

Patologia clinica dei rettili



Giordano Nardini*,
Med Vet, PhD,
DiplECZM(Herp)¹



Nicola Di Girolamo,
Med Vet,
GPCert(ExAP),
MSc(EBHC), PhD,
DiplECZM(Herp)^{2,3}

La patologia clinica è fondamentale nei rettili così come nelle altre specie, tuttavia la maggior parte delle tecniche sono estrapolate dalla medicina dei piccoli mammiferi e pertanto presentano dei limiti. I risultati delle analisi dovrebbero essere considerati in combinazione con i sintomi clinici e gli esiti di altre indagini diagnostiche, invece che come risposta definitiva sulla condizione del paziente rettile. La preparazione di strisci ematici è necessaria per la valutazione della morfologia cellulare, per eseguire una conta differenziale dei leucociti e per la ricerca di emoparassiti. Nei rettili, i valori biochimici in base alla stagione e al sesso.

Nell'ultimo decennio sono stati eseguiti considerevoli sforzi di ricerca nell'ambito della patologia clinica dei rettili e questo ha portato ad un maggior numero di specie per le quali sono oggi pubblicati gli intervalli di riferimento per l'ematologia e la biochimica. I valori ottenuti si riferiscono a studi condotti su popolazioni di individui presunti sani. I limiti superiore e inferiore degli intervalli di riferimento sarebbero più attendibili in termini di sensibilità e specificità se fossero estrapolati da lavori che includessero anche individui con la patologia che vogliamo diagnosticare.¹ Attualmente non è clinicamente sbagliato quindi considerare gli intervalli di riferimento come una guida piuttosto che come valori "assoluti". Un altro aspetto fondamentale da considerare, sempre quando si valutano analisi emato-biochimiche dei rettili, è che ci sono spesso grandi variazioni dovute a vari fattori, tra cui la stagionalità, il sesso degli individui, le modalità ed il sito di prelievo, nonché il metodo di analisi e conservazione dei campioni.²⁻⁴ I risultati degli esami ottenuti devono essere considerati in combinazione a sintomi clinici ed esiti di ulteriori indagini diagnostiche.

¹Clinica Veterinaria Modena Sud, Piazza dei Tintori, 1, 41057 Spilamberto, Italy.

²Tai Wai Small Animal and Exotic Hospital, 69-75 Chik Shun Street, Sha Tin, Hong Kong,

³EBMVet, Via Sigismondo Trecchi 20, 26100, Cremona, Italy,

*Corresponding Author
giordano.nardini@gmail.com

EMATOLOGIA

Conta delle cellule ematiche

Un esame ematologico di base può essere eseguito anche su rettili di dimensioni minime essendo necessarie solo poche gocce di sangue. L'ematocrito (PCV) può essere determinato tramite microematocrito, mentre la conta leucocitaria totale e differenziale, nonché la valutazione

Purtroppo, la sensibilità e la specificità dei limiti superiore e inferiore degli intervalli di riferimento, utili per la diagnosi di specifiche malattie, sono spesso sconosciute nei rettili.

della morfologia delle cellule del sangue, devono essere eseguiti su uno striscio ematico. L'ematocrito nei rettili viene solitamente determinato su campioni di sangue raccolti in provette di litio-eparina poiché altri anticoagulanti (ad esempio, citrato di sodio e K3-EDTA) possono causare emolisi.^{5,6} Ci sono varie metodiche per ottenere una conta stimata dei globuli bianchi. Il metodo più spesso usato nella pratica clinica consiste nel calcolo della media dei leucociti per campo in almeno 10 campi (misurati a 400x) per poi moltiplicare il valore per 150-200.⁷ Essendo questo un metodo stimato va tenuto in considerazione un errore intrinseco a causa della distribuzione non uniforme delle cellule sullo striscio.

Striscio ematico

Gli strisci ematici sono necessari per la valutazione della morfologia cellulare, possono essere impiegati per la conta leucocitaria differenziale e permettono il rilevamento di emoparassiti. Idealmente, gli strisci ematici dovrebbero essere realizzati immediatamente dopo il prelievo senza l'utilizzo di anticoagulanti. L'utilizzo di campioni anticoagulati con eparina non è ideale perché l'eparina provoca un colore artefattuale viola-bluaceo sullo striscio e interferisce con interpretazioni morfologiche e quantitative dei trombociti a causa della formazione di aggregati trombocitari.⁸ L'obiettivo della preparazione di uno striscio ematico è quello di creare un monostrato cellulare che abbia una distribuzione omogenea in tutte le sue porzioni, al fine di riflettere la reale concentrazione cellulare nel rettile. Il metodo dello scivolamento del bordo del vetrino su un vetrino portaoggetti è impiegato comunemente anche nei rettili. Si deposita una piccola goccia di sangue ad una delle estremità del vetrino, si avvicina un secondo vetrino alla goccia, con angolazione di 30-40 gradi facendo delicatamente aderire la goccia per capillarità su tutta la lunghezza del margine del vetrino. Con un movimento rapido e controllato si fa scivolare il vetrino e si realizza lo striscio. Questo metodo fornisce un'area sufficientemente grande con globuli rossi che si sfiorano (monostrato).⁸ Cellule di elevate dimensioni, come i monociti e gli eterofili sono spesso concentrati al margine dello striscio, rendendo importante la valutazione dei bordi.^{8,9} Una volta asciugati all'aria i vetrini, si possono impiegare una serie di colorazioni differenti. A seconda della specie, le colorazioni Wright-Giemsa, Wright o May Grünwald-Giemsa possono essere preferibili alla Diff-Quick per la visualizzazione e differenziazione dei leucociti.^{1,5,10}

Valutazione dei globuli rossi

Gli eritrociti dei rettili sono ellissoidali con nuclei permanenti. La loro dimensione varia in lunghezza da 14 a 23 micrometri e in larghezza da 8 a 14 micrometri e può adattarsi all'ambiente esterno (per esempio alle latitudini).¹¹ Sono attesi eritrociti di dimensioni maggiori in specie che vivono in climi più rigidi, o incubati a temperature inferiori.¹¹ Il nucleo è centrale, di forma ovale o rotondeggiante, e contiene una densa cromatina violacea. Il citoplasma può contenere inclusioni basofile rotondeggianti. Queste inclusioni possono essere un artefatto causato dalla preparazione dello striscio, o possono essere delle inclusioni patologiche, come in corso di malattia dei corpi inclusi nei boidi e in corso di infezione da iridovirus in draghi barbuti.¹² La loro funzione è simile a quella nei mammiferi, cioè di trasportare ossigeno ai tessuti e di rimuovere anidride carbonica. La durata media degli eritrociti nei rettili è molto superio-

re a quella di mammiferi e uccelli, potendo superare anche i 500 giorni.¹³ Il valore ematocrito nei rettili è variabile a seconda della specie ed è generalmente inferiore rispetto a quello dei mammiferi.

Gli eritrociti immaturi nei rettili sono rotondi, hanno un nucleo più grande e policromatofilo quando colorato con colorazione di Romanowsky (Figura 1). Hanno inoltre un anello distinto di reticolo aggregato attorno al nucleo. Attualmente non si conosce il normale numero di eritrociti immaturi che ci dovremmo aspettare in ogni specie di rettili, ma in generale valori intorno al 2-5% sul totale dei globuli rossi sono considerati normali.^{14,15} Gli eritrociti vecchi presentano un citoplasma rigonfio e nuclei con cromatina scura ben evidente.¹⁶ Sono normalmente rinvenibili, in un piccolo numero, degli eritrociti anucleati (eritroplastidi) in animali clinicamente sani.

Al fine di effettuare una valutazione completa dello stato leucocitario di un rettile è necessaria una conta totale dei leucociti, una conta differenziale e una valutazione morfologica degli stessi.

Valutazione dei leucociti

Al fine di effettuare una valutazione completa dello stato leucocitario di un rettile, è necessaria una conta totale dei leucociti, una conta differenziale e una valutazione morfologica degli stessi (Figura 2).

Eterofili

Gli eterofili sono i granulociti più comuni in molte specie e sono analoghi ai neutrofili nei mammiferi. In cheloni e serpenti, hanno un nucleo periferico rotondeggiante od ovale caratterizzato da aggregati di cromatina blu-stra. Nei sauri, il nucleo è generalmente plurilobato (Fi-

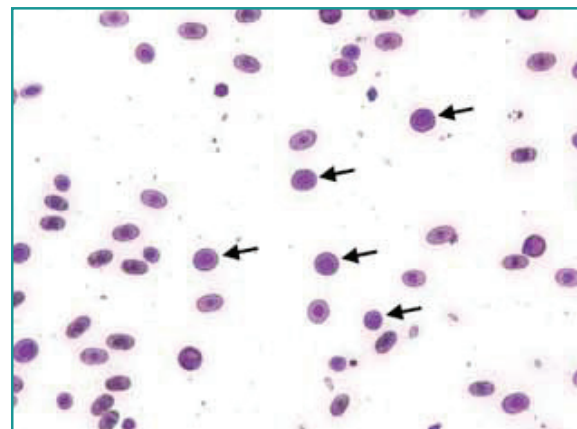


Figura 1 - Differenti stati di maturazione degli eritrociti in una tartaruga dalle orecchie rosse (*Trachemys scripta elegans*) con importante rigenerazione. Le frecce indicano reticolociti.

gure 3, 4). Il citoplasma contiene un numero variabile di granuli ovali, fusiformi che possono essere trasparenti, eosinofili o arancio acceso a seconda della colorazione.^{1,16-18}

La dimensione degli eterofili varia a seconda della specie e del singolo individuo ma è generalmente inferiore rispetto a quella degli eritrociti. Gli eterofili tossici possono essere osservati come risposta sistemica ad una infiammazione o alla presenza di un agente infettivo. Sono tipicamente di dimensione maggiore rispetto agli eterofili normali, con una forma del nucleo alterata, e con un aumento della basofilia del citoplasma con presenza di vacuoli e granuli tossici fortemente basofili (Figura 5).

Basofili

I basofili sono caratterizzati da granuli grandi e rotondeggianti, estremamente cromofili che spesso oscurano il nucleo.^{1,16} I granuli possono apparire blu scuro o violacei con i coloranti più comuni. Quando visibile, il nucleo è leggermente eccentrico e rotondeggiante. In alcune specie i basofili sono ovali.¹⁶

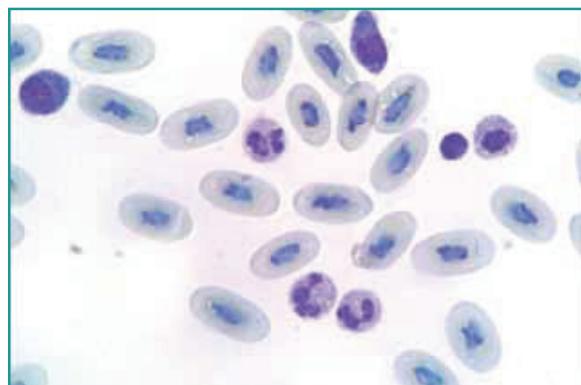


Figura 2 - Popolazione leucocitaria in un camaleonte velato (*Chamaeleo calytratus*).

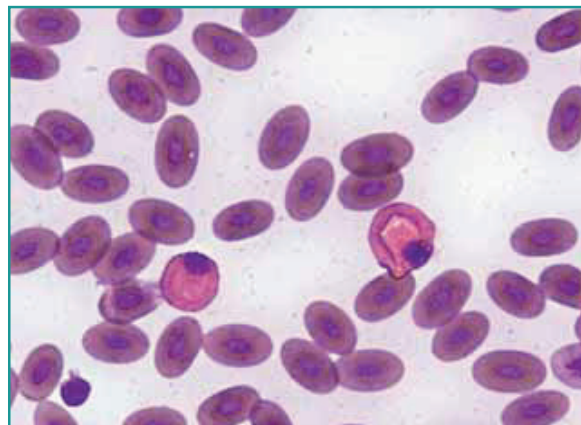


Figura 3 - Eterofilo in una tartaruga dalle orecchie rosse (*Trachemys scripta elegans*).

Eosinofili

Gli eosinofili hanno un nucleo violaceo eccentrico e granuli citoplasmatici cromofili, più scuri e più rotondeggianti degli eterofili.¹⁶ In alcune specie (per esempio le iguane verdi ed i tegu) i granuli assumono un colore verde-bluastro con colorazione di Romanowsky.¹⁸ In alcune specie, particolarmente in serpenti, non sono stati riscontrati eosinofili durante studi ematologici su piccole popolazioni.^{19,20}

Monociti ed azzurrofilii

Attualmente ci sono ancora molte incertezze relativamente alla differenziazione di monociti ed azzurrofilii ed al loro ruolo nei vari taxa di rettili. I monociti hanno dimensione variabile. Tendono ad essere i più grandi leucociti, ma possono essere circa la metà degli eritrociti.¹⁸ Il loro nucleo ha forma variabile, spesso ovale o a for-

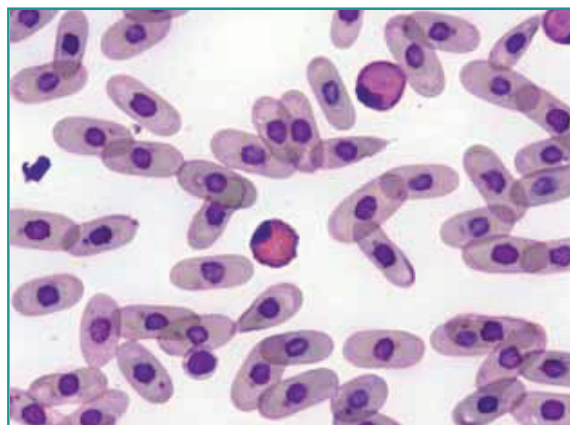


Figura 4 - Eterofili in un serpente del grano (*Pantherophis guttatus*).

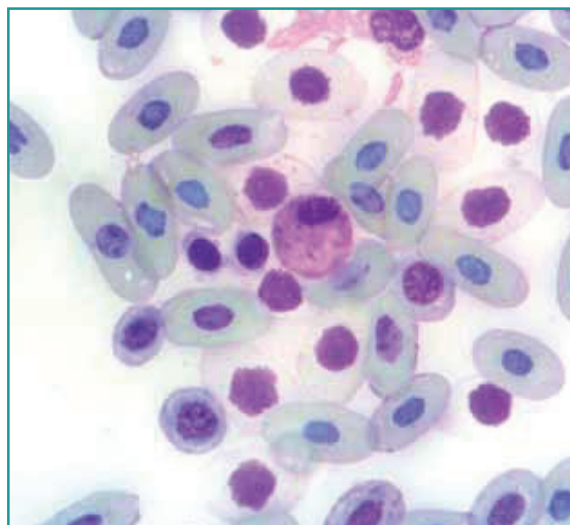


Figura 5 - Eterofilo tossico in una tartaruga dalle orecchie rosse (*Trachemys scripta elegans*). Notare i granuli intensamente basofili.

ma di fagiolo.^{18,19} Una delle ipotesi più plausibili attualmente riguardo agli azzurrofilici è che siano un tipo di cellule con funzioni simili ai neutrofilici, tipiche dei serpenti, ma possano essere rinvenute in altre specie di rettili. Quando colorati con Wright-Giemsa, gli azzurrofilici sono identificabili per il citoplasma blaugastro e i granuli citoplasmatici rosati/violacei (azzurrofilici). Il nucleo è rosa scuro con una densa cromatina.^{17,19,20}

Linfociti

I linfociti sono i globuli bianchi più comuni in molte specie di rettili.^{17,18,21} Sono caratterizzati da un sottile margine di citoplasma trasparente moderatamente o debolmente basofilo ed un nucleo circolare, compatto, contenente cromatina addensata (Figura 6).^{1,16} La loro dimensione varia notevolmente a seconda del momento funzionale. I linfociti immaturi hanno un nucleo con cromatina violacea e un citoplasma intensamente basofilo. Linfociti reattivi, come conseguenza ad uno stimolo antigenico, presentano nucleoli evidenti e proiezioni citoplasmatiche. Talvolta, i linfociti reattivi possono esibire differenziazioni plasmocitoidi, con nucleo eccentrico ed abbondante citoplasma intensamente colorato. In questi linfociti, può essere evidente l'apparato di Golgi come una zona debolmente colorata nell'area in cui il citoplasma fortemente basofilo è più esteso. Sono occasionalmente riportate nei rettili forme di leucemia linfocitica,²² caratterizzate da una marcata linfocitosi. Tuttavia, quando si osserva un campione con una marcata linfocitosi, è corretto ripetere il campionamento per assicurarsi che non si tratti di un prelievo inavvertitamente linfodiluito.

Durante l'interpretazione dello striscio ematico bisogna porre particolare attenzione poiché se i trombociti perdono il loro tipico aspetto ellittico, possono essere scambiati per piccoli linfociti.

Trombociti

I trombociti dei rettili ricoprono un ruolo chiave nella formazione del trombo in maniera simile ai trombociti nelle specie aviarie e alle piastrine nei mammiferi. Possono essere presenti in grande numero negli strisci ematici (anche 3-6 trombociti per campo microscopico a un ingrandimento 100x), ma possono formare degli aggregati che ne rendono difficile la valutazione.¹ Sono facilmente riconoscibili, essendo di dimensione ridotta rispetto agli eritrociti, con una forma ellittica o fusiforme ed un piccolo nucleo rotondeggiante centrale con cromatina violacea.¹⁶ Il citoplasma, trasparente o blu chiaro, può contenere vacuoli o granuli azzurrofilici. Durante l'interpretazione dello striscio ematico bisogna porre particolare

attenzione poiché se i trombociti perdono il loro tipico aspetto ellittico, possono essere confusi con piccoli linfociti, e viceversa.

Emoparassiti

Gli emoparassiti (intracellulari ed extracellulari) non sono comuni nei rettili riprodotti in cattività ma, a seconda degli studi, possono essere rinvenuti anche in un terzo dei rettili importati o di cattura.²³ Sono state trovate numerose specie di emoparassiti in rettili clinicamente sani. Questo ha portato a considerare molte specie di emoparassiti non-patogene o con una patogenicità comunque limitata. Ciononostante la presenza di emoparassiti può accelerare la distruzione degli eritrociti.²⁴ Per questo motivo è fondamentale valutare criticamente la presenza di emoparassiti in ogni paziente rettile, caso per caso. I fattori da considerare nella valutazione clinica includono: (1) la specie di emoparassita, (2) l'aspetto quantitativo dell'infestazione, (3) la presenza di anemia, (4) l'evidenza di emolisi intravascolare. Gli emoparassiti più comunemente rinvenuti nei rettili sono le emogregarine (Hepatozoidae, Haemogregarinidae e Karyolysidae), le specie del genere *Plasmodium*, *Sauroplasma* e *Trypanosoma* e i nematodi.^{23,25}

BIOCHIMICA CLINICA

Proteine

La valutazione delle concentrazioni delle proteine plasmatiche è indicata nella maggior parte dei rettili malati, specialmente in quelli con perdita di peso, diarrea, anemia, edema, ascite, trauma e patologie epatiche o renali. È fondamentale che la valutazione delle proteine sia sempre eseguita mediante elettroforesi, poiché diversi studi hanno dimostrato che la misurazione con analizzatori biochimici di impiego comune risulta in valori inaccurati.^{26,27} Nello specifico, i metodi che impiegano il verde di bromocresolo tendono a sovrastimare la concentrazione di albumina plasmatica, probabilmente per un'interazione aspecifica con altre proteine plasmatiche.²⁶ Variazioni fisiologiche e stagionali nelle concentrazioni

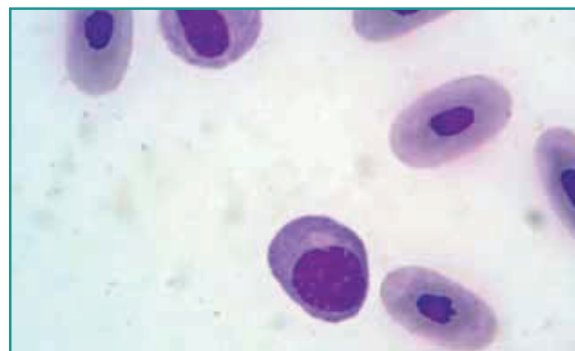


Figura 6 - Linfocita in un drago barbuto (*Pogona vitticeps*).

plasmatiche di albumina e proteine totali sono comuni nei rettili.³⁴ Tipicamente le femmine presentano un marcato aumento nella concentrazione di proteine plasmatiche durante la fase di follicologenesi.

In generale, valori di proteine totali tra 3 e 7 g/dL sono considerati normali nella maggior parte dei rettili.²⁸ In caso di iperproteidemia si deve escludere la disidratazione (che risulterebbe in iperalbuminemia), o patologie infiammatorie croniche (che risulterebbero in iperglobulinemia). L'ipoproteidemia è solitamente dovuta ad una ipoalbuminemia, come conseguenza di malnutrizione cronica, parassitismo del tratto gastroenterico, malassorbimento e patologie renali o epatiche croniche.²⁸

È fondamentale che la valutazione delle proteine sia sempre eseguita mediante elettroforesi, poiché diversi studi hanno dimostrato che la misurazione con analizzatori biochimici di impiego comune risulta in valori inaccurati.

Fibrinogeno e amiloide sierica A

Attualmente non è stata svolta adeguata ricerca relativamente alle proteine di fase acuta nei rettili, nonostante il loro impiego sia in costante sviluppo nei mammiferi. La ricerca nei rettili si è soprattutto concentrata sul fibrinogeno e sull'amiloide sierica A.^{29,30} Il fibrinogeno nei mammiferi aumenta in risposta a stati infiammatori, ma ad un livello inferiore rispetto alle altre proteine di fase acuta, quali la proteina C reattiva e l'amiloide sierica A. Nei rettili, uno studio ha valutato le concentrazioni di fibrinogeno in tartarughe dalle orecchie rosse (*Trachemys scripta elegans*) con infezione da ranavirus o altre patologie.²⁹ Nello studio non si osservavano aumenti statisticamente o clinicamente significativi comparando animali sani ed animali infetti.²⁹ Gli autori riscontravano però una variazione nella distribuzione delle concentrazioni di fibrinogeno a seconda del sesso, indicando la necessità di valori di riferimento specifici per individui di sesso maschile e femminile.²⁹ In uno studio di campionamento e raccolta di valori biochimici in cobra, le concentrazioni di fibrinogeno erano inferiori in cobra positivi per *Hepatozoon* rispetto a quelli negativi.¹⁷ Di conseguenza, basandosi su questi studi, non è chiaro se le concentrazioni di fibrinogeno siano un marker clinicamente utile per valutare stati infiammatori/infettivi nei rettili. Diversamente, le concentrazioni di amiloide sierica A, possono essere un marker clinicamente utile per la presenza di infiammazione o infezione batterica. In uno studio, veniva sperimentalmente indotta l'infezione da *Aeromonas hydrophila* in tartarughe cinesi dal guscio molle (*Trionyx sinensis*).³⁰ Si osservava un aumento si-

gnificativo nella trascrizione di mRNA di amiloide sierica A nel fegato delle tartarughe dalle 8 alle 48 ore dopo l'infezione.³⁰ Studi su popolazioni cliniche sono necessari per una più conclusiva valutazione di questo parametro nei rettili.

Parametri di funzionalità renale

Acido urico, urea e creatinina

La maggior parte delle specie di rettili sono uricoteliche, e cioè eliminano acido urico come prodotto finale del catabolismo proteico. Alcune specie altamente adattate all'ambiente acquatico sono ureoteliche, eliminando principalmente urea.³¹ Di conseguenza, la concentrazione sierica di acido urico è considerata un indicatore della funzionalità renale in molte specie di rettili, mentre le concentrazioni di urea e di creatinina sono considerate non attendibili. Ciononostante in uno studio retrospettivo che includeva iguane verdi (*Iguana iguana*) con varie forme di patologie renali, non solo l'acido urico, ma anche la creatinina erano aumentati rispetto ad individui sani.³²

L'iperuricemia è un riscontro tipico durante patologie renali, disidratazione o gotta e può essere di origine nutrizionale, associata a diete iperproteiche.³³ Anche variazioni fisiologiche stagionali devono essere prese in considerazione.¹ Per una valutazione più conclusiva dal punto di vista laboratoristico della funzionalità renale dei rettili, si può valutare il tasso di filtrazione glomerulare di ioexolo, metodica che attualmente non ha largo impiego clinico.³⁴

Un esempio della straordinaria adattabilità fisiologica dei rettili è la natrice tassellata (*Natrix tessellata*), che può arrivare a presentare valori di sodio di 195.5 mmol/l senza alterazioni cliniche.

Elettroliti

Calcio e fosforo

Le variazioni del calcio sono estremamente comuni in rettili in cattività. Rettili di sesso femminile hanno concentrazioni di calcio e di fosforo generalmente superiori ai maschi, per completare la vitellogenesi, la produzione di tuorlo e la formazione del guscio calcareo delle uova.³ L'ipocalcemia può indicare delle deficienze nutrizionali ed è particolarmente comune in specie di rettili erbivore o onnivore. Le concentrazioni di calcio e di fosforo sono impiegate insieme all'acido urico per supportare una diagnosi di insufficienza renale cronica, che risulta tipicamente in ipocalcemia ed iperfosfatemica.^{32,35} L'ipofosfatemica è un reperto di dubbio interesse

clinico e può essere rinvenuto in caso di deficienze nutrizionali o anoressia. La valutazione della forma fisiologicamente attiva del calcio, il calcio ionico, è considerata più accurata della valutazione del calcio totale.³⁶ Questo è particolarmente importante nei rettili poiché le formule che determinano il calcio ionico originando dal calcio totale sono inaffidabili.³⁷ La misurazione del calcio ionico può essere influenzata da numerose variabili post-campionamento (come l'esposizione all'ossigeno ambientale) ed è particolarmente indicato l'utilizzo di strumentazioni point-of-care per la misurazione di questo parametro.

Sodio, cloro, potassio

Il reale valore clinico di sodio, cloro e potassio deve ancora essere dimostrato nei rettili ed è limitato dalla straordinaria adattabilità fisiologica di questi animali. Un esempio della straordinaria adattabilità è la natrice tassellata (*Natrix tessellata*). Questi serpenti possono mostrare una marcata ipernatremia (fino a 195,5 mmol/L, non compatibile con la vita in molte specie di mammiferi) senza effetti evidenti su fattori fisiologici o biologici (quali l'ematocrito, la capacità di alimentarsi, ecc).³⁸ Storicamente l'ipernatremia nei rettili è stata considerata un indicatore di disidratazione, mentre l'iponatremia un indicatore di perdita eccessiva di sodio come conseguenza di patologie gastrointestinali o renali.²⁸ Errori post-campionamento possono anche essere responsabili di anomalie in questi elettroliti. In particolare, il sodio può essere falsamente diminuito quando il campione non viene analizzato rapidamente.³⁹ In generale, valori considerati normali di sodio nei rettili sono compresi tra 120 e 170 mEq/L.²⁸

Le concentrazioni di cloro nei rettili variano tra i 100 e i 130 mEq/L.²⁸ L'ipocloremia è rara nei rettili, mentre l'ipercloremia è associata alla disidratazione e possibilmente a patologie tubulari renali o delle ghiandole del sale (nelle specie che ne sono provviste). Le concentrazioni di potassio sono comprese tra 2 e 5 mEq/L.²⁸ Il potassio può risultare falsamente aumentato da errori del campionamento, incluso l'utilizzo di anticoagulanti diversi dall'eparina e il mantenimento per tempi troppo lunghi o a temperature non idonee.^{6,18} Idealmente i campioni ematici dovrebbero essere separati ed analizzati quanto prima per avere una valutazione attendibile del potassio. L'iperkalemia può essere conseguente alla diminuzione dell'escrezione del potassio tramite l'apparato urinario, l'eccessivo apporto nutrizionale o grave acidosi. L'ipokalemia può essere conseguente a deficienze nutrizionali, perdita gastrointestinale di potassio o grave alcalosi.²⁸

Nei rettili la determinazione di questi elettroliti può considerarsi più utile clinicamente per formulare una prognosi che per formulare una diagnosi. Per esempio, in

uno studio su tartarughe marine spiaggiate, elevate concentrazioni plasmatiche di sodio, cloro, potassio, calcio e fosforo erano associate ad una minore probabilità di sopravvivenza.⁴⁰

Enzimi epatici/muscolari

Alanina aminotransferasi, aspartato aminotransferasi, fosfatasi alcalina e lattato deidrogenasi

Diversamente dai mammiferi, aumenti nella attività enzimatica di alanina aminotransferasi (ALT), aspartato aminotransferasi (AST), fosfatasi alcalina (ALP) e lattato deidrogenasi (LDH) non sono specifiche o sensibili per diagnosticare patologie epatiche in rettili.^{41,42} L'attività della ALT è maggiore in fegato, reni e muscolo cardiaco, ma è presente in molti tessuti.^{41,43} Nonostante siano riportati aumenti di ALT in corso di necrosi epatocellulare,⁴⁴ in iguana con insufficienza epatica acuta non si sono riscontrati aumenti di questo enzima.⁴⁵

Aumenti nelle attività plasmatiche di LDH e AST non sono specifiche per patologie epatiche, poiché le loro attività sono maggiori in muscolo scheletrico e cardiaco e presenti in vari altri tessuti.⁴³ Aumenti di ALP nei rettili, piuttosto che in patologie epatobiliari sono stati associati ad iperparatiroidismo e patologie ossee, come in corso della malattia di Paget.⁴⁶ Come evidenziato da questa revisione, attualmente le metodiche per la valutazione dei sistemi epatico e renale nei rettili sono piuttosto limitate.

Aumenti nella attività ematica di ALT, AST, ALP e LDH non sono specifiche o sensibili per diagnosticare patologie epatiche in rettili.

Creatinchinasi

La creatinchinasi (CK) ha principalmente attività nel muscolo cardiaco e scheletrico nell'iguana,⁴⁷ mentre nelle tartarughe ha anche una moderata attività nel sistema nervoso centrale e gastrointestinale,⁴¹ e nei serpenti nei reni.⁴⁸ Valori elevati di creatinchinasi di conseguenza non indicano sempre una patologia muscolare.⁴⁷

Gamma-glutamiltanspeptidasi

La gamma-glutamiltanspeptidasi (GGT) è di dubbia utilità clinica nei serpenti perché ha un'attività minima nella maggior parte dei tessuti.^{47,48} La GGT ha una certa attività nei reni dei cheloni,^{41,43} ma non è chiaro se vi siano aumenti durante patologie renali, poiché potrebbe essere eliminata nelle urine e non nel circolo sanguigno.²⁸

Acidi biliari

Gli acidi biliari sono probabilmente l'indicatore di fun-

zionalità epatica attualmente più affidabile ed è stato dimostrato un loro aumento temporaneo in seguito a danno epatico acuto.⁴⁵ Il digiuno dovrebbe essere considerato prima di eseguire questa analisi in alcune specie. Infatti le concentrazioni di acidi biliari a digiuno sono significativamente inferiori rispetto alle concentrazioni postprandiali nell'iguana verde (*Iguana iguana*) ma non nelle tartarughe dalle orecchie rosse (*Trachemys scripta elegans*).^{49,50}

Colesterolo e trigliceridi

Il colesterolo e i trigliceridi sono sintetizzati a livello epatico e un calo di questi livelli lipidici può verificarsi in corso di insufficienza epatica.⁵¹ Ciononostante, le concentrazioni plasmatiche di colesterolo e trigliceridi nei rettili possono anche variare come conseguenza di patologie non-epatiche, stagione e sesso.^{3,28} L'ipercolesterolemia è stata messa in relazione con lo sviluppo di xantomatosi in mammiferi,^{52,53} ma nei rettili questa associazione non è stata osservata.⁵⁴

Enzimi pancreatici

Amilasi e Lipasi

Nei rettili, amilasi e lipasi sono probabilmente gli enzimi con la più alta affinità per un singolo tessuto, essendo rinvenuta la loro attività solamente in campioni pancreatici.^{41,43,47} Ciononostante l'ampio range di normalità dell'amilasi ne limita la sua utilità diagnostica.⁴⁷ Ulteriori studi su amilasi e lipasi che includano rettili con pancreatite sono necessari per valutare la reale accuratezza diagnostica di questi enzimi.

Glucosio

Le concentrazioni plasmatiche di glucosio nei rettili sono generalmente comprese tra 60 e 100 mg/dL (da 3,33 a

5,55 mmol/L).²⁸ Le concentrazioni di glucosio in un campione di sangue intero diminuiscono drasticamente a seconda del tempo di stoccaggio ed è quindi indicata una analisi immediata o la separazione del plasma/siero.⁶ L'ipoglicemia può riscontrarsi in corso di patologie epatobiliari, setticemia e neoplasie delle cellule insula-

L'iperglicemia è un rinvenimento piuttosto comune ed aspecifico nei rettili e per confermare che sia un reperto patologico, si deve confermare la persistenza nel tempo dell'iperglicemia mediante prelievi multipli.

ri pancreatiche.⁵⁵ Storicamente si considerava che l'ipoglicemia si osservasse in corso di grave inedia, ma in una testuggine rimasta intrappolata per diversi mesi senza cibo o acqua aveva concentrazioni di glucosio normali (70 mg/dL).⁵⁶ Questo caso clinico suggerisce che, visti i peculiari adattamenti fisiologici dei rettili, il catabolismo proteico potrebbe essere sufficiente a mantenere le concentrazioni plasmatiche di glucosio in range fisiologici anche in assenza di cibo per periodi prolungati.

L'iperglicemia è un rinvenimento piuttosto comune ed aspecifico nei rettili. Aumenti in glucosio para-fisiologici sono normali in estate.³ L'iperglicemia è comunemente una sequela di stress o di vari disordini sistemici. Per confermare che sia un reperto patologico, si deve confermare la persistenza nel tempo dell'iperglicemia mediante prelievi multipli. Iperglicemia persistente si è osservata in corso di diabete e pancreatite in tartarughe, in corso di carcinomi gastrici neuroendocrini secernenti somatostatina in draghi barbuti e in corso di adenocarcinoma renale in un drago d'acqua cinese.⁵⁷⁻⁶⁰

- Fino a quando non saranno presenti nella letteratura studi che comprendano sia rettili sani che malati, gli intervalli di riferimento dovranno essere considerati come una guida di riferimento.
- Aumenti di albumina, fosforo, e calcio totale e ionico sono tipici delle fasi di vitellogenesi.
- Il reale valore clinico di sodio, cloro e potassio deve ancora essere dimostrato nei rettili ed è limitato dalla straordinaria adattabilità fisiologica di questi animali.
- La valutazione della forma fisiologicamente attiva del calcio, il calcio ionico, è considerata più accurata della valutazione del calcio totale.
- Iperglicemia persistente si è osservata in corso di diabete e pancreatite in tartarughe, in corso di carcinomi gastrici neuroendocrini secernenti somatostatina in draghi barbuti e in corso di adenocarcinoma renale in un drago d'acqua cinese.

Reptile Clinical Pathology

Summary

Clinical pathology, is fundamental in reptiles as in other species. However, most clinical pathology techniques are extrapolated from small mammal medicine, and are therefore limited in reptiles. The results of the analysis should be considered in combination with clinical symptoms and results of ancillary diagnostic techniques, instead that as a definitive response on the condition of the reptile patient. Blood smears are required for evaluation of cell morphology, differential leukocyte count and detection of blood parasites. Seasonal and sexual variations in biochemical values need to be expected in reptiles.

BIBLIOGRAFIA

1. Marshall WJ, Bangert SK. Clinical Chemistry. 6th edn. Mosby Elsevier, 2008; Oxford, UK.
2. Musilová A, Knotková Z, Pinterová K, et al. Variations of plasma protein electrophoresis in healthy captive Green Iguanas (*Iguana iguana*). *Veterinary Clinical Pathology* 44:243-8, 2015.
3. Andreani G, Carpenè E, Cannavacciuolo A, et al. Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). *Veterinary Clinical Pathology* 43:573-83, 2014.
4. Scope A, Schwendenwein I, Schaubberger G. Characterization and quantification of the influence of season and gender on plasma chemistries of Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*, Gmelin 1789). *Research in Veterinary Science* 95:59-68, 2013.
5. Muro J, Cuenca R, Pastor J, Vinas L, Lavin S. Effects of lithium heparin and tripotassium EDTA on hematologic values of Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 29:40-4, 1998.
6. Harr KE, Raskin RE, Heard DJ. Temporal effects of 3 commonly used anticoagulants on hematologic and biochemical variables in blood samples from macaws and Burmese pythons. *Veterinary Clinical Pathology* 34:383-8, 2005.
7. Sykes JM 4th, Klaphake E. Reptile hematology. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 18:63-82, 2015.
8. Houwen B. Blood film preparation and staining procedures. *Clinics in Laboratory Medicine* 22:1-7, 2002.
9. Nardini G, Leopardi S, Bielli M. Clinical hematology in reptilian species. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 16:1-30, 2013.
10. Chansue N, Sailasuta A, Tangtrongpiros J, et al. Hematology and clinical chemistry of adult yellow-headed temple turtles (*Hieremys annandalii*) in Thailand. *Veterinary Clinical Pathology* 40:174-84, 2011.
11. Goodman RM, Heah TP. Temperature-induced plasticity in an ectotherm: the 'temperature size rule' examined at cellular and organismal levels. *Integrative Zoology* 5:208-17, 2010.
12. Grosset C, Wellehan JF Jr, Owens SD, McGraw S, Gaffney PM, Foley J, Childress AL, Yun S, Malm K, Groff JM, Paul-Murphy J, Weber ES 3rd. Iridovirus in central bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 26:354-364, 2014.
13. Brace KC, Altland PD. Red cell survival in the turtle. *American Journal of Physiology* 183:91-4, 1955.
14. Campbell TW. Clinical pathology of reptiles. In: Mader DR, editor. *Reptile medicine and surgery*. 2nd edition. St Louis (MO): Saunders; 2006. p. 453-70.
15. Heard D, Harr K, Wellehan J. Diagnostic sampling and laboratory tests. In: Girling SJ, Raiti P, editors. *BSAVA manual of reptiles*. 2nd edition. United Kingdom: Blackwell Publishing; 2004. p. 78-9.
16. Saint Girons MC. Morphology of the circulating blood cell. In: Gans C, Parsons TC, editors. *Biology of the reptilia*, vol. 3. New York: Academic Press; 1970. p. 73-91.
17. Salakij C, Salakij J, Apibal S, et al. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (*Ophiophagus hannah*). *Veterinary Clinical Pathology* 31:116-26, 2002.
18. Harr KE, Alleman AR, Dennis PM, et al. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells and hematologic and plasma biochemical reference ranges in green iguanas. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218:915-21, 2001.
19. Alleman AR, Jacobson ER, Raskin RE. Morphological, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells from eastern diamondback rattlesnakes (*Crotalus adamaneus*). *American Journal of Veterinary Research* 60:507-14, 1999.
20. Bell KA, Gregory PT. White blood cells in Northwestern Garter-snakes (*Thamnophis ordinoides*). *Herpetology Notes* 7:535-541, 2014.
21. Bielli M, Nardini G, Di Girolamo N, et al. Hematological values for adult eastern Hermann's tortoise (*Testudo hermanni boettgeri*) in semi-natural conditions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27:68-73, 2015.
22. Schilliger L, Rossfelder A, Bonwitt J, et al. Antemortem diagnosis of multicentric lymphoblastic lymphoma, lymphoid leukemia, and inclusion body disease in a boa constrictor (*Boa constrictor imperator*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 24:11-19, 2014.
23. Halla U, Korbel R, Mutschmann F, et al. Blood parasites in reptiles imported to Germany. *Parasitological Research* 113:4587-99, 2014.
24. Miyamoto M, Mello ML. Chromatin supraorganization, DNA fragmentation, and cell death in erythrocytes of the rattlesnake, *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae), infected with the protozoan, *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae). *Cell Biology International* 31:494-9, 2007.
25. Telford SR. Hemoparasites of the Reptilia: Color atlas and text. CRC Press, Boca Raton, FL. 2016.
26. Muller K, Brunnberg L. Determination of plasma albumin concentration in healthy and diseased turtles: a comparison of protein electrophoresis and the bromocresol green dye-binding method. *Veterinary Clinical Pathology* 39:79-82, 2010.
27. Nardini G, Di Girolamo N, Selli P, et al. Evaluation of a Bench-Top Chemistry Analyzer in Hermann's Tortoises (*Testudo Hermanni*). *Proc. Association Reptilian and Amphibian Veterinarians*, 2015; 489.
28. Campbell TW. Clinical pathology. In: Current therapy in reptile medicine and surgery. Mader DR, Divers SJ. Eds. Elsevier Saunders; St Louis (MO). 2014. p. 70-92.
29. Moore AR, Allender MC, Mitchell MA, et al. Evaluation of plasma fibrinogen concentration as a diagnostic indicator of inflammation in red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 246:245-53, 2015.
30. Zhou X, Wang L, Feng H, et al. Acute phase response in Chinese soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*) with *Aeromonas hydrophila* infection. *Developmental & Comparative Immunology* 35:441-51, 2011.
31. Dantzer WH, Braun EJ. Comparative nephron function in reptiles, birds, and mammals. *American Journal of Physiology* 239:R197-213, 1980.
32. Knotek Z, Hauptman K, Knotková Z, et al. Renal disease haemogram and plasma biochemistry in green iguana. *Acta Veterinaria Brno* 71:333-340, 2002.
33. Hernandez-Divers SJ, Martinez-Jimenez D, Bush S, et al. Effects of allopurinol on plasma uric acid levels in normouricemic and hyperuricemic green iguanas (*Iguana iguana*). *Veterinary Record* 162:112-5, 2008.
34. Hernandez-Divers SJ, Stahl SJ, Stedman NL, et al. Renal evaluation in the healthy green iguana (*Iguana iguana*): assessment of plasma biochemistry, glomerular filtration rate, and endoscopic biopsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2017.

- nal of Zoo and Wildlife Medicine 36:155-68, 2005.
35. Boyer TH, Getzy D, Vap L, et al. Clinicopathologic findings of twelve cases of renal failure in Iguana iguana. Proc. Association Reptilian and Amphibian Veterinarians, 1996;113.
 36. Baird GS. Ionized calcium. Clinica Chimica Acta 412:696-701, 2011.
 37. Eatwell K. Comparison of total calcium, ionised calcium and albumin concentrations in the plasma of captive tortoises (Testudo species). Veterinary Record 165:466-8, 2009.
 38. Brischoux F, Kornilev YV. Hyponatremia in Dice snakes (Natrix tessellata) from a coastal population: implications for osmoregulation in marine snake prototypes. PLoS One 9:e92617, 2014.
 39. Abou-Madi N, Jacobson ER. Effects of blood processing techniques on sodium and potassium values: a comparison between Aldabra tortoises (Geochelone gigantea) and Burmese mountain tortoises (Manouria emys). Veterinary Clinical Pathology 32:61-6, 2003.
 40. Innis CJ, Ravich JB, Tlusty MF, et al. Hematologic and plasma biochemical findings in cold-stunned Kemp's ridley turtles: 176 cases (2001-2005). Journal of the American Veterinary Medical Association 235:426-32, 2009.
 41. Anderson ET, Socha VL, Gardner J, et al. Tissue enzyme activities in the loggerhead sea turtle (Caretta caretta). Journal of Zoo and Wildlife Medicine 44:62-9, 2013.
 42. Wagner RA, Wetzel R. Tissue and plasma enzyme activities in juvenile green iguanas. American Journal of Veterinary Research 60:201-3, 1999.
 43. Petrosky KY, Knoll JS, Innis C. Tissue enzyme activities in kemp's ridley turtles (Lepidochelys kempii). Journal of Zoo and Wildlife Medicine 46:637-40, 2015.
 44. Wozniak EJ, Kazacos KR, Telford SR Jr, et al. Characterization of the clinical and anatomical pathological changes associated with Hepatozoon moccasin infections in unnatural reptilian hosts. International Journal of Parasitology 26:141-6, 1996.
 45. Girling SJ, Fraser MA. Cannabis intoxication in three Green iguanas (Iguana iguana). Journal of Small Animal Practice 52:113-6, 2011.
 46. Preziosi R, Diana A, Florio D, et al. Osteitis deformans (Paget's disease) in a Burmese python (Python molurus bivittatus) - a case report. Veterinary Journal 174:669-72, 2007.
 47. Wagner RA, Wetzel R. Tissue and plasma enzyme activities in juvenile green iguanas. American Journal of Veterinary Research 60:201-203, 1999.
 48. Ramsay EC, Dotson TK. Tissue and serum enzyme activities in the yellow rat snake (Elaphe obsoleta quadrivittata). American Journal of Veterinary Research 56:423-8, 1995.
 49. Knotkova Z, Dorrestein GM, Jekl V, et al. Fasting and postprandial serum bile acid concentrations in 10 healthy female red-eared terrapins (Trachemys scripta elegans). Veterinary Record 163:510-4, 2008.
 50. McBride M, Hernandez-Divers SM, Koch T, et al. Preliminary evaluation of pre- and post-prandial 3-hydroxy bile acids in the green iguana, Iguana iguana. Journal of Herpetological Medicine and Surgery 16:129-134, 2006.
 51. Ghadir MR, Riahi AA, Avazpour A, et al. The relationship between lipid profile and severity of liver damage in cirrhotic patients. Hepatology Monthly 10:285-288, 2011.
 52. Leonard JC. Hereditary hypercholesterolaemic xanthomatosis. Lancet 271(6955):1239-42, 1956.
 53. Sladky KK, Dalldorf FG, Steinberg H, et al. Cholesterol granulomas in three meerkats (Suricata suricatta). Veterinary Pathology 37:684-6, 2000.
 54. Kummrow MS, Berkvens CN, Paré JA, et al. Cerebral xanthomatosis in three green water dragons (Physignathus cocincinus). Journal of Zoo and Wildlife Medicine 41:128-32, 2010.
 55. Naples LM, Langan JN, Mylniczenko ND, et al. Islet cell tumor in a Savannah monitor (Varanus exanthematicus). Journal of Herpetological Medicine and Surgery 19:97-105, 2009.
 56. Christopher MM. Physical and biochemical abnormalities associated with prolonged entrapment in a desert tortoise. Journal of Wildlife Disease 35:361-6, 1999.
 57. Frye FL, Dutra FR, Carney JD, et al. Spontaneous diabetes mellitus in a turtle. Veterinary Medicine Small Animal Clinics 71:935-9, 1976.
 58. Ritter JM, Garner MM, Chilton JA, et al. Gastric neuroendocrine carcinomas in bearded dragons (Pogona vitticeps). Veterinary Pathology 46:1109-16, 2009.
 59. Hidalgo-Vila J, Martínez-Silvestre A, Ribas A, et al. Pancreatitis associated with the helminth Serpinema microcephalus (Nematoda: Camallanidae) in exotic Red-Eared slider turtles (Trachemys scripta elegans). Journal of Wildlife Disease 47:201-205, 2011.
 60. Hannon D, Garner M. Hyperglycemia Associated with Renal Adenocarcinoma in a Chinese Water Dragon. Proc. Association Reptilian and Amphibian Veterinarians, 2015;503.



AnmviOggi è il quotidiano on-line di informazione professionale dell'ANMVI. Il primo e unico quotidiano di informazione professionale via internet che ogni giorno pubblica notizie sui maggiori fatti di interesse per la Professione Veterinaria. AnmviOggi viene inviato gratuitamente agli iscritti delle liste telematiche dell'Anmvi, a chi ne fa richiesta ed è disponibile sul sito www.anmvioggi.it

importanti lavori della letteratura scientifica internazionale. La newsletter di Vet Journal viene inviata gratuitamente agli iscritti delle liste telematiche dell'ANMVI, a chi ne fa richiesta il lunedì, il mercoledì e il venerdì ed è disponibile sul sito www.evsrl.it/vet.journal/

Vet Journal pubblica notizie e reportage di tutti i più importanti eventi nazionali ed internazionali e fornisce una informazione scientifica rigorosa sul mondo della medicina veterinaria e delle bioscienze in generale. Fornisce dal 2004 un servizio di traduzione in italiano degli abstract dei più



Chi non li ricevesse ed è interessato ne può far richiesta per e-mail alle redazioni:
anmvioggi@anmvi.it - efebbo@scivac.it