

Infezione da *Mycobacterium avium* complex in un cane

RIASSUNTO

Mycobacterium avium complex (MAC) è un complesso di microrganismi non tubercolari, a crescita lenta, opportunisti e con diverso potenziale patogeno nell'uomo e negli animali. I cani, ma soprattutto i gatti, sono spesso resistenti all'infezione da MAC, tuttavia quando la contraggono sviluppano solitamente una malattia di tipo focale, con lesioni gastroenteriche, respiratorie o cutanee. Talvolta l'infezione può manifestarsi anche in forma disseminata, con prognosi generalmente infausta.

Nel lavoro viene descritto il caso clinico di un cane portato alla visita per anoressia e dimagrimento, colpito da infezione da MAC e infine deceduto. Tra i numerosi esami eseguiti l'esame citologico ha avuto grande utilità per il raggiungimento della diagnosi. Tale esame, rapido e di facile esecuzione, effettuato utilizzando le colorazioni tipo Romanovsky e la colorazione speciale di Ziehl-Neelsen, ha permesso una diagnosi precoce, successivamente confermata dall'esame colturale e dalla PCR, che garantiscono risultati precisi e accurati, ma necessitano di tempi di realizzazione molto più lunghi.

I micobatteri sono un gruppo di microorganismi con grande varietà di ospite e patogenicità¹. I principali micobatteri patogeni obbligati sono *Mycobacterium tuberculosis* e *M. bovis*, che costituiscono il *Mycobacterium tuberculosis* complex e sono responsabili della tubercolosi nell'uomo e in differenti specie domestiche; *M. leprae* e *M. lepraemurium*, agenti causali della lebbra umana e felina rispettivamente^{1,2,3} e le nuove specie "feline leprosy novel", responsabili di lesioni cutanee lepromatose o raramente disseminate nel gatto^{1,5}. Le altre specie di micobatteri sono considerate saprofiti opportunisti, solo potenzialmente patogeni^{1,2,4,5}, ubiquitari nell'acqua e nei terreni. *M. avium* complex (MAC) fa parte di questo gruppo^{1,2,4,6}. Legrand et al. (2000) hanno incluso nel MAC due specie, geneticamente distinte: *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium intracellulare*. *Mycobacterium intracellulare* non presenta sottospecie ed è patogeno solo per gli animali e gli uomini con sistema immunitario non completamente competente. *Mycobacterium avium* presenta invece tre sottospecie:

1. *M. avium* subsp. *avium*, patogeno per gli uccelli e per gli uomini affetti dal virus dell'immunodeficienza,
2. *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, che causa nei ruminanti la malattia di Johne's ed è implicato nella patogenesi del morbo di Crohn nell'uomo,
3. *M. avium* subsp. *silvaticum*, patogeno per gli uccelli, causa tuttavia anche enteriti croniche nei bovini¹⁰.

Il MAC è quindi frequentemente causa d'infezione in diverse specie di uccelli; i mammiferi più sensibili all'infezione sono suini e conigli^{1,2,4,5,7}. I cani, ma soprattutto i gatti sono relativamente poco sensibili all'infezione da parte di MAC: ciononostante alcune razze (Schnauzer nani, Basset Hounds e gatti Siamesi) sembrano essere maggiormente predisposte all'infezione, anche se per cause ancora poco chiare^{1,2,3,5,6,7}. Comunemente l'infezione da MAC si manifesta con lesioni focali: gastroenteriche, respiratorie o cutanee, ma eccezionalmente può provocare anche una forma d'infezione disseminata¹.

Sebbene a questi microorganismi venga riconosciuto un potenziale potere zoonosico¹⁰, non risultano sottoposti al regolamento di polizia veterinaria, che prende in considerazione solo i micobatteri tubercolari¹¹. Di seguito verrà descritto il caso clinico di un cane affetto da infezione da MAC a carico di alcuni organi addominali, diagnosticato mediante biopsia citologica, isolamento colturale e PCR.

CASO CLINICO

Un cane segugio, maschio, adulto veniva portato alla visita per anoressia e dimagrimento. All'esame clinico il soggetto si presentava in cattivo stato di nutrizione. L'esame fisico rivelava ipertermia (39,5°C), mentre la

Elisa Cucchi^a, Simona Bernini^b,
Silvia Chinosi^a, Davide Mazzocchi^b,
Barbara Vicini^b, Walter Bertazzolo^a

^a "Ospedale Veterinario Città di Pavia"

Viale Cremona, 179 - 27100 Pavia

^b "Clinica Veterinaria Croce Azzurra"

Via Verdi, 16 - 27045 Casteggio (PV)

Presentato come short-communication al 59° Congresso Nazionale SCIVAC, 30/5/08-1/6/08, RIMINI.

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 03/09/2008 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 02/04/2009".

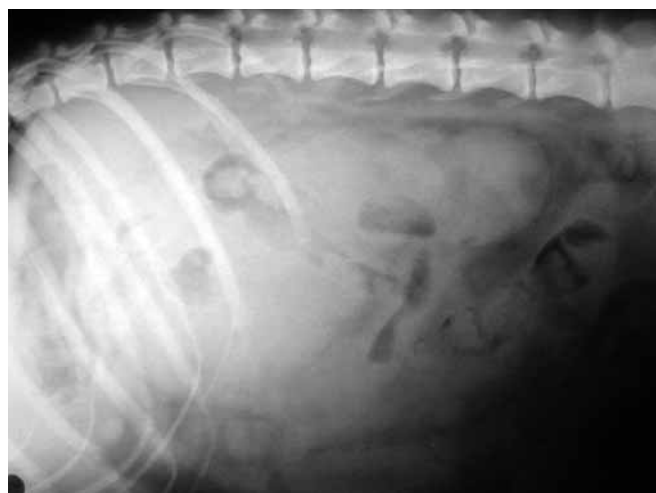


FIGURA 1 - Esame radiografico dell'addome, proiezione laterale destra: è evidente l'aumento di radiopacità dell'area di proiezione dei linfonodi mesenterici.



FIGURA 2 - Immagine ecografica dei linfonodi digiunali in scansione trasversale, appaiono notevolmente aumentati di volume (1 tacca = 1 cm), a margini regolari e ben definiti, è identificabile una sottile capsula iperecogena, complessivamente appaiono ipoecogeni.

palpazione dell'addome rivelava la presenza di una neoformazione intraddominale, possibilmente riconducibile ad una linfadenomegalia diffusa dei linfonodi mesenterici. I principali esami ematici eseguiti fornivano risultati aspecifici. In particolare, l'esame emocromocitometrico evidenziava una lieve anemia, normocitica-normocromica (RBC $5,25 \times 10^6/\mu\text{L}$, intervallo di riferimento (IR) $5,8-8,7 \times 10^6/\mu\text{L}$; Hgb $11,7 \text{ g/dL}$, IR $14,3-20,4 \text{ g/dL}$; Hct 34% , IR $39-58\%$) e una marcata leucocitosi (WBC $31,9 \times 10^3/\mu\text{L}$, IR $5,3-16,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) con neutrofilia ($27,5 \times 10^3/\mu\text{L}$, IR $2,9-13,3 \times 10^3/\mu\text{L}$), presenza di neutrofili bandati ($1,2 \times 10^3/\mu\text{L}$, IR $0-0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$) e monocitosi ($1,63 \times 10^3/\mu\text{L}$, IR $0-1,0 \times 10^3/\mu\text{L}$). Il profilo biochimico sierico, sostanzialmente normale, presentava solo una lieve ipoalbuminemia ($2,6 \text{ g/dL}$, IR $2,7-4,2 \text{ g/dL}$). L'esame radiografico del torace appariva normale. All'esame radiografico dell'addome era possibile identificare un aumento della radiopacità in due zone della cavità addominale, caudalmente allo stomaco, in corrispondenza dell'area dei linfonodi mesenterici e ventralmente alle ultime vertebre lombari, in corrispondenza dell'area di proiezione dei linfonodi sottolombari (Fig. 1).

All'esame ecografico della cavità addominale era possibile individuare un'esigua quantità di versamento libero in cavità peritoneale tale da non poter essere campionato. Il fegato appariva modicamente aumentato di dimensioni, con margini regolari, di aspetto omogeneo ed ecogenicità diminuita. I linfonodi digiunali ed epatici apparivano marcatamente aumentati di dimensioni, presentando un diametro trasversale di almeno 4 cm , ipoecogeni con aspetto disomogeneo a causa di linee e punti iperecogeni (Fig. 2). Per mezzo dell'esame doppler a codice di colore era possibile identificare una vascolarizzazione ordinata in partenza dall'ilo che si irradiava a raggiera verso la periferia. I

linfonodi parietali presentavano un modico aumento di volume. Nello stomaco, che presentava parete di normale spessore e stratificazione, era possibile identificare modico contenuto liquido. Le anse dell'intestino tenue presentavano contenuto di tipo mucoso, parete di 4 mm di spessore, con una normale stratificazione in cui era particolarmente evidente lo strato muscolare. I movimenti peristaltici erano 2-3 al minuto. Il pancreas non era facilmente identificabile, a causa del volume del pacchetto linfonodale; tuttavia le aree pancreatiche indagate apparivano nella norma. Milza, reni e vescica apparivano ecograficamente normali.

L'esame citologico, eseguito sui campioni linfonodali mesenterici ed epatici, prelevati mediante ago aspirato ecoguidato e colorati con la metodica di May-Grunwald-Giemsa, mostrava un'imponente flogosi di tipo granulomatoso. La popolazione cellulare prevalente era costituita da cellule istiocitomacrofagiche, contenenti nel citoplasma l'immagine negativa non colorata riferibile a batteri bastoncellari (Fig. 3), facilmente identificabili come micobatteri grazie alla colorazione speciale di Ziehl-Neelsen eseguita in seguito (Fig. 4).

I campioni biologici prelevati dagli stessi organi, durante una seconda ecografia, sono stati sottoposti ad esame colturale e a tipizzazione molecolare mediante PCR: è stato così possibile identificare il microrganismo come MAC. L'esame colturale è stato eseguito seminando il campione, precedentemente preparato, sui terreni a base d'uovo, di Lowenstein-Jensen e di Stonebrinks, ed incubando a 37°C per alcune settimane.

La crescita del micobatterio è stata osservata dopo otto settimane e confermata mediante colorazione di Ziehl-Neelsen. I ceppi coltivati sono stati poi sottoposti a PCR specifica per MAC (target 16S RNA ribosomiale).

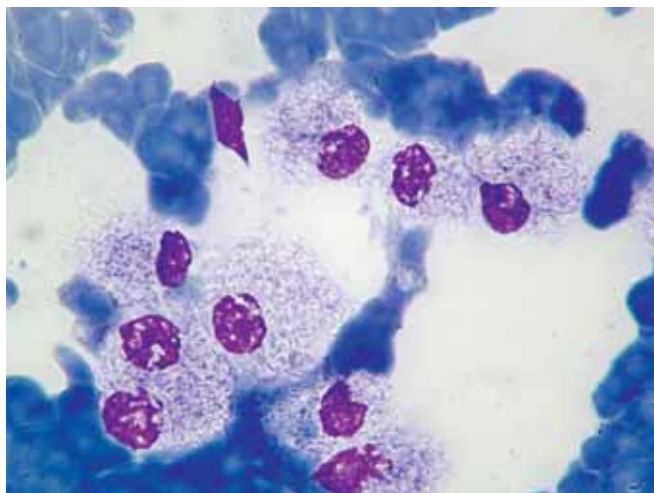


FIGURA 3 - Esame citologico, eseguito sui campioni linfonodali mesenterici ed epatici, mostra una popolazione cellulare prevalentemente costituita da cellule istiocito-macrofagiche, contenenti nel citoplasma l'immagine negativa non colorata riferibile a batteri bastoncellari, Colorazione MGG, 100X.

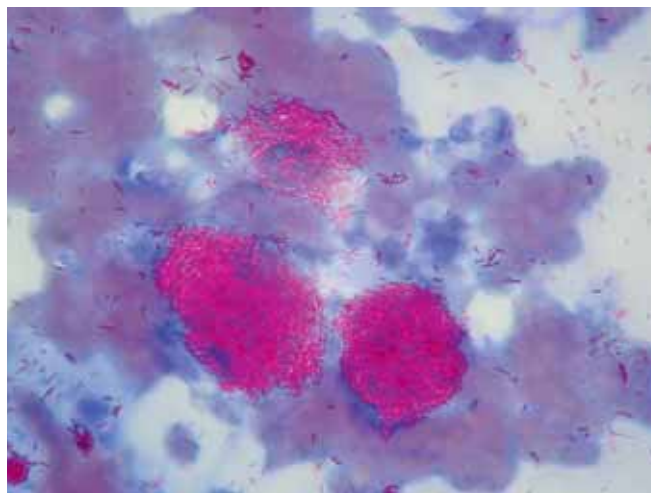


FIGURA 4 - Esame citologico. Nel citoplasma dei macrofagi e liberi sul fondo del preparato si evidenziano numerosi piccoli batteri, colorazione di Ziehl-Neelsen, 100X.

L'animale, già sottoposto a terapia antibiotica con enrofloxacin dalla prima visita, dopo la diagnosi di sospetto, ottenuta con l'esame citologico, è stato trattato con un'associazione di rifampicina e claritromicina, come segnalato in bibliografia¹, in attesa dell'esito dell'antibiogramma. Nonostante la terapia, a causa del continuo peggioramento delle condizioni cliniche, i proprietari decidevano di sottoporre l'animale ad eutanasia. L'esame autopsico non veniva permesso.

DISCUSSIONE

I cani contraggono l'infezione da micobatteri tramite l'ingestione di carne infetta, soprattutto di pollo e suino, oppure per contatto con ambienti infetti, suolo o veicoli contaminati da feci o carcasse di animali infetti^{1,3,6}. Solo raramente però negli animali malati si riesce a determinare la fonte dell'infezione^{2,3}. Dopo l'ingresso attraverso la via aerea o il tratto gastroenterico, i micobatteri vengono fagocitati dai macrofagi². In queste cellule i microrganismi possono sopravvivere, moltiplicarsi e addirittura diffondersi a tutto il sistema linfoide e a molti altri organi: apparato gastroenterico, fegato, milza, reni, midollo osseo e apparato respiratorio^{1,2,3}. Nel nostro caso non è stato possibile definire la fonte d'infezione, né la modalità d'ingresso del microrganismo. Non sempre l'esposizione ai micobatteri provoca la malattia: questa, focale persistente o disseminata, sembra essere dovuta ad un deficit del sistema immunitario cellulo-mediato dell'ospite^{1,2,3,4,7}. Con la depressione del sistema immunitario, i micobatteri sopravvivono nel corpo dell'animale ospite e si moltiplicano nelle sue cellule istiocito-macrofagiche per l'incapacità dei fagociti di eliminarli. A questo livello possono rimanere quiescenti e rie-

mergere solo in seguito, a causa di fattori che riducono la competenza del sistema immunitario¹. Due diverse ipotesi sono state fornite per spiegare la minor competenza del sistema immunitario cellulo-mediato e la conseguente predisposizione di alcune razze di cani e gatti e di alcuni singoli animali a sviluppare l'infezione disseminata da micobatteri:

- deficit immunitario ereditario^{4,6,7,9},
- esposizione dell'animale colpito ad un ambiente contaminato in giovane età, quando il sistema immunitario non è ancora completamente competente, come avviene nei bovini per la malattia di Johne da *M. paratuberculosis*⁴.

Tuttavia nessuna di queste teorie ha ottenuto conferma dai test eseguiti per valutare la competenza del sistema immunitario negli animali colpiti dall'infezione^{4,6}. Il cane da noi visitato, viveva con molti altri cani, nessuno dei quali ha però manifestato alcun segno d'infezione: è quindi probabile che questa fosse dovuta ad un deficit del sistema immunitario del nostro paziente. Purtroppo non sono stati eseguiti test a conferma di questa ipotesi. I sintomi della malattia dipendono dalla sede dell'infezione^{1,4}. La forma clinica tende ad essere inizialmente paucisintomatica anche per molti mesi e poi progredire con una prognosi infausta quasi nella totalità dei casi a causa del peggioramento delle condizioni generali degli animali colpiti o del dolore, soprattutto addominale, che diviene insopportabile^{2,4,6}. I sintomi più frequentemente riscontrati sono letargia e perdita di peso⁴. Spesso gli animali presentano segni riferibili all'apparato gastroenterico: vomito, diarrea ed ematochezia oppure all'apparato respiratorio: tosse, dispnea e cianosi^{1,4,5}.

All'esame clinico si rilevano frequentemente ipertermia⁷, pallore delle mucose, aumento di volume dei linfonodi esplorabili e alla palpazione dell'addome dolore diffuso ed organomegalia^{4,6}.

I segni clinici dell'infezione sistemica da MAC possono quindi essere molto variabili, ma tutti riflettono la grave invasione dei diversi tessuti dell'organismo da parte delle cellule istiocitarie⁴.

Macroscopicamente gli organi appaiono aumentati di volume e presentano lesioni infiltranti e diffuse a tutto il parenchima che possono essere di forma diversa, da lineari chiare, a miliari diffuse di volume diverso^{2,4,7}, fino a grossi noduli di svariati centimetri di diametro⁶. Spesso tutti i linfonodi sono aumentati di volume, di colore giallo e aspetto ceroso².

Microscopicamente le lesioni agli organi e ai linfonodi assumono l'aspetto caratteristico della flogosi granulomatosa^{2,6}: un'area centrale di necrosi, solo molto raramente liquefatta o caseificata, infiltrata da macrofagi e plasmacellule e circondata da cellule epitelioidee o istiocitarie; le cellule giganti sono invece molto rare nei carnivori. Alla periferia è infine spesso presente una spessa capsula fibrosa. Il MAC, a differenza degli altri micobatteri, sono spesso presenti in numero molto elevato. Si localizzano prevalentemente all'interno delle cellule infiammatorie oppure liberi alla periferia dell'area di necrosi^{1,2,3,4,6}. I granulomi costituiscono un tentativo dell'organismo ospite di contenere i micobatteri ed impedirne la disseminazione¹.

La terapia può essere medica e/o chirurgica. La terapia medica prevede l'uso di più farmaci in associazione, per massimizzare l'efficacia e ridurre l'insorgenza di forme di resistenza^{1,4}. Ciononostante spesso i risultati terapeutici sono insoddisfacenti perché questi micobatteri sono sovente resistenti ai principali farmaci antitubercolari^{1,4}. I protocolli terapeutici recentemente applicati prevedono l'uso di due agenti antimicrobici iniziali a cui viene aggiunto un terzo farmaco solo in casi appropriati, per esempio con pazienti ad alto rischio (immunodepressi) e in quelli che tollerano gli effetti collaterali della terapia multifarmaco^{3,4}. Come farmaci di prima scelta si usano i macrolidi associati all'etambutolo; i farmaci che contribuiscono all'efficacia della terapia e che possono essere aggiunti sono: rifampicina, fluorochinoloni e aminoglicosidi^{2,3,4,6}, i cani infettati spesso rispondono poco alle terapie antimicrobiche^{8,14,15}, mentre nei gatti sono osservate risposte migliori^{16,17}.

Sarebbe utile basare la scelta dei farmaci da utilizzare sui risultati degli esami colturali eseguiti sui campioni biologici prelevati al soggetto infetto⁴, tuttavia per l'esito di tali esami sono necessarie svariate settimane (da due a dodici), tempo inaccettabile sia per la possibilità che si tratti di zoonosi, sia per l'aspettativa di vita dell'animale colpito.

Spesso per evitare il deterioramento delle condizioni cliniche del paziente sono necessarie alcune terapie di supporto: fluidoterapia, emotrasfusione e antidolorifici^{2,3,6}.

La chirurgia si utilizza per asportare i granulomi che formano masse localizzate, ma viene eseguita solo raramente perché non apporta un effettivo beneficio all'animale colpito da infezione da MAC^{1,2}.

Diversi esami collaterali sono necessari per raggiungere la diagnosi di infezione disseminata da MAC a causa dei sintomi che sono assolutamente aspecifici^{1,4,5}.

I principali esami ematici sono poco utili ai fini diagnostici, perché i risultati sono poco specifici^{1,2,4,6}. Si riscontrano anemia rigenerativa⁶ o non rigenerativa^{4,7}, sulle cui cause sono state proposte diverse ipotesi.

Per quanto riguarda le forme di anemia rigenerativa:

- anemia emolitica immunomediata secondaria all'infezione da micobatteri⁶
- sindrome emofagocitica⁶.

Per quanto riguarda l'anemia non rigenerativa:

- diffusione dei micobatteri nel midollo osseo con sua conseguente compromissione^{4,7}
- anemia secondaria alla flogosi⁶
- anemia per microemorragie croniche nell'apparato gastro-enterico⁶.

Spesso durante la lettura dello striscio di sangue si riscontrano globuli rossi nucleati, a causa della stimolazione del midollo osseo conseguente all'anemia oppure a causa del danno che la flogosi granulomatosa indotta dai micobatteri provoca ai sinusoidi endoteliali dello stesso midollo, danno che permette il rilascio prematuro dei precursori dei globuli rossi in circolo⁶.

La leucocitosi è un reperto altrettanto frequente nei soggetti infetti^{1,3,4,6,7}.

Per quanto riguarda le indagini biochimiche si riscontrano ipoalbuminemia e iperglobulinemia^{1,3,4,6,7}, raramente da modico fino ad elevato aumento della fosfatasi alcalina^{3,12,13} e della bilirubina totale^{4,12,13}. L'esame radiografico dell'addome e del torace può essere assolutamente normale^{4,7}, oppure può evidenziare radiopacità localizzate (granulomi) e aumento di volume dei linfonodi in addome e marcate radiodensità di tipo alveolare con associate aree di epatizzazione dell'intero parenchima polmonare^{1,4}.

L'ecografia può evidenziare le lesioni ai diversi organi e ai linfonodi, soprattutto in addome e risulta inoltre molto utile per la possibilità di eseguire dalle stesse lesioni prelievi per l'esame citologico⁴. L'esame endoscopico può essere utilizzato quale mezzo diagnostico nei pazienti colpiti da infezione disseminata che presentano frequentemente sintomi riferibili all'apparato gastroenterico. Questo strumento diagnostico permette la visualizzazione diretta degli organi colpiti e consente di eseguire il prelievo di campioni dei diversi tessuti per l'esecuzione dell'esame istologico⁴. Tuttavia le condizioni cliniche del paziente spesso instabili impediscono l'utilizzo di questa tecnica diagnostica, che per la sua esecuzione necessita di un'anestesia generale⁴. L'esame istopatologico è fondamentale per la diagnosi^{1,2,3,4,6,7}. Con la classica colorazione, ematossilina-eosina, si possono evidenziare le lesioni granulomatose, ma è la colorazione speciale di Ziehl-Neelsen che risulta decisiva per la diagnosi in quanto colora in modo specifico i piccoli bacilli alcool-acido

resistenti, evidenziando la loro presenza all'interno delle cellule istiocito-macrofagiche oppure liberi nelle aree necrotiche del granuloma^{2,3,4,7}.

Per una diagnosi rapida risulta molto utile l'esame citopatologico^{1,3,4,6}. Questo esame può essere eseguito su campioni provenienti dai linfonodi esplorabili, soprattutto se aumentati di volume^{3,6}, oppure sui campioni prelevati dagli organi o dai linfonodi addominali durante l'esame ecografico⁴, attraverso il brushing della mucosa rettale⁴ o ancora sui campioni di feci prodotte dall'animale malato⁴, va però sottolineato che l'esame citologico può solo identificare che si tratta di batteri alcool-acido resistenti, senza riuscire a distinguere accuratamente tra le diverse specie di micobatteri.

Tutti i campioni presentano una popolazione mista di cellule macrofagiche o epitelioidi contenenti, in negativo nel citoplasma, l'immagine di numerosi batteri bastoncellari^{2,3,4,6,7}, sono inoltre evidenti, anche se più rari, neutrofili e plasmacellule.

I batteri possono essere facilmente identificati come micobatteri utilizzando anche sui campioni preparati per l'esame citologico la colorazione speciale di Ziehl-Neelsen^{2,4,6}.

Per una definitiva diagnosi di specie si devono infine utilizzare metodiche batteriologiche e molecolari^{4,6}. Gli esami colturali oltre a permettere un'identificazione accurata dell'agente causale, consentono l'esecuzione dell'antibiogramma per identificare la sensibilità del MAC infettante verso i principali antibiotici ed individuare così il principio attivo più efficace⁴. I test sopra citati eseguiti sui campioni biologici, prelevati al nostro paziente mediante ago aspirato ecoguidato, hanno tipizzato il micobatterio causa dell'infezione come: MAC.

La necropsopia, vista la prognosi spesso infausta dell'infezione disseminata da MAC e il successivo esame istopatologico dei campioni prelevati durante l'esame autoptico, rappresentano un'ulterio-

re, definitiva, anche se ovviamente tardiva conferma diagnostica^{2,3,4,6,7}.

Da tutto ciò si può dunque dedurre che l'esame citologico, quando esiste un sospetto d'infezione da micobatteri, può permettere una diagnosi precoce e di conseguenza un più rapido approccio terapeutico⁴, con un possibile miglioramento della prognosi, che rimane comunque molto riservata.

Parole chiave

MAC, cane, citologia.

■ *Mycobacterium avium* complex infection in a dog

Summary

Mycobacterium avium complex (MAC) is a group of non tubercular, slow growing microorganisms, opportunistic and with different pathogenicity for human and animals. Dogs, and even more cats, are often resistant to MAC infection, but when they contract this infection, develop usually a focal disease, with gastroenteric, respiratory or skin lesions. Sometimes the MAC infection can also be disseminated with a poor prognosis.

In this paper we describe the case of a dog, examined for anorexia and weight loss, infected by MAC and finally dead. Among the numerous tests performed, the cytological evaluation had great utility to reach the diagnosis. This test is rapid and easy, it can be performed using Romanovsky stain and Ziehl-Neelsen stain, allowing a fast diagnosis, confirmed in a second time using culture exam and PCR, that guarantee precise and careful results, but need very long time for their execution.

Key words

MAC, dog, cytology.

BIBLIOGRAFIA

1. GE Green: Infectious Diseases of the Dog and the Cat, St. Louis, WB Saunders, 2006.
2. N Bauer, S Burkhardt, A Kirsch, R Weiss, et al.: Lymphadenopathy and diarrhea in a miniature schnauzer. *Vet Clin Pathol* 31(2): 61-64, 2002.
3. CC Shackelford, WM Reed: Disseminated *Mycobacterium Avium* in a dog. *J Vet Diagn Invest* 1: 273-275, 1989.
4. B Horn, D Forshaw, D Cousins, PJ Irwin: Disseminated *Mycobacterium Avium* infection in a dog with chronic diarrhoea. *Aust Vet Journal* 78(5):320-325, 2000.
5. CO Thoen: *Mycobacterium Avium* infections in animals. *Res Microbiology* 145(3): 173-177, 1994.
6. D O'Toole, S Sharp, BV Thomsen, E Tan, et al.: Fatal mycobacteriosis with hepatosplenomegaly in a young dog due to *Mycobacterium avium*. *J Vet Diagn Invest* 17: 200-204, 2005.
7. PR Beaumont, PF Jezyk, ME Haskins: *Mycobacterium avium* infection in a dog. *J Small Anim Practice* 22: 91-97, 1981.
8. JS Eggers, GA Parker, HA Braff, MG Mense: Disseminated *Mycobacterium Avium* infection in three miniature schnauzer litter mates. *J Vet Diagn Invest* 9: 424-427, 1997.
9. JL Carpenter, AM Myers, MW Conner, et al.: Tuberculosis in five Basset Hounds. *J Am Vet Assoc* 192: 1563-1568, 1988.
10. Legrand E, Sola C, Rastogi N: *Mycobacterium Avium*-Intracellular Complex: Phenotypic and Genotypic Markers and the Molecular Basis for the Interspecies Transmission. *Bull Soc Pathos Exot* 93(3):182-192, 2000.
11. DPR n. 320, Regolamento di Polizia Veterinaria, titolo II, capo XI, art. 102-104. Gazzetta ufficiale 8 febbraio 1954.
12. Naughton JF, Mealey KL, Wardrop KJ, et al.: Systemic *Mycobacterium Avium* Infection in a Dog Diagnosed by Polymerase Chain Reaction Analysis of Buffy Coat. *J Am Anim Hosp Assoc* 41(2): 128-132, 2005.
13. Gow AG, Gow DJ: Disseminated *Mycobacterium Avium* Complex Infection in a Dog. *Vet Rec* 162(18): 594-95, 2008.
14. Kim DY, Cho DY, Newton JC et al.: Granulomatous Myelitis due to *Mycobacterium Avium* in a Dog. *Vet Pathol* 31(4): 491-93, 1994.
15. Miller MA, Green CE, Brix AE: Disseminated *Mycobacterium Avium*-Intracellular Complex Infection in a Miniature Schnauzer. *J Am An Hosp Assoc* 31(3): 213-16, 1995.
16. Baral RM, Metcalfe SS, Krockenberger MB et al.: Disseminated *Mycobacterium Avium* Infection in Young Cats: Overrepresentation of Abyssinian Cats. *J Feline Med Surg* 8(1): 23-44, 2006.
17. Sieber-Ruckstuhl NS, Sessions JK, Sanchez S et al.: Long-Term Cure of Disseminated *Mycobacterium Avium* Infection in a Cat. *Vet Rec* 160(4): 131-2, 2007.