destructive granulomatous rhinitis with intracranial extension secondary to leishmaniasis in a cat. Vet Radiol Ultrasound. 2018; 1-5.
4. Leal RO et al. Granulomatous rhinitis secondary to feline leishmaniosis: report of an unusual presentation and therapeutic complications. JFMS Open Reports. 2018; 1-7.
5. George JW, Nielsen SW, Shively JN, Hopek S, Mroz S. Canine Leishmaniasis with Amyloidosis. Vet Path. 1976; 13: 365-373.
6. Neo-suzuki S et al. Hepatic AA amyloidosis in a cat: cytologic and histologic identification of AA amyloid in macrophages. Vet Clin Path. 2017; 46/2, 331-336.

DERMATITE PUSTOLOSA STERILE ASSOCIATA A LEISHMANIOSI**S. Gattuso**, DVM¹, F. Abramo, DVM²,F. Albanese, DVM³, A. Martello, DVM⁴, G. Bacci, DVM⁴¹ *Libero professionista, Messina, Italia*² *Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa, Pisa, Italia*³ *Libero professionista, Arezzo, Italia*⁴ *Clinica veterinaria "Roges", Cosenza, Italia*

Introduzione - Le lesioni cutanee in corso di leishmaniosi canina sono numerose e polimorfe: scaglie amiantacee, manicotti peripilari, ulcere, depigmentazione delle giunzioni muco cutanee e tartufo, ipercheratosi del tartufo e cuscineti, papule-noduli, noduli e placche, onicogriposi e pustole. Nella variante clinica di dermatite pustolosa, l'aspetto e la distribuzione delle lesioni sono sovrapponibili a quelle del

pemfigo foliaceo o delle pustolosi sterili, con sintomi sistemici quali febbre, abbattimento del sensorio e malessere generale. La dermatite pustolosa associata a leishmaniosi è stata occasionalmente segnalata dal 1988, ma solo di recente quest'associazione è stata descritta su un'ampia serie di casi. La diagnosi di leishmaniosi in questi casi, era formulata con uno o più esami: sierologia, citologia, PCR.

L'esame citologico/istologico di preparati cutanei evidenziava talora la presenza di cheratinociti acantolitici e, in alcuni casi, venivano identificati mediante esame istologico amastigoti di leishmania tramite colorazione routinaria E-E o immunoistochimica.

Descrizione del caso - Cane meticcio, maschio castrato, 11 anni, adottato in canile. Da dieci giorni manifesta prurito generalizzato e lesioni dermatologiche diffuse, non risponde a terapia con oclacitinib 0,5 mg/kg bid e clorexidina shampoo, viene riferito per visita specialistica.

All'esame dermatologico si osservano alopecia simmetrica bilaterale del tronco e dermatite pustolosa generalizzata, con pustole e croste giallastre su addome, piatto delle cosce e superficie concava e convessa dei padiglioni auricolari, ed eritema con scaglie psoriasiformi su testa e tronco. In associazione sono presenti abbattimento, disoressia, ipertermia T 40,5 °C, algia, PU/PD.

Gli esami ematochimici evidenziano leucocitosi neutrofilica e aumento significativo della Proteina C. L'elettroforesi mostra ipoalbuminemia, ipergammaglobulinemia e aumento delle alfa-globuline. Le urine evidenziano PS 1045, elevata proteinuria e alterato rapporto Pu/Cu. Il test ELISA Leishmania è positivo medio. In base al test sierologico si eseguono PCR quantitativa su midollo che identifica 44.000.000 copie di *L. infantum* e un citologico dalla stessa sede che evidenzia amastigoti. L'esame citologico sulle pustole integre evidenzia neutrofili e cellule acantolitiche, non si osservano batteri.

L'esame istopatologico di biopsie multiple rileva una dermatite pustolosa neutrofilica subcorneale. Le pustole, di dimensioni variabili, contengono neutrofili e cellule acantolitiche vitali talora organizzate in brevi cordonature, la colorazione è PAS-negativa. Alla luce degli esiti ottenuti si richiedono un esame PCR da tessuto paraffinato che fornisce esito negativo e una indagine immunoistochimica con siero iperimmune di cane affetto da leishmaniosi che rileva rari amastigoti in rarissimi macrofagi nel derma.

Viene impostata terapia con prednisone 2 mg/kg bid, miltefosina 2 mg/kg sid, omeprazolo 0,7 mg/kg sid, allopurinolo 15 mg/kg bid, enalapril 0,5 mg/kg bid e shampoo a base di zinco e clorexidina una volta a settimana. Dopo 20 giorni di terapia le condizioni del cane migliorano, così come l'appetito e il sensorio, e torna ad essere attivo. Al follow up si osserva un'estensione dell'alopecia su spalle, torace e arti, l'eritema è notevolmente diminuito, scaglie e croste appaiono parzialmente in remissione mentre sono ancora visibili pustole integre. Il prurito, seppur diminuito, non è mai scomparso. Successivamente si dimostra riluttante al movimento, rifiuta il cibo e peggiora rapidamente manifestando vomito incoercibile. Il cane viene ricoverato e muore dopo una settimana per pancreatite acuta.

Conclusioni - Ai fini diagnostici è fondamentale stabilire se le lesioni pustolose osservate in un cane con leishmaniosi

siano attribuibili a *L. infantum* o ascrivibili a una malattia concomitante. Dato che *L. infantum* è endemica nel nostro territorio, il riscontro del protozoo nell'organismo non conferma la correlazione con questa manifestazione clinica.

Nel caso in oggetto, la presentazione clinica e il rilievo di cellule acantolitiche alla citologia delle pustole orientava la diagnosi verso un pemfigo foliaceo ma i risultati ematochimici, delle urine e dell'elettroforesi, hanno suggerito la possibilità di una concomitante leishmaniosi, confermata tramite citologia del midollo e PCR quantitativa.

L'ipotesi che la pustolosi sia associata a leishmaniosi è supportata dall'esame immunoistochimico delle biopsie cutanee, tramite il quale si è dimostrata la presenza, seppur esigua, di amastigoti nei macrofagi dell'infiltrato dermico. L'esito negativo della PCR sulle biopsie cutanee e la positività all'esame immunoistochimico, genera dubbi e perplessità ma va considerato che le sezioni utilizzate per la PCR erano diverse da quelle ottenute per l'esame immunoistochimico e, inoltre, il numero di amastigoti era molto esiguo. La risposta alla terapia ricalca quanto osservato dagli autori nello studio di qualche anno fa e suggerisce la necessità di impostare una concomitante terapia immunosoppressiva in quanto il solo trattamento leishmanicida non è sufficiente per indurre la remissione della dermatite pustolosa.

Bibliografia

- Colombo S, et al (2016) Pustular dermatitis in dogs affected by leishmaniosis: 22 cases. *Vet Dermatol.* 27(1):9-e4.
Ferrer L, et al (1988) Skin lesions in canine leishmaniasis. *J Small Anim Pract* 29:381-388.

SAFETY AND EFFICACY OF CANILEISH® VACCINE IN EXPOSED DOGS

M. Gizzarelli, DVM, PhD¹, V.

Foglia Manzillo, DVM, PhD¹, F. Vitale, DVM²,

S. Sotera, DVM³, S. Montagnaro, DVM, PhD¹,

G. Oliva, DVM¹

¹ *Dipartimento Medicina veterinaria e Produzioni Animali, Napoli, Italia*

² *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo, Italia*

³ *Libero professionista, Lampedusa, Italia*

Purpose of the work - Canine leishmaniosis (CanL) is a zoonotic disease caused by the kinetoplastid protozoan *Leishmania infantum* that affects approximately 2.5 million dogs in Mediterranean and peri-Mediterranean areas each year¹. Despite the availability of several topical insecticide preparations, these products cannot prevent all potential infectious sand fly bites and there is still a need for further control measures². Vaccination against CanL using LiESP/QA-21 (Canileish®; Virbac) reduces the parasite load and the risk of progressive infection in vaccinated dogs. When administered to dogs exposed to natural *L. infantum* infection, the vaccine was shown to decrease four-fold the risk of an individual dog progressing to symptomatic active infection³. The present study was designed to investigate the risk to develop the clinical disease in exposed dogs⁴ when vaccinated against CanL with Canileish®; and to assess if it is safe in these animals.

Materials and methods - The present study was carried out during two consecutive transmission seasons in Lampedusa, a small island (20,2 km²) in the Italian Pelagic archipelago (35° 30'56"N 12°34'23"E), highly endemic for canine leishmaniasis⁵. A group of owned dogs of different sex, breed and age was vaccinated with CaniLeish[®], the large majority of which was born on the island. Each dog was submitted to clinical examination and blood sample. The presence of anti-Leishmania antibodies was assessed by a rapid immunochromatographic test (Speed Leish KTM, Virbac BVT) before the prime vaccination. All the sera were analyzed by the indirect immunofluorescence antibody test (IFAT) too, following the OIE standard procedures. Before vaccination, dogs owners signed an informed consent. The collection of biological samples was performed in accordance with the national guidelines for animal welfare. Vaccinated dogs were monitored every six months by IFAT, clinical examination, haematological and biochemical profiles. Dogs showing clinical signs suggestive of CanL were further examined for giving specific therapy. After one year each dog received the booster vaccination. All dogs were protected against sand flies by using insecticides (Effitix[®]; Virbac). Statistical analyses were performed using MedCalc software (Frank Shoonjans, V.7.2.1.0) and SPSS, version 13.0 for Windows.

Outcomes - At the beginning of the study, 69 dogs were included. Dogs were divided in two groups: group A - 43 negative to the pre-vaccination IFAT test; group B - 26 positive to IFAT at low titer (<1:160). No statistical difference was found when the age of the groups was compared (P=0,2696 - Kendall's Tau). During the follow up 4 animals (2.7%), two for each group, showed high antibodies level associated with clinical alterations. Kaplan-Meier survival curves demonstrated no statistical difference between the two groups (P=0,5516). At the end of follow up 9 dogs (20,93%) of group A remained negative to IFAT while the others showed low antibody titers. In group B 1 dog converted to negative serology, the others maintained the values exhibited at beginning of the study. Sixty five dogs had no clinical abnormalities. In both groups few transient adverse events to vaccine were recorded, usually pain at injection site.

Conclusions - Our data seem to demonstrate that: i) the CaniLeish[®] vaccine is safe also in dogs classified in literature as "exposed"⁴ or "subclinically infected"²; ii) in these dogs CaniLeish[®] avoids the progression of the Leishmania infection during two consecutive transmission seasons. This result could be considered important because exposed/subclinically infected dogs represent a large part of canine population in endemic areas. However further studies using more dogs for a longer follow up are required.

Bibliography

1. Moreno J, Alvar J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol.* 2002; 18(9): 399.
2. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.* 2009 Oct 28;165(1-2):1-18.

3. Oliva G, Nieto J, Foglia Manzillo V, Cappiello S, Fiorentino E, Di Muccio T, Scalone A, Moreno J, Chicharro C, Carrillo E, Butaud T, Guegan L, Martin V, Cuisinier AM, McGahie D, Guegan S, Cañavate C, Gradoni L. A randomised, double-blind, controlled efficacy trial of the LiESP/QA-21 vaccine in naïve dogs exposed to two leishmania infantum transmission seasons. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014 Oct 9;8(10): e3213.
4. Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, Crotti A, Maroli M, Oliva G, Roura X, Zattelli A, Zini E; Canine Leishmaniasis Working Group, Italian Society of Veterinarians of Companion Animals. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2010 Jun 1;236(11):1184-91.
5. Foglia Manzillo V, Gizzarelli M, Vitale F, Montagnaro S, Torina A, Sotera S, Oliva G. (2018). Serological and entomological survey of canine leishmaniasis in Lampedusa island, Italy. *BMC Vet Res.* 2018 Sep 19;14(1):286.

INFEZIONE DA LEISHMANIA INFANTUM NEI GATTI: STUDIO EPIDEMIOLOGICO E CLINICOPATOLOGICO IN EMILIA-ROMAGNA

A. Tirolo Med Vet, L. Urbani Med Vet,
D. Salvatore Med Vet, M. Tumbarello Med Vet,
S. Segatore Med Vet, F. Serafini Med Vet,
M. Battilani Med Vet, A. Balboni Med Vet,
F. Dondi Med Vet, Dr Ric

*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie,
Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Italia*

Scopo del lavoro - La leishmaniosi felina è stata descritta solo sporadicamente in Italia e il ruolo epidemiologico del gatto è ancora oggi oggetto di studio, così come non sono ancora completamente chiariti numerosi aspetti clinici (Pennisi et al, 2015). Obiettivi del presente studio sono stati: (a) stimare la prevalenza d'infezione da Leishmania infantum in gatti della regione Emilia Romagna utilizzando un test sierologico (immunofluorescenza indiretta) e uno molecolare (real-time PCR) su tre differenti matrici biologiche (sangue, tampone congiuntivale, pelo); (b) comparare le performance diagnostiche delle due metodiche; (c) valutare le possibili associazioni tra l'infezione da L. infantum e dati di segnalamento e anamnesi e dati clinico-patologici.

Materiali e metodi - Lo studio è stato eseguito su gatti condotti a visita presso un ospedale veterinario nel periodo compreso tra giugno e novembre 2017. Sono stati inclusi nello studio gatti provenienti dalla regione Emilia-Romagna, sottoposti a prelievo ematico e delle urine per necessità diagnostiche cliniche non correlate allo studio, e successivamente sottoposti a tampone oculo congiuntivale bilaterale e raccolta di campioni di pelo (strappamento). Al momento del campionamento sono stati raccolti dati relativi al segnalamento e anamnesi quali: sesso, età, razza, origine geografica, stile di vita, mese di campionamento e sono stati eseguiti l'esame emocromocitometrico, un profilo chimico corredato da elettrofresi delle sieroproteine e l'esame delle urine.

Per la diagnosi d'infezione sono state utilizzate la real-time PCR (qPCR) (Ceccarelli et al, 2014) sulle diverse matrici biologiche (sangue, tamponi congiuntivali e pelo) e l'immu-

nofluorescenza indiretta (IFI) da campione di siero. Il titolo anticorpale IFI $\geq 1:80$ è stato fissato come cut-off di positività (Persichetti et al, 2017). Sulla base dei risultati dei test eziologici, i gatti sono stati suddivisi in tre gruppi: “casi Leishmania positivi” (CLP) comprendenti gatti con titolo anticorpale $\geq 1:80$ e/o positivi in qPCR; “casi Leishmania negativi” (CLN) comprendenti gatti con titolo anticorpale negativo ($< 1:40$) e risultati negativi in qPCR; “casi Leishmania non confermati” (CLNC) comprendenti gatti con titolo anticorpale uguale a 1:40 e risultati negativi in qPCR. I dati sono stati analizzati mediante statistica descrittiva e riportati come mediana e range (min-max). I gatti appartenenti al gruppo CLNC sono stati esclusi dall’analisi statistica. Le variabili categoriche sono state analizzate utilizzando il test Chi-quadrato mentre le variabili non-categoriche (età e dati clinico-patologici) sono stati comparati utilizzando il test Kruskal Wallis ANOVA. Il coefficiente kappa di Cohen è stato calcolato per valutare la concordanza tra le diverse metodiche diagnostiche utilizzate. Sono stati considerati statisticamente significativi valori di $P < 0.05$.

Risultati - Sono stati inclusi nello studio 152 gatti. Di questi, 19/152 (12.5%) gatti sono stati inclusi nel gruppo CLP, di cui 18/152 (11.8%) sono risultati positivi all’IFI e 1/152 (0.7%) è risultato positivo in qPCR da campione di pelo; 106/152 (69.7%) gatti sono risultati negativi ed inclusi nel gruppo CLN ed i rimanenti 27/152 (17.8%) sono stati inclusi nel gruppo CLNC. Nessuna associazione statisticamente significativa è emersa tra i dati di segnalamento e anamnesi e le positività ai test diagnostici, tuttavia, un numero rilevante di gatti inclusi nel gruppo CLP era stato campionato in agosto. Dall’analisi dei dati clinico-patologici è emerso un aumento statisticamente significativo delle proteine totali (CLP: 7.66 g/dl, 6.68 –

10.4; CLN: 7.18 g/dl, 5.11 – 9.45) ed una diminuzione statisticamente significativa del rapporto albumine/globuline (CLP: 0.67, 0.25 – 0.97; CLN: 0.78, 0.30 – 1.28) nel gruppo CLP rispetto al gruppo CLN. Inoltre è stato rilevato un incremento significativo delle proteine sieriche $\beta 2$ -globuline (CLP: 0.55 g/dl, 0.32 – 1.21; CLN: 0.43 g/dl, 0.14 – 1.66) e γ -globuline (CLP: 1.37 g/dl, 0.82 – 3.44; CLN: 1.03 g/dl, 0.02 – 2.76) nel gruppo CLP rispetto al gruppo CLN. I diversi test diagnostici utilizzati non sono risultati tra loro concordi.

Conclusioni - L’elevata prevalenza di infezione rilevata in questo studio sottolinea come il parassita circoli nell’ospite felino anche nel centro-nord Italia. Questo studio inoltre sembra supportare la già descritta associazione tra leishmaniosi felina e iperprotidemia e ipergammaglobulinemia (Richter et al, 2014), come riportato per la leishmaniosi canina. Ulteriori studi sono necessari per approfondire il ruolo epidemiologico del gatto nella diffusione di *L. infantum* e l’effettivo ruolo patogeno del parassita per la specie felina.

Bibliografia

- Ceccarelli M. et al. Detection and characterization of *Leishmania* (*Leishmania*) and *Leishmania* (*Viannia*) by SYBR green-based Real-Time PCR and high resolution melt analysis targeting kinetoplast minicircle DNA. *PLoS One*. 2014.
- Pennisi M. G. et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasit Vectors*. 2015.
- Persichetti M. F. et al. Diagnostic performance of ELISA, IFAT and Western blot for the detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in cats using a Bayesian analysis without a gold standard. *Parasit Vectors*. 2017.
- Richter M. et al. Ocular signs, diagnosis and long-term treatment with allopurinol in a cat with leishmaniasis. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 2014.

Poster

COMORBIDITIES AND COINFECTIONS IN A CAT AFFECTED BY LEISHMANIOSIS

M. G. Pennisi, Full Professor, Spec. Applied Microbiology, DVM¹, G. Donato, PhD student, DVM¹, M. De Majo, Full Professor, PhD, DVM¹, C. Mangano, PhD, DVM, GpCERT DI¹, F. Bruno, Biotechnologist², G. Castelli, Biotechnologist², E. De Luca, DVM³, F. Pizzurro, Biotechnologist, PhD³

¹ Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina, Messina, Italy

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo, Italy

³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell’Abruzzo e del Molise, Teramo, Italy

Introduction - Feline leishmaniosis (FeL) manifests with skin lesions, lymph node enlargement and less frequently with many other signs. However, coinfections or comorbidities concur to clinical manifestations and should be considered¹. Among them, chronic kidney disease (CKD) is mostly important for prognosis². We report a case of FeL in a cat affected by CKD, hepatobiliary abnormalities, rhinosinusitis, coinfections by Feline Immunodeficiency Virus (FIV), Feline Morbillivirus (FeMV), and infestations by *Toxocara cati* and *Aelurostrongylus abstrusus*.

Case description - In November 2017, Molly, a 9 year old spayed female domestic short-hair foundling cat, housed in a rescue cattery where health care is poor, was hospitalized for severe weight loss and large bowel diarrhea. Moderate dehydration, pale and slightly icteric mucous membranes, poor coat condition, mucopurulent nasal discharge, upper lip indolent ulcer, stomatitis, systemic lymph node enlargement, BCS 3/9 and MSC 4/4 were observed.

A severe regenerative anemia, neutrophilic lymphocytic monocytic leukocytosis, increased alanine aminotransferase and urinary protein-to-creatinine ratio (UPC: 1.85-2.7), inappropriate urine specific gravity (USG: 1015-1025) were also detected. Abdominal ultrasonography (AU) found mild peritoneal effusion, biliary sludge and inhomogeneous avascular content with normal gallbladder wall, 3 focal hyperechoic hepatic lesions (3-4 mm of diameter), and mild increased renal cortical echogenicity. Normotensive, proteinuric IRIS (International Renal Interest Society) stage 1 CKD was diagnosed and hemoplasmosis was suspected. While coprological, virological (FIV, Feline Leukemia Virus, Feline Coronavirus, Feline Panleukopenia Virus, Feline Calicivirus, FeMV), hemoplasmas, *Babesia*

and *L. infantum* (Li) investigations were pending, renal diet, fluid and doxycycline (10 mg/kg PO q24h) therapy were started. *Toxocara cati* eggs and *Aelurostrongylus abstrusus* larvae were detected and moxidectin-imidacloprid spot-on was administered. One week later complete blood count (CBC) had improved and doxycycline was stopped as hemoplasma PCR was negative. Amoxicillin/clavulanate (8.75 mg/kg SC q24h for 5 weeks) therapy based on antibiotic susceptibility was started for the rhinosinusitis diagnosed by X-ray. Anti-FIV, anti-FeMV and anti-Li antibodies (IFAT titer 1280) were detected and urine FeMV PCR was positive (persistent shedding during 8 weeks) as well as Li PCR performed in blood, swabs (ear, conjunctival, oral) and lymph node samples. Allopurinol (10 mg/kg PO q24h) was given by December 21.

At that time diarrhea had already improved and biochemical profile was within reference range, apart from symmetric dimethylarginine (SDMA) concentration (22 µg/dl); CBC had worsened and anti-Li titer was 5120. A progressive clinical improvement was seen in the following seven weeks with anemia recovery (since December 29), slight reductions of proteinuria (UPC: 1.55), prescapular lymphadenia and lip indolent ulcer, while weight gained and quality of coat improved. However, nasal discharge and neutrophilic lymphocytic monocytic leukocytosis persisted and SDMA values progressively increased up to 31 µg/dL, moving CKD to IRIS stage 3. Prudently allopurinol was stopped and spiramycin (150.000 IU/kg) plus metronidazole (25 mg/kg) (SP&M) was started as anti-Li alternative treatment useful also for rhinosinusitis. Fluid therapy and telmisartan (1 mg/kg PO q24h) were added but non-regenerative anemia, anorexia and weight loss progressively occurred and telmisartan was stopped after 1 month. At that time nasal discharge and the lip indolent ulcer were cured and the IRIS stage was back to 2 (SDMA 22 µg/dl) with unchanged proteinuria level. Molly was then given in foster care and allopurinol was restarted. Mucopurulent nasal discharge, neutrophilia and monocytosis recurred two weeks later and marbofloxacin (2 mg/kg SC q24h for 4 weeks) was added. CKD stage fluctuated between stage 3 (SDMA:26 µg/dL) in April when proteinuria peaked (UPC 4.7) and stage 2 (SDMA:24 µg/dL) in May when body weight further increased, nasal discharge, anemia, neutrophilia and monocytosis cured, and contrast-enhanced AU found normal vascularization of gallbladder wall without enhancement of the intraluminal material, in addition to normal enhancement of cortex and medulla of left kidney. Molly was then back to the cattery where, in absence of therapy, clinical worsening rapidly occurred and death caused by a trauma was reported.

Conclusions - Viral, bacterial and nematode infections were diagnosed in a cat affected by FeL in which a hemolytic episode, CKD, and persistent hepatobiliary lesions were documented. These latter were unfortunately not investigated but they were not clinically relevant. Hemolysis was doxycycline-responsive but hemoplasmosis was not confirmed. Rhinosinusitis recurred after antibiotic treatments and impaired immunocompetence due to FIV was suspected.

The causative role of viral pathogens (FIV, FeMV) and Li (individually or by interactions between them) in the multiple manifestations reported and in CKD cannot be concluded. Interestingly, anemia, BCS and MCS were positively affected by both courses of allopurinol therapy despite ongoing CKD and FIV infection.

Bibliography

1. Pennisi MG et al. *Parasit Vectors*. 2015;8:302.
2. Pennisi MG. et al. *SISVet Proceedings* 2016; 70:166.

CANILEISH™ VACCINE AND REPELLENTS ARE EFFECTIVE MEASURES TO PREVENT CANINE LEISHMANIASIS IN FIELD CONDITION: A 6-YEAR-FIELD RETROSPECTIVE STUDY

A. Inglese, DVM¹, M. Gizzarelli, DVM, PhD²,
V. Foglia Manzillo, DVM, PhD², G. Oliva, DVM²,
C. Speiser-Fontaine, DVM³

¹ *Libero professionista, Grottaglie (TA), Italy*

² *Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Napoli, Italy*

³ *Medical Department, VIRBAC, Carros, France*

Purpose of the work - Medical preventative measures against canine leishmaniosis includes the regular use of phlebotomine repellent products and/or of vaccines (1). The study aimed to assess the efficacy of these measures in long term field conditions.

Materials and methods - Data were collected between February, 1st 2012 and April, 30th 2018 in a veterinary clinic located in Grottaglie, Taranto, Italy. Dogs of at least 6 months of age at the time of the leishmaniosis diagnosis or of the first vaccine injection were allocated into 4 groups: no preventative measure (NVNR), repellents only (NVR), vaccine only (VNR), vaccine and repellents (VR). Leishmaniosis diagnosis was confirmed if dogs were symptomatic with ELISA = 1, or, when ELISA > 1 (2). Cases with uncomplete data were not analyzed.

Outcomes - The analysis was made on 240 dogs: 31/240 (13%) in group NVNR, 63/240 (26%) in group NVR, 63/240 (26%) in group VNR and 83/240 (35%) in group VR. The groups were not different in terms of sex, breed, life style repartition or repellent brands used when appropriate. The dogs of the VR groups were statistically younger (1.4 ± 0.8 years of age) than those of the NVR (2.9 ± 1.5 years of age) and the NVNR (3.5 ± 2.8 years of age) groups at the beginning of the follow-up. Diagnosis of leishmaniosis was confirmed in 20/31 (34%) dogs for the NVNR group, 10/63 (15.9%) dogs in the NVR group, 0/63 (0%) in the VNR and 0/83 (0%) in the VR group.

Conclusions - CaniLeish™ vaccine (3,4,5), in addition or not to repellent treatments, prevents the development of an active *Leishmania* infection in all (146/146) dogs. Dogs treated with repellents together with vaccine were 9.6 time less likely to develop a leishmaniosis infection. Vaccination and/or the use of repellents decreases the risk of leishmaniosis in at-risk dogs.

Bibliography

1. Maroli M, Gradoni L, Oliva G, Castagnaro M, Crotti A, et al. Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. J Am Vet Med Assoc 236: 1200-1206. 2010.
2. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miro' G, Cardoso L, Pennisi MG, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vet Parasitol 165: 1-18. 2009.
3. Oliva G, Nieto J, Foglia Manzillo V, Cappiello S, Fiorentino E, Di Muccio T, Scalone A, Moreno J, Chicharro C, Carrillo E, Butaud T, Guegand L, Martin V, Cuisinier AM, McGahie D, Gueguen S, Cañavate C, Gradoni L. A randomised, double-blind, controlled efficacy trial of the LiESP/QA-21 vaccine in naïve dogs exposed to two leishmania infantum transmission seasons. PLoS Negl Trop Dis. 2014.
4. Martin V, Vouldoukis I, Moreno J, McGahie D, Gueguen S, Cuisinier AM. The protective immune response produced in dogs after primary vaccination with the LiESP/QA-21 vaccine (CaniLeish®) remains effective against an experimental challenge one year later. Vet Res. 2014.
5. Moreno J, Vouldoukis I, Schreiber P, Martin V, McGahie D, Gueguen S, Cuisinier AM. Primary vaccination with the LiESP/QA-21 vaccine (CaniLeish) produces a cell-mediated immune response which is still present 1 year later. Vet Immunol Immunopathol. 2014.

UN CASO ATIPICO DI LEISHMANIOSI CANINA

V. Stocchetti, DVM

Clinica Veterinaria Città di Bolzano, Bolzano, Italia

Introduzione - La Leishmaniosi canina è una patologia sistemica cronica, causata dal protozoo *Leishmania infantum*, potenzialmente in grado di coinvolgere qualsiasi organo, tessuto e fluido biologico. Ne consegue che i segni clinici che si possono manifestare sono quanto mai vari. Raramente, i cani possono presentare anche una locomozione anormale, associata a lesioni muscolari, ossee o articolari.

In questo case report descriviamo un caso di Leishmaniosi con decorso atipico. Il solo segno clinico all'esordio della malattia era infatti una zoppia di quarto grado a carico dell'arto posteriore destro dovuta ad un'artrite erosiva.

Descrizione del caso - Maya è un cane femmina, meticcio, di anni 8. Vive in Alto Adige, non fa profilassi per ectoparassiti. L'estate solitamente i proprietari la portano in Croazia. Cinque mesi prima della nostra visita Maya era stata portata dal veterinario per zoppia di 4 grado a carico dell'arto posteriore destro. Dalla visita ortopedica era emersa un'instabilità articolare cronica cruro tarsica con deficit del compartimento mediale, lassità marcata ed evidenza all'esame radiografico di artrosi erosiva. Data la grave instabilità articolare, Maya era stata sottoposta ad intervento di artrodesi tarsica previa esecuzione di esami preoperatori completi dai quali era emersa esclusivamente una lieve ipoalbuminemia pari a 2,1 g/dl (2,2-3,2). Dopo l'intervento Maya aveva recuperato pienamente la deambulazione. Cinque mesi dopo la chirurgia è stata riportata a visita per comparsa di zoppia a carico dell'arto posteriore sinistro, disoressia e dimagrimento. All'esame fisico Maya era in buone condizioni cliniche, leggermente sottopeso (BCS 2/9), presentava un mantello opaco e forforoso, alopecia del cavo ascellare bilateralmente. Si riscontrava inoltre

dolore a carico del tarso sinistro. Gli esami evidenziavano la persistenza di ipoalbuminemia pari a 2,09 g/dl (2,2-3,) ed un incremento delle gamma globuline pari a 18,3 g/dl (3,5-9,4). In considerazione dei sintomi clinici e dell'inversione del rapporto albumine/globuline sono stati eseguiti: elettroforesi sierica, test 4DX per malattie da zecca, sierologia per *Leishmania infantum* e agoaspirati del liquido articolare di tarso, ginocchio e carpo destro e sinistro e gomito destro e radiografie di tutte le articolazioni sopra elencate. L'esame citologico del liquido articolare rivelava una flogosi neutrofila sterile in tutti gli arti e la presenza in tutti i campioni di monociti mostranti corpi inclusi citoplasmatici morfologicamente compatibili con amastigoti di *Leishmania*. Dalle radiografie eseguite invece si evidenziavano segni di artrite erosiva solo a carico del tarso di sinistra; le altre articolazioni mostravano un quadro radiografico nella norma.

Conclusioni - Questo case report descrive un caso atipico di Leishmaniosi canina. La paziente ha esordito infatti con sintomi riferibili ad una artropatia primaria a carico di un'unica articolazione e nessun altro sintomo o rilievo clinico. Le alterazioni ematobiochimiche e alcuni segni clinici comunemente riferibili a *Leishmania* si sono infatti cominciati a manifestare solo mesi dopo. Vogliamo quindi ricordare come la Leishmaniosi sia una malattia cronica a decorso lento e insidioso e come i sintomi clinici possano essere estremamente subdoli. Nello specifico delle patologie articolari segnaliamo inoltre uno studio retrospettivo che ha evidenziato che i soggetti affetti da *Leishmania* che hanno solo sintomi riferibili a una patologia ortopedica presentano più spesso una mono o oligoartrite, mentre la caratteristica poliartrite secondaria a Leishmaniosi è presente in quelli che mostrano anche altri sintomi clinici tipici della malattia. In conclusione ricordiamo quindi che la Leishmaniosi dovrebbe essere sempre considerata in diagnosi differenziale in tutti i cani che hanno un'artropatia infiammatoria in quelle aree dove la malattia è endemica e/o se i cani hanno visitato o provengono da queste zone.

Bibliografia

- Agut, A., Corzo, N., Murciano, J., Laredo, F.G., Soler, M., 2003. "Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with Leishmaniasis", Veterinary Record, 153, 648-652.
- Blavier, A., Keroack, S., Denerolle, P., Goy-Thollot, I., Chabanne, L., Cadore, J.L., Bourdoiseau, G., 2001. "Atypical forms of canine leishmaniosis". Veterinary Journal. 162, 108-120.
- Ciamarella, P., Oliva, G., De Luna, R., Gradoni, L., Ambrosio, R., Cortese, L., Scalone, A., Persechino, A., 1997. "A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*". The Veterinary record. November 1997.
- Franch J., Pastor, E., Torrent, E., Lafuente P., Diaz-Bertrana M.C., Munilla, A., Durall, I. 2004. "Management of Leishmanial osteolytic lesions in hypothyroid dog by partial tarsal arthrodesis". The Veterinary Record, 30 October, 2004.
- McConkey, S.E., Lopez A., Shaw, D., Calder, J., 2002. "Leishmanial polyarthritis in a dog". Canadian Veterinary Journal. 43, 607-609.
- Santos, M., Marcos, R., Assuncao, M., Matos A.J.F., 2006. "Polyarthritis associated with visceral leishmaniasis in a juvenile dog". Veterinary Parasitology. 141, 340-344.
- Sbrana, S., Marchetti, V., Mancianti, V., Guidi, G., Bennet, D. 2014. "Retrospective study of 14 cases of canine arthritis secondary to *Leishmania* infection". Journal of Small Animal Practice. 55, 309-313.