



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

**Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute**

Corso di Laurea magistrale a ciclo unico in  
MEDICINA VETERINARIA

Patologie polmonari del puledro nel periodo perinatale

Relatore

Prof. Maria Elena Falomo

Laureanda/o

Tiziana Dassie

Matricola n.

1191772

ANNO ACCADEMICO 2023/2024



## RIASSUNTO

Questa trattazione propone una panoramica sulle principali patologie polmonari del puledro. Sono state affrontate le cause congenite, batteriche, virali, infiammatorie e traumatiche. Le patologie polmonari a cui il puledro può andare incontro sono spesso correlate tra loro, con presenza di comorbidità che possono aggravare in poco tempo la presentazione clinica del paziente.

Disordini della transizione dalla vita fetale a quella neonatale possono portare all'ipertensione polmonare persistente (PPH), mentre condizioni di ipossia durante la vita fetale o durante il parto possono provocare la sindrome da aspirazione del meconio (MAS) che, a sua volta, può essere la causa di PPH. Puledri nati prematuri sono a rischio di sviluppare la sindrome equina da insufficienza respiratoria neonatale (NERDS), con carenza e disfunzione di surfactante. La sindrome da asfissia perinatale (PAS) è invece una patologia multi-sistemica causata da diversi fattori, tra cui patologie materne, patologie placentari o fattori fetali che riducono l'ossigenazione tissutale del feto stesso. Condizioni di ipossia durante il periodo perinatale o lo sviluppo anomalo dell'apparato respiratorio possono anche essere fattori predisponenti o aggravanti di una polmonite infettiva causata, ad esempio, da *Streptococcus Equi* sub. *Zooepidemicus* o *R. Equi*. Le polmoniti batteriche possono anche essere secondarie ad un'infezione virale. Le cause più frequenti di polmonite virale nei puledri sono: EHV-1, EHV-4, EHV-2, il virus dell'influenza equina e il virus dell'arterite equina. La sindrome da insufficienza respiratoria acuta (ARDS) ha eziologia multifattoriale che comprende agenti infettivi, sostanze chimiche tossiche, traumi, shock e setticemia. Le polmoniti fungine e parassitarie sono rare nei puledri; è possibile invece osservare patologie polmonari dovute ad una gestione non corretta oppure a traumi che possono provocare fratture costali.

Fondamentale l'approccio diagnostico che comprende, oltre ad anamnesi ed esame fisico, la diagnostica collaterale, quindi esami di laboratorio, radiografia ed ecografia toracica. In questo contesto vengono presentati i principali reperti osservabili tramite *imaging* toracico, come il pneumotorace, il versamento pleurico, il consolidamento e l'atelettasia polmonare, gli ascessi, le fratture costali e le alterazioni della pleura.

Viene infine affrontato l'aspetto della terapia, che comprende terapia di sostegno con somministrazione di ossigeno e fluidi, terapia antinfiammatoria e antibiotica. In puledri che non

hanno ricevuto un'adeguata immunità passiva è necessaria la somministrazione di plasma iperimmune. La prognosi in caso di polmonite nel puledro varia in base al grado di coinvolgimento del parenchima polmonare, alla causa primaria, al livello di cure veterinarie disponibili e all'eventuale presenza di altre comorbidità.

La trattazione include alcuni casi clinici osservati personalmente presso l'Ospedale Veterinario Universitario Didattico dell'Università di Padova.

## ABSTRACT

This discussion offers an overview of the major pulmonary diseases in the foal. Congenital, bacterial, viral, inflammatory, and traumatic causes are discussed. The pulmonary diseases the foal may experience are often correlated, with the presence of co-morbidities that can aggravate the clinical presentation of the patient in a short period of time.

Disorders of the transition from fetal to neonatal life can lead to persistent pulmonary hypertension (PPH), while hypoxic conditions during fetal life or during delivery can result in meconium aspiration syndrome (MAS), which, in turn, can be the cause of PPH. Foals born prematurely are at risk of developing neonatal equine respiratory distress syndrome (NERDS), with surfactant deficiency and dysfunction. Perinatal asphyxia syndrome (PAS), on the other hand, is a multi-system disorder caused by several factors, including maternal pathology, placental pathology, or fetal factors that reduce tissue oxygenation of the fetus itself. Hypoxic conditions during the perinatal period or abnormal development of the respiratory system can also be predisposing or aggravating factors of infectious pneumonia caused by pathogens such as *Streptococcus Equi* sub. *Zooepidemicus* and *R. equi*. Bacterial pneumonia may also be secondary to a viral infection. The most frequent causes of viral pneumonia in foals are: EHV-1, EHV-4, EHV-2, equine influenza virus, and equine arteritis virus. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) has multifactorial etiology including infectious agents, toxic chemicals, trauma, shock, and septicemia. Fungal and parasitic pneumonias are rare in foals; however, lung disease due to poor management or trauma resulting in rib fractures may be observed.

The diagnostic approach is essential and includes medical history collection, physical examination, laboratory tests, radiography and thoracic ultrasound. The main findings of chest imaging are presented, such as pneumothorax, pleural effusion, lung consolidation and atelectasis, abscesses, rib fractures, and pleural changes.

Finally, therapy is discussed, which includes supportive therapy with oxygen and fluid administration, anti-inflammatory and antibiotic therapy. In foals that have not received adequate passive immunity, hyperimmune plasma administration is necessary. The prognosis of pneumonia in foals varies depending on the degree of pulmonary parenchymal involvement, the primary cause, the level of veterinary care available, and the presence of other comorbidities.

The discussion includes some clinical cases personally observed at the Veterinary Teaching Hospital of the University of Padua.

# INDICE

<b>RIASSUNTO</b> .....	<b><i>i</i></b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b><i>iii</i></b>
<b>INDICE</b> .....	<b><i>v</i></b>
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	<b><i>1</i></b>
<b>1.1 SVILUPPO POLMONARE</b> .....	<b><i>1</i></b>
1.1.1 SVILUPPO POLMONARE EMBRIONALE .....	<i>1</i>
1.1.2 TRANSIZIONE DEL POLMONE DALLA VITA FETALE ALLA NASCITA.....	<i>6</i>
cambiamenti nella circolazione polmonare.....	<i>7</i>
clearance del fluido fetale polmonare .....	<i>8</i>
secrezione di surfactante .....	<i>10</i>
respirazione alla nascita .....	<i>12</i>
<b>2. PRINCIPALI PATOLOGIE POLMONARI NEL PULEDRO NEONATO</b> .....	<b><i>16</i></b>
<b>2.1 PATOLOGIE CONGENITE</b> .....	<b><i>16</i></b>
2.1.1 IPERTENSIONE POLMONARE PERSISTENTE (PPH) .....	<i>16</i>
2.1.2 SINDROME DA ASPIRAZIONE DI MECONIO (MAS) .....	<i>18</i>
2.1.3 SINDROME EQUINA DA INSUFFICIENZA RESPIRATORIA NEONATALE (NERDS).....	<i>20</i>
2.1.4 SINDROME DA ASFISSIA PERINATALE (PAS).....	<i>21</i>
caso clinico 1.....	<i>25</i>
caso clinico 2.....	<i>25</i>
caso clinico 3.....	<i>27</i>
caso clinico 4.....	<i>28</i>
<b>2.2 SEPSI</b> .....	<b><i>29</i></b>
caso clinico 5.....	<i>32</i>
<b>2.3 POLMONITI INFETTIVE</b> .....	<b><i>33</i></b>
2.3.1 POLMONITI BATTERICHE .....	<i>33</i>
<i>Streptococcus Equi</i> sub. <i>Zooepidemicus</i> .....	<i>34</i>
<i>Rhodococco Equi</i> .....	<i>34</i>
2.3.2 POLMONITI VIRALI.....	<i>40</i>
herpesvirus equino .....	<i>42</i>
virus dell'influenza equina.....	<i>46</i>
virus dell'arterite equina .....	<i>52</i>
adenovirus equino .....	<i>56</i>
<b>2.4 POLMONITE INTERSTIZIALE (ALI e ARDS)</b> .....	<b><i>61</i></b>
<b>2.5 ALTRE CAUSE DI PROBLEMI RESPIRATORI NEI PULEDRI</b> .....	<b><i>67</i></b>
caso clinico 6.....	<i>68</i>
<b>3. APPROCCIO DIAGNOSTICO E TERAPEUTICO ALLE PATOLOGIE POLMONARI DEL PULEDRO NEONATO</b> .....	<b><i>70</i></b>

<b>3.2 DIAGNOSTICA COLLATERALE.....</b>	<b>75</b>
3.2.1 ECOGRAFIA TORACICA .....	75
3.2.2 RADIOGRAFIA TORACICA .....	83
3.2.3 ESAMI DI LABORATORIO .....	88
<b>3.3 TERAPIA E PROGNOSI.....</b>	<b>91</b>
3.3.1 TERAPIA INALATORIA.....	91
3.3.2 TERAPIA VENTILATORIA .....	93
3.3.3 TRATTAMENTO POLMONITE INFETTIVA .....	94
3.3.4 TRATTAMENTO ARDS E NERDS .....	95
3.3.5 TRATTAMENTO DELLA POLMONITE DA <i>R. EQUI</i> .....	96
3.3.6 PROGNOSI DELLA POLMONITE NEI PULEDRI.....	97
<b>4. CONCLUSIONE.....</b>	<b>98</b>
<b><i>BIBLIOGRAFIA.....</i></b>	<b><i>100</i></b>



# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 SVILUPPO POLMONARE

### 1.1.1 SVILUPPO POLMONARE EMBRIONALE

L'organogenesi polmonare è un processo coordinato governato da una rete di vie di segnale conservate che controllano crescita e differenziazione. Lo sviluppo polmonare avviene grazie al passaggio di informazioni tra il comparto epiteliale e quello mesenchimale, che comprende una diversa distribuzione spaziale e temporale di una grande quantità di fattori e di vie di segnale (Caldeira et al. 2021).

I polmoni hanno, insieme a laringe e trachea, origine endodermica. La differenziazione polmonare inizia quando il fattore di trascrizione Nkx2.1 viene espresso nelle cellule endodermiche della porzione ventrale dell'intestino embrionale craniale (Herriges e Morrisey 2014). Laringe, trachea e polmoni si formano da un'evaginazione della parete ventrale dell'intestino faringeo, appena caudalmente al secondo dei due rilievi che formano la lingua. L'estremità caudale del tratto respiratorio si dirige caudalmente, lungo il collo, fino ad arrivare nel mesoderma. Il mesoderma splancnico riveste poi le gemme polmonari e forma, insieme all'epitelio di origine endodermica, il parenchima polmonare (Dyce, «Testo di Anatomia Veterinaria Parte Prima: Anatomia Sistemica», 4<sup>a</sup> ed. – Antonio Delfino Editore, 2020; 165). L'epitelio polmonare ha quindi origine endodermica, mentre il parenchima circostante deriva dal mesoderma. I vasi sanguigni si formano dalle cellule del mesoderma che circondano le estremità delle ramificazioni (vasculogenesi), o attraverso la migrazione di vasi sanguigni dall'arco aortico al polmone, quindi con la germinazione dell'arteria polmonare (angiogenesi). Man mano che il polmone matura le vie aeree e i vasi si sviluppano e formano, alle estremità dell'albero bronchiale, milioni di unità di scambio di gas alveolare (Caldeira et al. 2021). Le lamine laterali del mesoderma (figura 1.1) originano i due foglietti pleurici:

- la somatopleura è il foglietto mesodermico parietale (adeso all'ectoderma) che origina poi la pleura parietale (membrana sierosa parietale)
- la splancnopleura è il foglietto mesodermico viscerale (rivolto verso l'endoderma) e origina la pleura viscerale.

Le cavità pleuriche sono quindi due prolungamenti del celoma che si trovano tra somatopleura e splancnopleura.

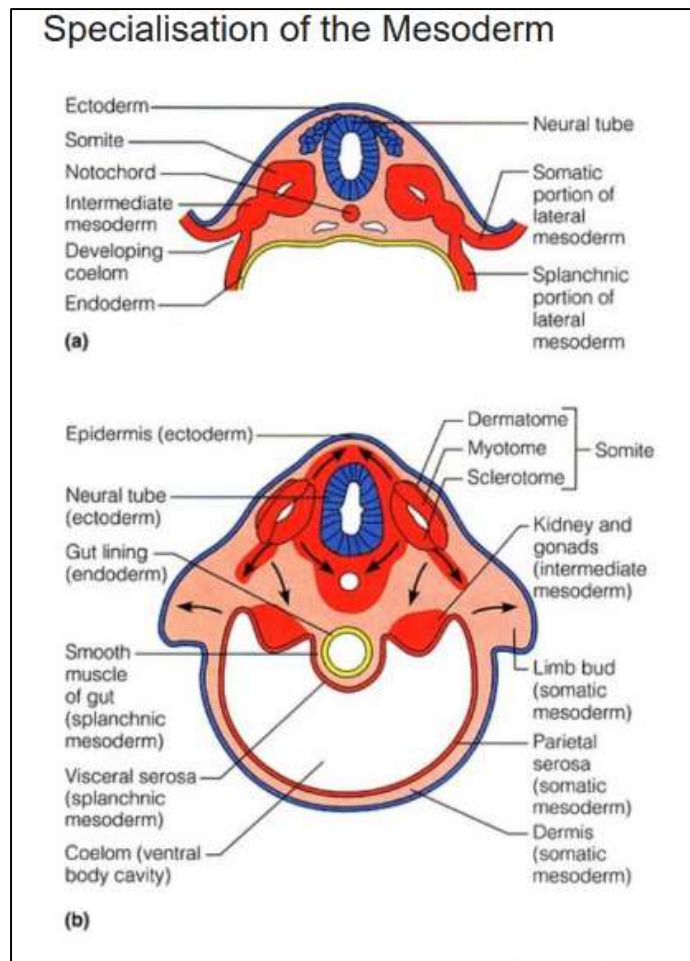


FIGURA 1.1 Specializzazione del mesoderma. Il mesoderma laterale si divide in porzione somatica e porzione splancnica, che circondano la cavità celomatica.

Lo sviluppo polmonare embrionale si divide in 5 stadi morfologici (figura 1.2), che riflettono cambiamenti molecolari e strutturali (Caldeira et al. 2021):

1. Stadio embrionale. Come detto sopra, la specificazione del polmone inizia con l'espressione di Nkx2.1 nelle cellule endodermiche della porzione ventrale dell'intestino anteriore. L'espressione di Nkx2.1 è permessa dalla via di segnale Wnt/ $\beta$ -catenina e da Bmp4 che inibisce il fattore di trascrizione Sox2 (vedi dopo).
2. stadio pseudoghiandolare: le due gemme polmonari vanno incontro a un processo di crescita, allungamento e ramificazione all'interno del mesenchima circostante (*branching morphogenesis*) che porta alla formazione dell'albero respiratorio con centinaia di ramificazioni terminali. Per la *branching morphogenesis* è fondamentale la via di segnale Fgf: Fgf10 viene espresso nel mesenchima polmonare distale, in particolare nei siti di formazione e crescita delle ramificazioni, e agisce come segnale paracrino nell'epitelio adiacente.

In questo stadio anche i vasi sanguigni si sviluppano e si distribuiscono lungo le vie aeree, anche se la ramificazione dei vasi avviene più lentamente.

Una volta che l'albero bronchiale si è formato inizia a differenziarsi con la cartilagine, mentre le ghiandole mucose e il muscolo liscio sono già presenti.

3. Stadio canalicolare: durante questo stadio le vie aeree continuano ad aumentare di dimensione e le gemme epiteliali terminali si proiettano negli spazi aerei distali mentre il mesenchima circostante si assottiglia, dando origine agli acini polmonari primitivi (alveoli primitivi).

Questa fase è caratterizzata anche dalla differenziazione cellulare alveolare. Le cellule epiteliali distali si differenziano in pneumociti di tipo 1 (AEC1) e in pneumociti di tipo 2 (AEC2). Le AEC2 sono responsabili della produzione di surfattante e fungono da cellule progenitrici delle AEC1, mentre le AEC1 sono responsabili dello scambio di gas.

Infine, in questa fase inizia la vascolarizzazione e il decorso dei capillari lungo gli spazi aerei contribuisce alla formazione della prima barriera aria-sangue nei futuri dotti alveolari e alveoli.

4. Stadio sacculare (continua anche dopo la nascita): è uno stadio intermedio, in cui la *branching morphogenesis* è terminata ma non si ha ancora lo sviluppo di alveoli maturi. È caratterizzato dall'allargamento e dall'ulteriore divisione degli spazi aerei distali in numerosi sacculi terminali a parete sottile, i precursori degli alveoli. Il mesenchima tra gli spazi aerei si condensa dando origine a uno spesso setto primario immaturo. Man mano che ogni sacco aumenta di dimensioni, i vasi sanguigni si associano strettamente e formano un doppio strato capillare che avvolge ogni sacco. Questo processo è fondamentale per la formazione degli alveoli e il successivo scambio di gas. Rispetto al polmone maturo, i capillari sono inseriti in un ampio strato interstiziale molto povero di fibre extracellulari ma molto cellulare. Tuttavia, poco dopo, l'elastina inizia a depositarsi sotto l'epitelio, preparando i polmoni all'ulteriore formazione degli alveoli.

AEC1 e AEC2 continuano a differenziarsi e a popolare i tubuli distali. Il sistema tensioattivo di AEC2 matura, compaiono i corpi lamellari e si rileva la secrezione di surfattante.

5. Stadio di alveolarizzazione (dopo la nascita). In questo stadio si ha la formazione degli alveoli, le unità funzionali per lo scambio di gas.

Nel processo di alveologenesi classica cominciano a formarsi setti secondari a partire da setti pre esistenti e dividono i sacculi distali in unità più piccole (gli alveoli), aumentando la superficie di scambio. Contemporaneamente la rete capillare a doppio strato presente nei setti immaturi si fonde in una rete monostrato che è più efficiente in un setto sottile. La

maturazione microvascolare continua finché nuovi setti o alveoli vengono formati. Una volta che l'alveolo è maturo, ogni pneumocita di tipo 1 si trova in stretto contatto con l'endotelio.

I processi di rimodellamento includono la specificazione finale e la maturazione di AEC2, la sintesi di surfattante, l'appiattimento di AEC1 e la differenziazione mesenchimale.

Un corretto assemblaggio dell'elastina e la formazione della membrana basale e della matrice extracellulare (ECM) sono passaggi fondamentali negli stadi sacculare e alveolare.

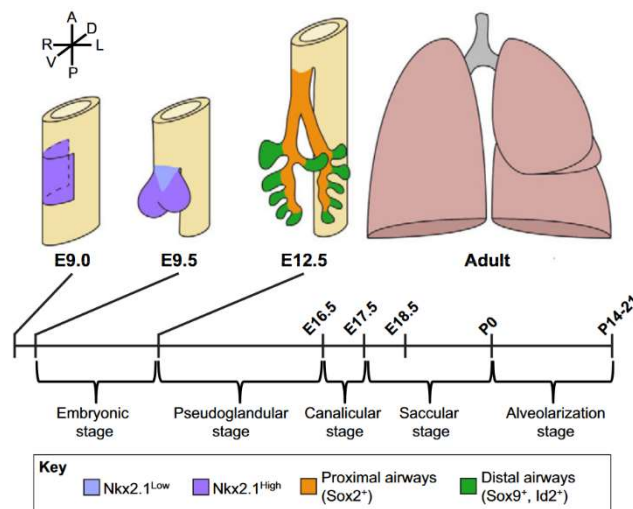


FIGURA 1.2: Sviluppo polmonare. Si osservano i vari stadi di sviluppo polmonare e il periodo in cui si verificano in modelli sperimentali di topo. La specificazione dell'endoderma polmonare nel topo inizia circa al 9.0 giorno embrionale sul lato ventrale dell'endoderma anteriore (giallo), dove inizia l'espressione del fattore di trascrizione Nkx2.1. D, dorsale; L, sinistra; P, posteriore; R, destra; V, Ventrale. (Herriges e Morrisey 2014).

Durante tutti questi stadi di sviluppo endodermico, il mesoderma polmonare si sviluppa e interagisce con l'endoderma polmonare per promuovere la ramificazione delle vie aeree e la differenziazione. Il mesoderma polmonare, infatti, è una fonte importante di segnali paracrini come Wnt2 e Fgf10 (vedi dopo). L'interazione col mesoderma permette anche di generare le varie linee cellulari all'interno del polmone, comprese quelle delle vie aeree, le cellule della muscolatura liscia vascolare, le cellule endoteliali, mesoteliali, i fibroblasti alveolari e i periciti.

Come detto sopra la specificazione del sistema respiratorio dall'intestino embrionale craniale avviene grazie al fattore di trascrizione Nkx2.1. Wnt2/2b è la proteina di trasduzione del segnale che promuove l'espressione di Nkx2.1 (via di segnalazione Wnt/ $\beta$ -catenina). Wnt2/2b è espressa

nel mesoderma ventrale-anteriore che circonda la regione endodermica dell'intestino embrionale anteriore.

Wnt non agisce da sola nel promuovere lo sviluppo polmonare dall'intestino embrionale: sono necessarie anche le proteine di segnale BMP che reprimono l'azione inibitoria di Sox2 su Nkx2.1 (figura 1.3). la specificazione delle vie respiratorie e il loro sviluppo richiedono quindi le vie di segnale di Wnt e di BMP provenienti dal mesoderma (Herriges e Morrisey 2014).

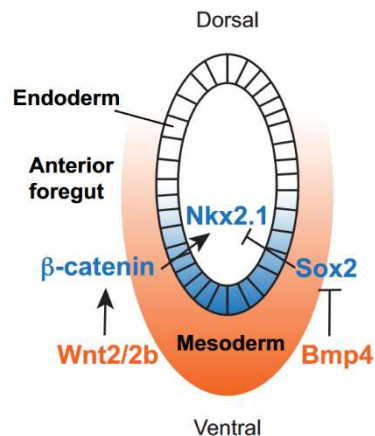


FIGURA 1.3: Le vie di segnale Wnt2/2b e Bmp4 dal mesoderma permettono la specificazione dell'endoderma polmonare dall'intestino embrionale craniale. Wnt2/2b tramite la via di segnalazione della beta-catenina promuove l'espressione di Nkx2.1, mentre Bmp4 reprime l'azione inibitoria di Sox2 su Nkx2.1 (Herriges e Morrisey 2014)

Dopo la gemmazione dei bronchi principali, le gemme polmonari vanno incontro al processo di ramificazione, che permette di formare la struttura delle vie respiratorie e il compartimento alveolare terminale. La molecola di segnale fondamentale per questo processo è Fgf10 (figura 1.4), che è espressa nel mesenchima che circonda i punti di diramazione in via di sviluppo (Herriges e Morrisey 2014). La via di segnale PCP-dipendente sembra invece avere un ruolo nel regolare la forma della cellula epiteliale, e quindi la forma tubulare nei rami polmonari. La struttura tubulare delle vie aeree si forma anche grazie a interazioni cellula-matrice: la fibronectina, infatti, interagisce con le cellule tramite diversi recettori per integrine (comprese la famiglia di integrine  $\beta 1$ ). Grazie a queste interazioni la porzione prossimale delle vie aeree sviluppa un epitelio pseudostratificato, mentre la porzione distale un epitelio monostratificato.

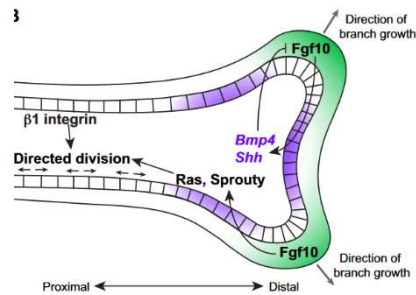


FIGURA 1.4: La struttura delle vie respiratorie si sviluppa grazie alla via di segnale Fgf10 (Herriges e Morrisey 2014)

Le cellule progenitrici nell'endoderma polmonare rimangono multipotenti fino a tarda gestazione, successivamente, grazie al fattore di trascrizione Sox2, vanno incontro a differenziazione: nella porzione prossimale si differenziano in cellule neuroendocrine, cellule secretorie, cellule ciliate e cellule della mucosa polmonare, mentre nella porzione distale danno vita ai pneumociti di tipo I e II (Herriges e Morrisey 2014).

### 1.1.2 TRANSIZIONE DEL POLMONE DALLA VITA FETALE ALLA NASCITA

I puledri alla nascita vanno incontro a importanti cambiamenti fisiologici che coinvolgono tutti i sistemi dell'organismo (tra questi ci sono i cambiamenti nel metabolismo energetico o la necessità di termoregolare); gli adattamenti più immediati sono però l'inizio della respirazione e i cambiamenti di flusso e pressione nel sistema cardio-circolatorio. I principali mediatori che preparano il feto alla nascita e supportano la transizione multiorgano sono il cortisolo e le catecolamine: i corticosteroidi fetali stimolano infatti, oltre a stimolare il rilascio di prostaglandina F2-alfa che promuove la luteolisi e il parto, stimolano anche la maturazione polmonare e la produzione di surfactante (Mota-Rojas et al. 2022).

Il polmone alla nascita deve andare incontro ad un adattamento dalla vita fetale alla vita extrauterina. Questo adattamento richiede l'espansione degli alveoli, la clearance del fluido fetale polmonare (che avviene grazie alla combinazione di sforzi respiratori, espirazione a glottide chiusa e cambiamenti nel flusso di Na attraverso la membrana respiratoria, vedi dopo), la secrezione di surfactante e l'inizio di una respirazione efficace e costante (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012; Wilkins 2003).

Perché possa avvenire un efficace scambio di gas è necessario inoltre che avvenga un aumento del flusso sanguigno polmonare, in modo da associare la ventilazione a una corretta perfusione (Jain 1999).

## CAMBIAMENTI NELLA CIRCOLAZIONE POLMONARE

Nel feto il sangue ossigenato proveniente dalla placenta arriva attraverso la vena ombelicale e il dotto venoso; passa poi nella vena cava inferiore e arriva all'atrio destro. Da lì è diretto dal forame ovale principalmente verso l'atrio sinistro ed è inviato principalmente al cervello e alla circolazione coronaria. Nel feto il ventricolo predominante è il destro e la maggior parte dell'output sanguigno del ventricolo destro va all'aorta discendente tramite il dotto arterioso: il sangue che va nella circolazione polmonare infatti è molto poco (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012).

Nella vita fetale è presente una condizione di ipertensione polmonare e il flusso sanguigno subisce uno *shunt* verso il dotto arterioso che ha minor resistenza. Alla nascita, la diminuzione drastica della resistenza polmonare vascolare permette al sangue che proviene dalla placenta e dal cuore destro e che si trova nell'arteria polmonare di essere diretto verso i polmoni piuttosto che verso il dotto arterioso. L'aumento del flusso polmonare causa un aumento di pressione nell'atrio destro e questo provoca la chiusura della valvola unidirezionale che si trova sul forame ovale (Dukarm, Steinhorn, e Morin 1996).

La transizione dal pattern circolatorio fetale a quello neonatale richiede quindi la risoluzione di questa ipertensione polmonare. Questo cambiamento è permesso da (Wilkins 2003; Dukarm, Steinhorn, e Morin 1996):

- Apertura degli alveoli, che diminuisce la resistenza delle vie aeree e fornisce supporto ai vasi polmonari
- Chiusura funzionale del dotto arterioso nelle prime ore di vita, in particolare come risposta all'aumento della tensione di ossigeno nel neonato. Bisogna tener presente che il dotto arterioso potrebbe non chiudersi anatomicamente per diversi mesi (però comunque dal momento in cui la resistenza della circolazione polmonare scende sotto quella sistemica il flusso lungo il dotto arterioso viene invertito).
- Diminuzione della tensione della CO<sub>2</sub> alveolare e aumento della tensione di ossigeno alveolare, che interrompe la vasocostrizione causata dall'ipossia

Sostanze vasodilatatrici (prostaciline e ossido nitrico) e vasocostrittrici (endotelina-1 e leucotrieni) agiscono in modo coordinato e svolgono anch'esse un ruolo, sebbene non ancora chiaro, in questi cambiamenti polmonari. Anche i corticosteroidi modulano la transizione cardiovascolare alla nascita: si è visto che l'esposizione del feto al betametassone aumenta il flusso sanguigno polmonare

e che in seguito all'esposizione fetale ai corticosteroidi la funzione cardiaca dopo la nascita migliora (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012).

Alla nascita si osserva quindi un improvviso e drastico calo di resistenza vascolare polmonare e questo calo continua nei primi mesi di vita finché non raggiunge i livelli fisiologici della circolazione polmonare di un adulto (Dukarm, Steinhorn, e Morin 1996).

Questi cambiamenti possono essere minati da diversi fattori come sviluppo polmonare inadeguato, deficienza di surfactante (primaria o secondaria), infezioni virali o batteriche, anomalie placentari, ipossia in utero e aspirazione del meconio (Wilkins 2003).

## CLEARANCE DEL FLUIDO FETALE POLMONARE

Il fluido polmonare fetale è il filtrato del fluido interstiziale polmonare che viene secreto dall'epitelio delle vie respiratorie tramite trasporto attivo dello ione cloruro. Di conseguenza si tratta di un fluido ricco di  $\text{Cl}^-$  (157 mEq/L rispetto a 107 mEq/L presenti nel plasma, nella linfa polmonare e nel fluido polmonare postnatale) e povero di proteine. La produzione e il mantenimento del volume fisiologico del fluido polmonare è essenziale per la normale crescita del polmone, per l'umidificazione alveolare postnatale e per la clearance mucociliare (Jain 1999). Nel feto di pecora è stato osservato che il volume del fluido polmonare aumenta da metà gestazione e la produzione verso fine gestazione arriva fino a 4 ml/Kg/h (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012).

Alla nascita deve avvenire un rapido riassorbimento del fluido fetale polmonare e un significativo rallentamento dei meccanismi secretori. Tradizionalmente la *clearance* del fluido polmonare veniva spiegata con le forze di Starling e la compressione vaginale ma in realtà questi meccanismi sono responsabili solo di una parte dell'assorbimento (Jain 1999). La *clearance* del fluido deve essere completa entro le 2-6h di vita, ma un parto prematuro o un parto cesareo può ritardare il processo (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

La produzione del fluido polmonare diminuisce prima dell'inizio del parto e il travaglio stesso, grazie alla compressione vaginale, permette un'ulteriore diminuzione: è stato infatti visto che il fluido misurato in agnelli in seguito al parto è 10 ml/Kg, mentre nel feto a termine gravidanza e senza travaglio è 50 ml/Kg (Harding e Hooper 1996; Jain 1999).

I cambiamenti endocrini che permettono la clearance del fluido polmonare iniziano prima del parto: a fine gravidanza si osserva un aumento di cortisolo, ormoni tiroidei e di catecolamine che bloccano la secrezione di fluido cloruro-mediata e attivano l'ATPasi  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  che si trova alla base degli



pneumociti di tipo II. L'epitelio polmonare alla nascita passa da una membrana che tende a secernere cloruri a una membrana che prevalentemente assorbe sodio (non è ancora chiaro il motivo per cui i canali per il  $\text{Na}^+$  rimangono inattivi per la maggior parte della vita fetale). Il  $\text{Na}^+$  che si trova nel fluido polmonare entra passivamente dai canali per il sodio presenti nella membrana apicale degli pneumociti di tipo II (figura 1.5). Questi canali sono amiloride-dipendenti e nel corso dello sviluppo polmonare si osserva un aumento di mRNA responsabile della codificazione di questi. Il sodio che si trova all'interno dei pneumociti di tipo II viene poi pompato attivamente nell'interstizio dall'ATPasi (figura 1.5), seguito passivamente dall'acqua e dagli altri elettroliti (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012; Jain 1999). Diversi studi hanno osservato che l'esposizione a un ambiente con elevata concentrazione di ossigeno ha un ruolo nell'*up-regulation* dell'ATPasi  $\text{Na}^+/\text{K}^2$  e che l'aumento delle catecolamine in circolo alla nascita stimola il riassorbimento di Na, grazie ai recettori  $\beta$ -adrenergici (Jain 1999). Il fluido viene poi allontanato tramite diverse possibili vie tra cui i vasi linfatici polmonari, vasi sanguigni, vie aeree superiori, mediastino e spazio pleurico.

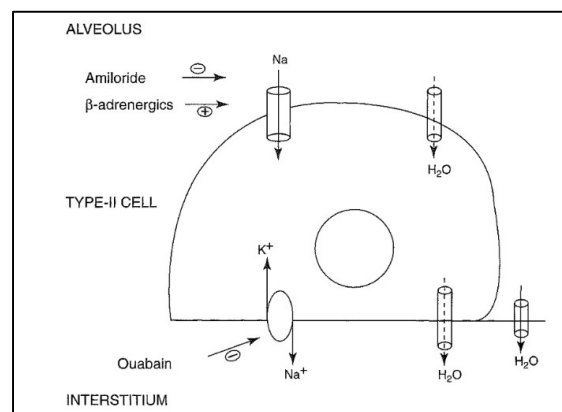


IMMAGINE 1.5: Movimento di sodio e acqua attraverso le cellule alveolari di tipo II. Nella membrana apicale della cellula ci sono i canali per il sodio amiloride-dipendenti che permettono il passaggio del Na dagli spazi alveolari alla cellula. Nella membrana basolaterale ci sono le ATPasi  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , che pompano attivamente il sodio nell'interstizio. L'acqua segue passivamente il sodio tramite vie paracellulari o acquaporine (Jain 1999).

I meccanismi fisiologici che permettono la clearance del fluido polmonare fetale sono quindi numerosi (Jain 1999):

- Forze passive
  - Movimento di massa del fluido nelle vie aeree (ad esempio grazie alle contrazioni vaginiali)
  - Evaporazione

- Riassorbimento epiteliale del fluido
  - Trasporto attivo di ioni
  - Movimento passivo dei fluidi come risultato delle forze di Starling
- *Uptake* linfatico

La *clearance* del fluido polmonare continua anche dopo la nascita: il neonato, infatti, gonfia i polmoni tramite ampi respiri a pressione negativa e in questo modo spinge il fluido dalle vie aeree agli alveoli e di conseguenza nell'interstizio (il riassorbimento è favorito dalla pressione negativa dell'interstizio polmonare). Durante l'inspirazione quindi il fluido polmonare viene assorbito, mentre con l'espiazione si ha un ritorno del fluido nelle vie aeree (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012).

La *clearance* del fluido fetale polmonare in diverse specie avviene tra le 2 e le 6 ore dopo la nascita. Nei puledri non è stata descritta l'esatta cinetica della *clearance*, ma il fluido polmonare è osservabile radiograficamente tra le 6 e le 12 ore dopo il parto (Lascola et al. 2013).

Nell'epitelio polmonare dell'adulto prevale l'assorbimento di  $\text{Na}^+$  attraverso i canali per il sodio, con una regolazione fine tra l'attività dei canali ionici e le *tight junction*. Questo assicura un adeguata umidificazione del polmone prevenendo però un'eccessiva produzione di fluido. A questo si aggiunge poi il ruolo attivo delle acquaporine e dell'ATPasi  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  (Jain 1999).

## SECREZIONE DI SURFACTANTE

Il surfactante polmonare è una miscela complessa di lipidi (principalmente fosfolipidi saturi) e proteine (10%) che ha la funzione di prevenire il collasso alveolare, fare da barriera contro i patogeni e potenziare il trasporto muco-ciliare. La maturazione del surfactante inizia all'88% della durata di gestazione (circa a 300 giorni), ma rimane incompleta fino al parto e continua anche dopo la nascita (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Ci sono quattro tipi di proteine nel surfactante con funzioni diverse (Bocking et al. 2021; Knudsen e Ochs 2018):

- SP-B e SP-C prevengono il collasso alveolare riducendo la tensione superficiale e contribuiscono alla redistribuzione e produzione di surfactante.
- SP-A e SP-D sono glicoproteine più grandi e hanno funzione immuno-regolatoria nelle infezioni polmonari. Fanno parte della famiglia delle collectine che hanno la funzione di opsonizzare batteri gram+ e gram-, virus, allergeni e funghi, facilitando quindi la fagocitosi da parte di monociti e macrofagi (risposta immunitaria innata). Queste proteine sono state

trovate nei setti alveolari, nell'epitelio alveolare e nell'endotelio vascolare. Il ruolo delle SP nel sangue potrebbe essere importante in quanto è stato osservato di recente che SP-D nel siero potrebbe rivelarsi diagnostico per alcune patologie infiammatorie delle vie aeree negli equini.

Le proteine del surfactante sono prodotte dagli pneumociti di tipo II e dalle cellule di Clara. Con l'avanzare della gestazione i lipidi tensioattivi e le proteine lipofile SP-B e SP-C cominciano a essere sintetizzate e aggregate all'interno dei corpi lamellari degli pneumociti di tipo II in maturazione. I corpi lamellari, che sono il deposito e il "pacchetto" secretorio dei componenti del surfactante, vengono rilasciati nel fluido fetale polmonare man mano che il polmone matura. I componenti attivi del surfactante quindi si mescolano col fluido amniotico o vengono deglutiti dal feto. Al momento della nascita gli pneumociti di tipo II contengono molto più surfactante che quelli di un polmone adulto, così da avere una riserva pronta per essere rilasciata al momento del parto (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012).

Al momento del travaglio, probabilmente in seguito al rilascio di catecolamine che stimolano i  $\beta$ -recettori, il surfactante viene secreto e visto che nello stesso momento il fluido fetale polmonare diminuisce (vedi sopra), la concentrazione di surfactante al suo interno aumenta. Alla nascita sono presenti ulteriori stimoli che promuovono la secrezione di surfactante (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012):

- L'inizio della ventilazione causa lo stiramento degli alveoli e quindi la deformazione degli pneumociti di tipo II, che stimola la secrezione
- Alla nascita si osserva un elevato aumento di catecolamine in circolo

Alla nascita la sintesi e l'accumulo nei corpi lamellari continua e inoltre il surfactante secreto viene riciclato dai pneumociti; questo fa sì che, nonostante l'elevata secrezione di surfactante, non avvenga un significativo svuotamento delle riserve presenti negli pneumociti di tipo II (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012).

Il feto a termine gravidanza ha quindi una quantità di surfactante adeguata ad assicurare la transizione alla respirazione polmonare. Negli animali neonati la quantità di surfactante presente negli alveoli è 5-20 volte maggiore rispetto a quella di un adulto, ma questa quantità diminuisce già nelle prime settimane di vita.

Nei puledri prematuri può esserci una carenza di surfactante e questo può provocare la sindrome da insufficienza respiratoria neonatale (NERDS), vedi capitolo 2 (Bocking et al. 2021).

## RESPRAZIONE ALLA NASCITA

La componente essenziale dell'adattamento del neonato alla nascita è il mantenimento di un costante sforzo respiratorio. Nell'utero il feto alterna periodi di sogno REM a periodi di *quiet sleep* e periodi di veglia (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012). Attività come la respirazione fetale, la deglutizione e il leccamento sono confinate nel periodo fetale di sonno REM. Durante il sonno REM il feto ha irregolare attività respiratoria, per cui avvengono spostamenti di volume variabile di fluido polmonare mescolato con fluido amniotico dentro e fuori dal polmone.

Condizioni di ipossia nel feto inibiscono l'attività respiratoria, che è invece stimolata da elevate quantità di  $P_{O_2}$ . È ipotizzato inoltre che le prostaglandine derivanti dalla placenta inibiscano nel feto l'attività respiratoria, ad eccezione che nei periodi di sonno REM.

Il rapido inizio di una respirazione vigorosa alla nascita è il risultato di vari stimoli (Hillman, Kallapur, e Jobe 2012):

- Taglio del cordone ombelicale (e di conseguenza probabilmente anche la rimozione delle sostanze inibenti la respirazione derivanti dalla placenta)
- Stimoli tattili e termici che agiscono a livello centrale
- Cambiamenti di  $P_{CO_2}$  e  $P_{O_2}$  nel sangue (se l'ipossia è severa il neonato non inizia a respirare)

## 1.2 FUNZIONALITA' DEL POLMONE NEONATALE: ANATOMIA E FISIOLOGIA DEL POLMONE SANO

Per poter riconoscere eventuali anomalie nel polmone è necessario conoscere la normalità del sistema respiratorio in un puledro neonato, che presenta delle peculiarità anatomiche e fisiologiche rispetto ad un adulto.

Confrontato con altre specie, tra cui l'uomo, il puledro nasce con un polmone funzionalmente più sviluppato: similmente al suino, il puledro nasce con gli alveoli già funzionanti (Johnson et al. 2014), si alza in piedi entro 1-2h e in poche ore può già correre. Nonostante questo, lo sviluppo polmonare continua anche nel periodo post-natale, portando a differenze di proporzioni rispetto all'adulto. Questo porta a chiedersi se esiste durante la vita del cavallo un periodo ideale per

l'allenamento e se un allenamento fatto prima dello sviluppo completo dei polmoni ha implicazioni patologiche, come nel caso delle emorragie da sforzo nei cavalli da corsa (Johnson et al. 2014).

La transizione dalla vita fetale a quella extra uterina, come visto, richiede l'apertura degli alveoli e l'assorbimento del fluido dalle vie aeree e questo avviene tramite la combinazione di (Wilkins 2003):

- cambiamenti nel flusso di sodio, che viene assorbito dalla membrana respiratoria
- sforzi respiratori
- espirazione a glottide chiusa (*grunting*): chiamata "*Valsalva maneuver*", è un'espirazione con cui il puledro cerca di mantenere un adeguato volume polmonare. Produce un grugnito udibile.

Durante le prime ore di vita la frequenza respiratoria di un puledro sano può arrivare a 80 respiri/minuto, ma in poche ore, dopo aver eliminato i fluidi dai polmoni, dovrebbe scendere a 30-40 respiri/minuto e anche lo sforzo respiratorio dovrebbe diminuire. La parete toracica del puledro ha una elevata *compliance* che facilita il passaggio lungo il canale del parto: questo comporta la necessità per il puledro di partecipare attivamente sia all'inspirazione che all'espirazione: la contrazione dei muscoli respiratori permette di mantenere il volume toracico e polmonare e di prevenire il collasso alveolare e l'atelettasia. Ci sono due conseguenze che il clinico deve quindi tenere presente: la prima è che uno scorretto contenimento del puledro può compromettere la respirazione del puledro neonato e la seconda è che un puledro con patologia respiratoria può andare incontro ad un peggioramento del quadro clinico a causa dell'affaticamento.

La frequenza cardiaca dovrebbe essere 60 battiti/minuto e avere un ritmo regolare; alla nascita il puledro potrebbe apparire bradicardico ma la frequenza cardiaca dovrebbe raggiungere i valori normali in pochi minuti. Auscultando il torace poco dopo la nascita, quando le vie aeree si sono aperte e i fluidi sono stati drenati, bisognerebbe rilevare un flusso d'aria uguale bilateralmente. Quando il puledro neonato è in decubito laterale (e anche subito dopo) auscultando il polmone dal lato su cui è appoggiato è possibile rilevare crepitii a fine espirazione (Wilkins 2003).

Un puledro neonato può apparire leggermente cianotico durante l'iniziale periodo di adattamento ma questa condizione dovrebbe risolversi in pochi minuti dalla nascita. Il feto, infatti, vive in un ambiente moderatamente ipossico ( $P_{O_2}$  nella vena ombelicale del feto di puledro è 49 mmHg, che comunque è più alto rispetto alle altre specie) e visto che il feto è adattato a una bassa tensione d'ossigeno, una volta che è avvenuto l'adattamento alla respirazione polmonare è raro osservare cianosi, anche nel caso in cui sia presente una bassa tensione di  $O_2$  (quindi l'assenza di cianosi non

esclude una condizione ipossica). La presenza di cianosi significativa dovrebbe far sospettare anomalie congenite cardiache che comportano shunt da destra a sinistra o la trasposizione primaria dei tronchi arteriosi (Wilkins 2003), ovvero la collocazione anomala dell'emergenza dell'aorta, dell'arteria polmonare o entrambe.

La struttura anatomica polmonare di un puledro presenta delle differenze rispetto a quella di un adulto (figura 1.6): gli alveoli sono più piccoli e la superficie media alveolare per Kg di peso corporeo è maggiore in un puledro. I cambiamenti nella morfologia polmonare che avvengono dopo la nascita sono quindi dovuti probabilmente all'espansione alveolare più che all'aumento del numero di alveoli, in quanto la densità di superficie alveolare e la superficie alveolare per Kg di peso corporeo diminuisce mentre  $L_m$  (intercetta lineare media, che rappresenta la distanza media tra i setti alveolari) aumenta. Si avrà poi, similmente a quello che accade nell'uomo, lo sviluppo secondario di setti, mentre l'angiogenesi permette di mantenere un corretto sviluppo alveolare (Johnson et al. 2014).

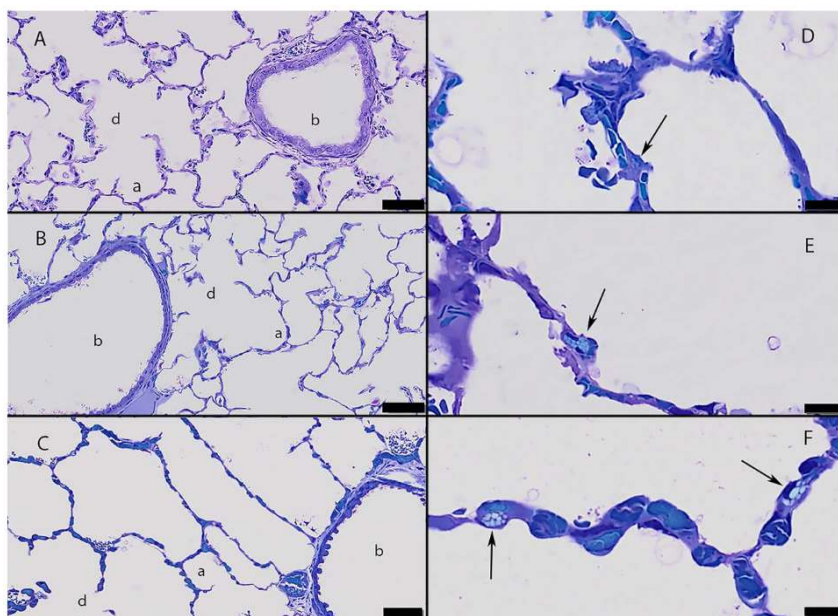


FIGURA 1.6: rappresentazione istologica di polmone (la scala per le immagini A-C è 50  $\mu\text{m}$ , per le immagini D-F è 10  $\mu\text{m}$ ). A,D puledro di un giorno; B,E puledro di un mese; C,F cavallo adulto. Le lettere minuscole indicano, rispettivamente: “a” gli alveoli, “b” i bronchioli e “d” gli spazi duttali. Le frecce indicano i corpi lamellari (Johnson et al. 2014).

Un'altra differenza tra il polmone di un puledro neonato e un adulto riguarda la tensione superficiale e la composizione fosfolipidica del surfactante (Christmann et al. 2006): alla nascita, infatti, sembra che il surfactante del puledro sia immaturo e questa differenza di composizione

rispetto a un adulto ha impatto in funzioni biofisiche (ad esempio sulla tensione superficiale) e immuno-modulatorie del surfactante. Riguardo la funzione immuno-modulatoria è stato osservato che in un puledro di un giorno non sono presenti SP-A ne SP-D, mentre in un puledro di 30 giorni SP-A e SP-D appaiono nei setti alveolari, nell'epitelio delle vie aeree, nell'endotelio vascolare e nei macrofagi polmonari intravascolari, dando un ulteriore meccanismo al puledro per proteggersi contro i patogeni che arrivano per via ematica (Bocking et al. 2021). Entrambe le proteine sono localizzate negli alveolociti di tipo II e la loro espressione nei setti alveolari è dovuta alla diffusione del surfactante lungo l'epitelio alveolare. I puledri neonati appaiono quindi più predisposti all'atelettasia polmonare e alle infezioni, anche perché non hanno macrofagi polmonari intravascolari, che svilupperanno nelle prime settimane di vita.

## **2. PRINCIPALI PATOLOGIE POLMONARI NEL PULEDRO NEONATO**

Il puledro alla nascita e nei giorni successivi può mostrare segni di stress o insufficienza respiratoria. Per poter intervenire tempestivamente e correttamente è necessario conoscere le possibili cause, che spaziano da patologie congenite a infezioni post-natali a problemi di management. Questo capitolo ha lo scopo di fare una panoramica sulle principali cause di patologie respiratorie nel puledro.

### **2.1 PATOLOGIE CONGENITE**

#### **2.1.1 IPERTENSIONE POLMONARE PERSISTENTE (PPH)**

L'ipertensione polmonare persistente (PPH) è conosciuta anche come “ritorno alla circolazione fetale” o “circolazione fetale persistente”. È un disordine che riguarda la transizione circolatoria dalla vita fetale a quella neonatale che consiste nel mantenimento di un'elevata resistenza dei vasi polmonari (ipertensione polmonare) con *shunt* da destra a sinistra attraverso il forame ovale e/o attraverso il dotto arterioso, con conseguente ipossia in quanto il sangue non ossigenato proveniente dalla circolazione polmonare entra nella circolazione sistemica (Singh e Lakshminrusimha 2021). Questa condizione patologica si sviluppa quando il neonato non riesce a compiere la transizione cardio-polmonare dalla vita fetale a quella extrauterina o quando, in risposta a uno stato di ipossia o acidosi, il neonato ritorna a un pattern circolatorio fetale (Wilkins 2003).

PPH deve essere sospettata in caso di neonato con ipercapnia e ipossiemia persistente e in peggioramento; questi puledri, infatti, sono in uno stato di insufficienza respiratoria ipossiémica. La gravità di PPH può variare da una lieve ipossiémia e minima insufficienza respiratoria a ipossiémia grave e instabilità cardiopolmonare (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Per differenziare PPH da altre cause di ipossiémia nel neonato, come sepsi, polmonite virale, polmonite batterica oppure una malformazione cardiaca congenita, sono necessarie ulteriori investigazioni e una serie di emogasanalisi del sangue arterioso (Wilkins 2003).

L'ipertensione polmonare persistente può essere primaria (o idiopatica) oppure secondaria a diversi fattori, tra cui asfissia, aspirazione del meconio e patologie cardiache congenite, ma in molti casi la causa determinante è sconosciuta e ci sono diversi meccanismi che contribuiscono alla condizione



di ipossia (Singh e Lakshminrusimha 2021). Possibili meccanismi sono: un inappropriato abbassamento dei livelli di sostanze vasodilatatrici (NO) e aumento dei livelli dei vasocostrittori (ET-1), quindi una vasocostrizione polmonare anomala; un rimodellamento strutturale della vascolarizzazione polmonare; ipoplasia polmonare o un'ostruzione intravascolare dovuta ad un aumento della viscosità sanguigna come nel caso della policitemia (Singh e Lakshminrusimha 2021). Una situazione fetale cronica di ipossia e/o acidosi può provocare ipertrofia della muscolatura liscia arteriolare e in questo caso l'inversione della PPH può essere estremamente complessa da ottenere (Wilkins 2003).

la fisiopatologia della PPH è un aumento della resistenza vascolare polmonare (PVR) con conseguente diminuzione del flusso sanguigno polmonare (PBF) e, quindi, una diminuzione della quantità di sangue ossigenato che ritorna al lato sinistro del cuore portando a ipossia, diminuzione della perfusione degli organi terminali, acidosi e cianosi. L'ipossiemia e l'acidosi sono potenti vasocostrittori che portano a loro volta ad un aumento della PVR e quindi al peggioramento della PPH. Un'elevata resistenza vascolare polmonare persistente determina inoltre un'ipertrofia del ventricolo destro e nei casi più gravi può portare a una sua dilatazione e quindi insufficienza ventricolare destra che può ridurre ulteriormente il flusso sanguigno polmonare e peggiorare l'ipossiemia. La disfunzione del ventricolo destro può compromettere la funzione del ventricolo sinistro a causa della dipendenza funzionale interventricolare. Una scarsa funzionalità del ventricolo sinistro può ridurre la gittata cardiaca portando a una scarsa perfusione degli organi terminali e ad acidosi, e quindi ad un ulteriore peggioramento della PPH. Una grave disfunzione del ventricolo sinistro può anche compromettere il suo riempimento a causa della scarsa *compliance*, che può portare ad un aumento della pressione atriale sinistra e polmonare con conseguente insufficienza polmonare (Singh e Lakshminrusimha 2021). Nei casi gravi di PPH si instaura quindi un circolo vizioso finché la fisiopatologia alterata non viene modificata.

Abbiamo visto come la condizione di ipossia e acidosi in un puledro con PPH peggiorano la situazione rafforzando il pattern di circolazione fetale. Il trattamento di questa condizione consiste quindi nel somministrare ossigeno (che è anche tra i più potenti vasodilatatori polmonari) per via intra-nasale o se necessario con intubazione, allo scopo di risolvere sia l'ipossia che l'acidosi. L'intubazione e la ventilazione meccanica con 100% di O<sub>2</sub> ha anche una funzione diagnostica (Wilkins 2003): se il fallimento respiratorio è causato da shunt intrapolmonare o da un alterato rapporto ventilazione/perfusione, in seguito a ventilazione meccanica con 100% O<sub>2</sub>, la PaO<sub>2</sub> dovrebbe superare i 100 mmHg. Se invece PaO<sub>2</sub> non aumenta si sospetta PPH o uno shunt extra-polmonare da destra a sinistra dovuto ad anomalia cardiaca congenita.

Bisogna tuttavia fare attenzione nell'utilizzo dell'ossigeno perché l'esposizione ad eccessivi livelli di iperossia promuove la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che provocano danni polmonari oltre che costrizione delle arterie polmonari e ridotta risposta a NO (Singh e Lakshminrusimha 2021).

In caso di puledri che non rispondono alla ventilazione meccanica con solo O<sub>2</sub> al 100%, si è visto un certo miglioramento in seguito all'aggiunta di NO al gas ventilatorio con concentrazione iniziale approssimata a 20ppm (Wilkins 2003). Questo perché NO ha un potente effetto vasodilatatore e se inalato ha minimi effetti sulla circolazione sistemica. Al contrario, sostanze vasodilatatrici  $\alpha$ -bloccanti come la prostaciclina e la tolazolina, hanno come effetti collaterali tachicardia e grave ipotensione sistemica.

I principi generali di gestione per il neonato affetto da PPH comprendono inoltre il mantenimento della temperatura fisiologica, degli elettroliti (in particolare calcio e magnesio), del glucosio, supporto nutrizionale, evitamento dello stress ed eventuale gestione con sedazione e analgesia (Singh e Lakshminrusimha 2021).

Nei neonati la diagnosi di PPHN viene fatta tramite ecocardiografia, con cui si verifica la presenza e la direzione degli shunt attraverso il dotto arterioso e il forame ovale. Con l'ecocardiografia si escludono anche difetti cardiaci congeniti: in caso di PPHN infatti il cuore è strutturalmente normale ed è l'elevata resistenza vascolare polmonare che causa gli *shunt* (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

### **2.1.2 SINDROME DA ASPIRAZIONE DI MECONIO (MAS)**

Per meconio si intende il contenuto sterile accumulato nell'intestino del feto durante la gestazione, che deve essere espulso entro le 6 ore dopo la nascita (in genere l'espulsione è simultanea alla prima suzione in quanto questa attiva la peristalsi). Ha una consistenza viscosa e colorito verdastro e potrebbe essere espulso prematuramente dall'intestino fetale in caso di ipossia intrauterina. È composto principalmente da secrezioni gastrointestinali, sali biliari, succo pancreatico, cellule epiteliali desquamate, lanugine, liquido amniotico e sangue, oltre a componenti pro-infiammatorie come IL-1, IL-6, IL-8 e TNF, enzimi proteolitici come la fosfolipasi A<sub>2</sub>, acidi grassi liberi, bilirubina, emoglobina e colesterolo. Queste sostanze, se inalate, oltre a causare ostruzione delle vie aeree, interagiscono con l'epitelio alveolare, attivano il sistema immunitario attraverso la segnalazione chemiotattica dei neutrofili, stimolano la produzione di specie reattive dell'ossigeno

(ROS) e l'apoptosi. Questo processo infiammatorio può essere accompagnato da edema polmonare e da locale può evolversi in una risposta infiammatoria sistemica (Mota-Rojas et al. 2022).

La sindrome da aspirazione del meconio (MAS) è una condizione che provoca stress respiratorio, ipossia e acidosi nei neonati, e può portare anche a morte. Nei puledri la mortalità associata a questa sindrome è del 4%. Il meccanismo patogenetico risiede nell'interazione del meconio con le cellule polmonari alveolari, oltre che nella risposta infiammatoria, nell'inattivazione del surfattante e nell'apoptosi o necrosi di macrofagi alveolari e di cellule epiteliali e endoteliali (Mota-Rojas et al. 2022). L'ostruzione delle vie aeree distali, inoltre, può risultare in soffocamento o atelettasia regionale, fenomeni di *air trapping* distali all'ostruzione, alterazione del rapporto ventilazione/perfusione, distensione e possibile rottura alveolare con conseguente enfisema interstiziale e pneumotorace (figura 2.1).

L'aspirazione del meconio sembra essere secondaria ad una condizione di asfissia acuta prima o durante il parto, al successivo passaggio del meconio vicino al feto e alla conseguente aspirazione del meconio durante gli sforzi respiratori fetali. Le vie aeree e gli alveoli dei feti affetti da MAS contengono meconio, cellule infiammatorie, mediatori dell'infiammazione, fluido dovuto all'edema, proteine e altri detriti (Wilkins 2003).

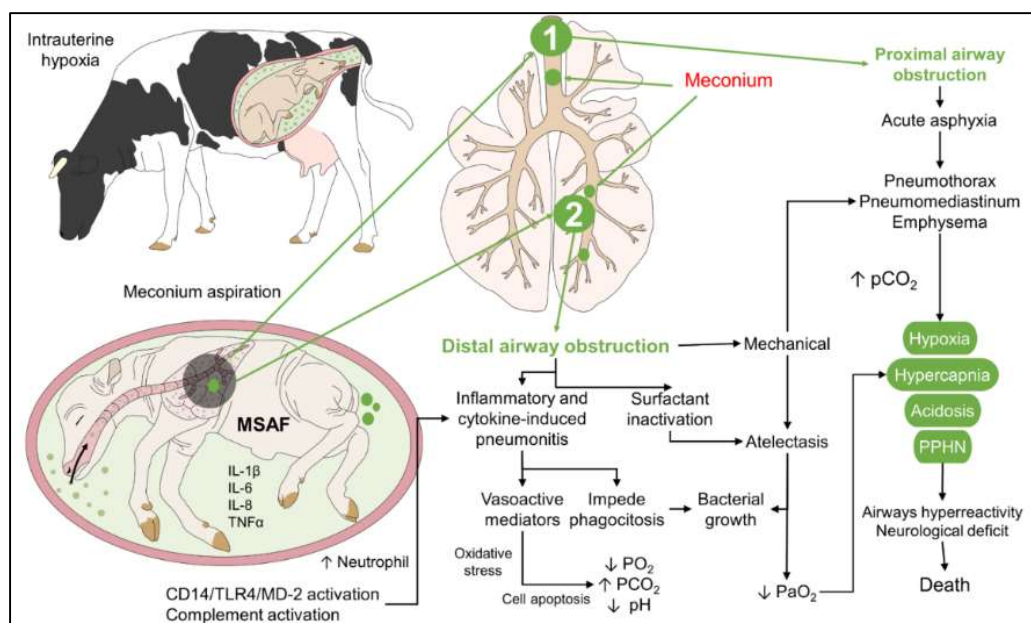


FIGURA 2.1: l'ipossia intrauterina è la principale responsabile dell'aspirazione del meconio, che provoca ostruzione nelle vie aeree prossimali e distali. Nel caso di ostruzione delle vie aeree prossimali, l'asfissia acuta può portare a pneumotorace ed enfisema, causando ipossia, ipercapnia, acidosi e ipertensione polmonare persistente (PPHN). L'ostruzione delle vie aeree distali induce intrappolamento d'aria e atelettasia. Questo stesso effetto può essere osservato

dopo la risposta infiammatoria degli alveoli e l'inattivazione del surfactante. La principale conseguenza dell'ipossia prolungata è l'iperreattività delle vie aeree e il deficit neurologico che possono causare mortalità neonatale (Mota-Rojas et al. 2022). CD14: cluster di differenziazione 14; IL: interleuchina; MD-2: proteina MD-2; MSAF: liquido amniotico con meconio; PaO<sub>2</sub>: pressione parziale dell'ossigeno; PCO<sub>2</sub>: pressione parziale dell'anidride carbonica; PPHN: ipertensione polmonare persistente nel neonato; TLR4: recettore toll-like 4; TNF- $\alpha$ : fattore di necrosi tumorale alfa.

La presentazione clinica ha diversi gradi di gravità, passando da una lieve forma di compromissione respiratoria a una forma più grave che porta a morte perinatale nonostante la ventilazione meccanica. I segni prevalenti sono lesioni polmonari, ipossia, acidosi e polmonite con suscettibilità a infezioni. Attualmente in umana i trattamenti della MAS comprendono la somministrazione di surfactante combinato con ventilazione parziale del liquido e lavaggio polmonare col surfactante (Wilkins 2003). Potrebbe essere utile valutare terapie combinate ad esempio con surfactante e glucocorticoidi, così come l'uso di vasodilatatori, sia per ridurre l'ipertensione polmonare che per evitare ipossia e acidosi nel neonato. Insieme a questi trattamenti è suggerita l'assistenza ventilatoria non invasiva, al fine di promuovere il ricovero e ridurre il danno polmonare (Mota-Rojas et al. 2022).

### **2.1.3 SINDROME EQUINA DA INSUFFICIENZA RESPIRATORIA NEONATALE (NERDS)**

NERDS era in precedenza chiamata "patologia delle membrane ialine". È una patologia distinta da ALI e ARDS (vedi dopo) per la diversa patogenesi. La causa dell'insufficienza respiratoria progressiva in caso di NERDS è l'imaturità polmonare che porta a carenza e disfunzione del surfactante. Questa patologia, infatti, riguarda principalmente i puledri nati prematuri, prima che la produzione di surfactante sia completamente stabilita. I fattori di rischio predisponenti comprendono: una gestazione inferiore a 290 giorni o inferiore all'88% della durata media della gestazione di quella fattrice, un parto indotto o un parto cesareo (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

In caso di NERDS La funzione respiratoria può essere compromessa sin dalla nascita o potrebbe apparire inizialmente normale ma nelle successive 24-48 ore comincia a svilupparsi atelettasia e insufficienza respiratoria progressiva. Clinicamente si può osservare tachipnea persistente, dilatazione delle narici, respiro paradossso e all'emogasanalisi si evidenzia ipossiemia persistente (<60mmHg) e progressiva ipercapnia. Questa sindrome è simile a diverse altre patologie respiratorie ma in caso di NERDS la conta leucocitaria e il fibrinogeno sono normali e prima di fare

diagnosi bisogna escludere difetti cardiaci congeniti (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

#### **2.1.4 SINDROME DA ASFISSIA PERINATALE (PAS)**

La sindrome da asfissia perinatale (PAS) era conosciuta un tempo come sindrome da mal adattamento. Si tratta di una patologia multi-sistemica, risultato di una compromissione dell'apporto di ossigeno alle cellule, dovuta in genere alla combinazione di ipossiemia (diminuzione della concentrazione di ossigeno nel sangue) e ischemia (riduzione della perfusione tissutale). PAS può causare diverse anomalie, ma le più significative sono le convulsioni (vedi caso clinico 2) dovute all'encefalopatia (Galvin e Collins 2004). Sono state descritte due categorie di PAS: la prima riguarda i puledri che hanno avuto un parto normale e che mostrano l'inizio dei segni clinici nelle prime 24h di vita; la seconda categoria, con prognosi peggiore, riguarda puledri che hanno avuto un parto distocico e che sin dalla nascita si presentano deboli e con stato del sensorio alterato (Galvin e Collins 2004).

Ci sono diversi fattori che possono essere la causa di PAS (Galvin e Collins 2004):

- 1) Fattori materni: sono tutti i fattori che causano ipotensione o ridotta ossigenazione tissutale. Comprendono patologie respiratorie, endotossiemia, emorragie, anemia, chirurgia o parto cesareo.
- 2) Fattori placentari: patologie placentari compromettono la perfusione utero-placentare. Questa categoria comprende placentiti, separazione utero-placentare cronica o separazione utero-placentare acuta/prematura.
- 3) Fattori fetali: gravidanze gemellari (riducono l'area di placenta disponibile per la perfusione di ciascun feto e predispongono a parto distocico), anomalie congenite, distocia, aspirazione del meconio e condizioni che riducono l'ossigenazione tissutale e il flusso sanguigno del neonato come sepsi, prematurità e dismaturità.

La sindrome da asfissia perinatale coinvolge diversi sistemi di organi (vedi tabella 1), tra cui quello respiratorio (Vaala 1999). Il danno più significativo riguarda il sistema nervoso centrale: l'asfissia causa, infatti, encefalopatia ipossico-ischemica (HIE), associata con emorragie, edema e necrosi. Un danno ulteriore all'encefalo è causato dalle ripetute convulsioni, che sono frequenti in caso di grave encefalopatia: queste causano infatti ipoventilazione e apnea (che aggravano l'ipossiemia e l'ipercapnia), l'aumento della pressione arteriosa e del flusso sanguigno cerebrale, un danno neuronale progressivo dovuto all'eccessivo rilascio di amminoacidi eccitatori (come il glutammato)

e il consumo delle riserve di energia del sistema nervoso centrale. I puledri neonati che soffrono di HIE possono mostrare una grande varietà di sintomi neurologici come nervosismo, stordimento, sonnolenza, difficoltà ad alzarsi, letargia, ipotonia o ipertonia, convulsioni, rigidità estensoria, *head pressing*, vocalizzazioni anomale, mancanza di riflesso di suzione, disfagia e conseguente sviluppo di polmonite *ab ingestis* (vedi caso clinico 4), *head tilt*, respiro irregolare, apnea, bradipnea, difetti propriocettivi, coma e morte (Vaala 1999). Prima di considerare la PAS come causa più probabile dei sintomi neurologici bisogna però escludere le patologie in diagnosi differenziale, che comprendono disordini metabolici (ipocalcemia, ipomagnesemia, ipo/ipernatriemia, ecc), disordini infettivi (meningite settica, etticemia/endotossiemia e infezione da EHV1), malformazioni come l'idrocefalo, trauma cranico, trauma vertebrale e intossicazione (Vaala 1999).

In seguito ad asfissia si ha una redistribuzione dell'*output* cardiaco fetale verso gli organi centrali come il cuore e il cervello (Katz 2006) e questo provoca una ridotta perfusione e conseguente danno renale, gastroenterico, epatico, surrenalico e paratiroideo. La PAS altera anche le funzioni cardiopolmonari. La risposta polmonare all'ipossia e acidosi comprende (Vaala 1999):

- Aumento della resistenza vascolare polmonare
- Ipertensione polmonare e aumento della pressione atriale
- Persistenza del flusso sanguigno da destra a sinistra attraverso il dotto arterioso e il forame ovale. Quando persistono questi *pattern* di circolazione fetale l'ipossiemia si aggrava.

In seguito alla vasocostrizione polmonare causata dall'ipossia, inoltre, l'apporto di substrati ai pneumociti diminuisce e viene ridotta la produzione di surfactante con conseguente atelettasia secondaria. L'asfissia può anche influenzare il centro del respiro risultando in *pattern* respiratori anomali, come episodi di apnea prolungata. Se l'asfissia causa il passaggio di meconio *in utero* questo può risultare nella sindrome da aspirazione del meconio, che comporta polmonite chimica e ostruzione meccanica delle vie aeree. Gli effetti dell'asfissia sulla funzione miocardica comprendono una ridotta contrattilità, insufficienza ventricolare sinistra, insufficienza tricuspide e insufficienza cardiaca che può portare a ipotensione sistemica e ad ulteriore diminuzione della perfusione renale e polmonare. Puledri con insufficienza cardiopolmonare possono mostrare segni di insufficienza respiratoria con tachipnea, dispnea, tachicardia e ipotensione (Vaala 1999).

Organ System	Clinical Signs	Laboratory Findings	Pathology Lesions
CNS	Hypotonia, hypertonia, seizures, coma, loss of suckle, proprioceptive deficits, apnea	Increased ICP, increased BBB permeability and albumin quotient	CNS hemorrhage, edema, ischemic necrosis
Renal	Oliguria, anuria, generalized edema	Azotemia, hyponatremia, hypochloremia, abnormal urinalysis	Tubular necrosis
Gastrointestinal	Colic, ileus, abdominal distension, bloody diarrhea, gastric reflux	Occult blood (+) feces and reflux, pneumatosis intestinalis	Ischemic mucosal necrosis, enterocolitis, ulceration
Respiratory	Respiratory distress, tachypnea, dyspnea, rib retractions	Hypoxemia, hypercapnea, respiratory acidosis	Hyaline membrane disease, atelectasis, meconium aspiration, pulmonary hypertension
Cardiac	Arrhythmia, weak pulses, tachycardia, edema, hypotension	Hypoxemia, elevated myocardial enzymes	Myocardial infarcts, valvular insufficiency, PFC
Hepatic	Icterus, abnormal mentation	Hyperbilirubinemia, elevated liver enzymes	Hepatocelellular necrosis, biliary stasis
Endocrine: adrenals, parathyroids	Weakness, apnea, seizures	Hypocortisolemia, hypocalcemia	Necrosis, hemorrhage

TABELLA 1: aspetti clinico-patologici associati a PAS (Vaala 1999)

In caso di sindrome da asfissia perinatale spesso l'emocromocitometrico risulta normale, ma se è presente sepsi concomitante può esserci leucopenia o leucocitosi. In caso di asfissia da moderata a severa ci può essere acidosi con pH inferiore a 7,3. La depressione respiratoria porta a ipossiemia ( $\text{PaO}_2 < 60 \text{ mmHg}$ ) e ipercapnia ( $\text{PaCO}_2 > 65 \text{ mmHg}$ ). Un aumento della creatina chinasi può essere dovuto ad un insulto ipossico-ischemico del feto *in utero* o durante il parto, ma può essere anche un indicatore di danno muscolare alla nascita o successivo. Un aumento della creatinina nel plasma nelle prime 24 ore di vita può avvenire nel neonato senza che ci sia danno renale e in genere è indice di condizioni materne e/o placentari non ottimali; se tuttavia non si riduce nei giorni successivi bisogna prendere in considerazione anche un danno renale (Galvin e Collins 2004).

Un puledro con convulsioni o con stato del sensorio ipereccitato deve essere messo in un ambiente il più possibile buio e silenzioso per minimizzare gli stimoli esterni. I puledri che stanno in decubito devono essere mantenuti al caldo e asciutti, in posizione sternale e bisogna cambiare spesso la loro posizione in modo da evitare le piaghe da decubito. Per le convulsioni si utilizza il diazepam (via endovenosa), che ha un effetto rapido ma di breve durata, quindi può richiedere somministrazioni frequenti. In caso di convulsioni gravi viene usato il fenobarbitale, che deve essere somministrato lentamente per via endovenosa per evitare depressione respiratoria. Bisogna evitare l'utilizzo di ketamina e xilazina nei puledri con HIE perché possono aumentare la pressione intracranica (Katz 2006). Se il puledro non allatta autonomamente è necessario somministrare il latte ogni ora tramite sonda naso-gastrica, per un totale del 10% del suo peso al giorno. In caso di segni clinici di insufficienza gastroenterica si può utilizzare la via parenterale come supporto o in sostituzione totale alla via enterale. La fluido terapia deve soddisfare i fabbisogni di mantenimento ma bisogna fare attenzione perché un sovraccarico di fluidi rischia di aumentare l'edema cerebrale. Per valutare la correttezza della quantità di fluidi somministrata il metodo più accurato è valutare la pressione sanguigna, lo stato di idratazione e l'*output* urinario (in particolare il rapporto tra fluidi somministrati e il volume di urine, rapporto che dovrebbe essere basso). Il peso specifico delle urine

deve essere tra 1.001 a 1.009. In animali in cui viene usata nutrizione parenterale può verificarsi ipokaliemia secondaria a iperglicemia e in questi casi è necessario un supplemento di potassio. In caso di fallimento di trasferimento passivo può essere necessaria la somministrazione di plasma iperimmune (Galvin e Collins 2004).

I puledri in decubito (vedi caso clinico 1, 2 e 3) sono ad alto rischio di sviluppare infezioni, quindi la terapia antibiotica ha un ruolo importante nella profilassi e nel trattamento dei puledri con PAS. La presenza di sepsi concomitante o secondaria è un indice prognostico negativo. Ulteriori terapie per puledri con PAS comprendono (Galvin e Collins 2004):

- dimetilsolfossido (DMSO), per togliere i radicali liberi e ridurre l'infiammazione cerebrale;
- vitamina E, un antiossidante che riduce la perossidazione lipidica negli organi colpiti;
- vitamina C, antiossidante e neuroprotettivo;
- tiamina, riduce la morte neuronale indotta da glutammato;
- magnesio solfato, riduce l'afflusso di calcio nelle cellule, dato che in neonati con PAS l'accumulo di calcio nelle cellule causa la morte neuronale
- allopurinolo, che è stato visto essere efficace se usato post-insulto nei neonati umani con danno ipossico-ischemico.

I puledri con PAS necessitano anche di supporto respiratorio e la maggior parte di essi trae beneficio dalla somministrazione intra-nasale di O<sub>2</sub> umidificato. Tramite l'emogasanalisi è possibile valutare lo stato di ossigenazione e per aumentare PaO<sub>2</sub> è utile mantenere il puledro in posizione sternale. I periodi di apnea possono essere secondari alla somministrazione di fenobarbitale o causati dal danno ipossico al centro respiratorio e possono essere trattati con caffeina, che è uno stimolante respiratorio centrale con minimi effetti collaterali (fare comunque attenzione perché il sovradosaggio può provocare stimolazione al sistema nervoso centrale, al miocardio e al sistema gastroenterico). In caso di grave depressione respiratoria può essere necessaria la ventilazione meccanica (Galvin e Collins 2004; Katz 2006).

Con l'adeguato supporto il 70-75% dei puledri con sindrome da asfissia perinatale e HIE guariscono e la maggior parte di essi non mostrano conseguenze nella carriera sportiva. I puledri con prognosi peggiore sono quelli che sviluppano sepsi, non mostrano segni di miglioramento neurologico nei primi 5 giorni di vita, rimangono in stato comatoso e mostrano convulsioni gravi e ricorrenti. I puledri dismaturi e prematuri che hanno sofferto di ipossia prolungata in utero sono più predisposti a sviluppare ipotensione e episodi convulsivi (Vaala 1999).



## CASO CLINICO 1

Puledro nato da due giorni, incapace di raggiungere la stazione. Presenta elevato sforzo respiratorio, con aumento del respiro addominale e narici a campana (figura 2.2). Frequenza respiratoria: 101 atti/minuto, frequenza cardiaca 154 battiti/minuto, temperatura: 39.1, pressione media: 98 mmHg. Mucose rosee e tempo di riempimento capillare 2 secondi. Glicemia: 226 mg/dl.



FIGURA 2.2: il puledro presenta evidente sforzo respiratorio e narici a campana.

Diagnosi d'entrata: sindrome da asfissia perinatale. All'ecografia toracica sono evidenziati degli ascessi polmonari (figura 2.3).

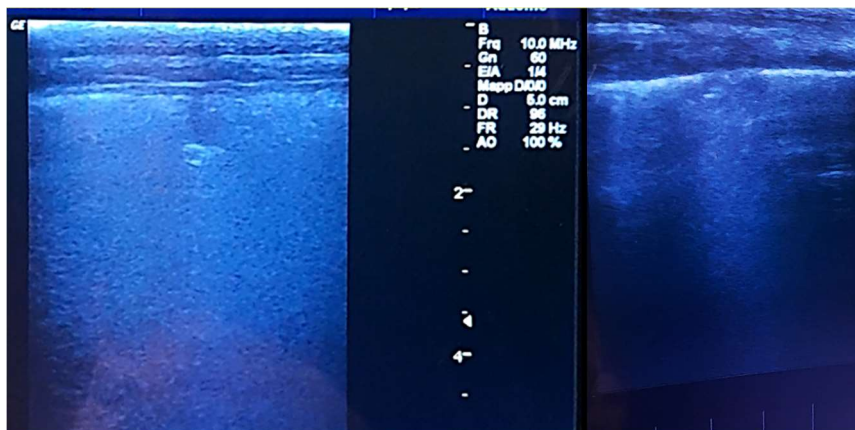


FIGURA 2.3: all'ecografia toracica sono visibili ascessi e aree con edema polmonare

## CASO CLINICO 2

Puledra nata prematura. Si presenta ipotermica (T 35.6), con crisi convulsive (figura 2.4). All'ecografia polmonare viene evidenziato un piccolo numero di *comet tail* (figura (2.5))



FIGURA 2.4: la puledra presenta ematoma periorbitale a causa di un trauma dovuto alle convulsioni. Le è stata posizionata una sonda rinogastrica per l'alimentazione enterale e un catetere endovenoso a lunga permanenza.

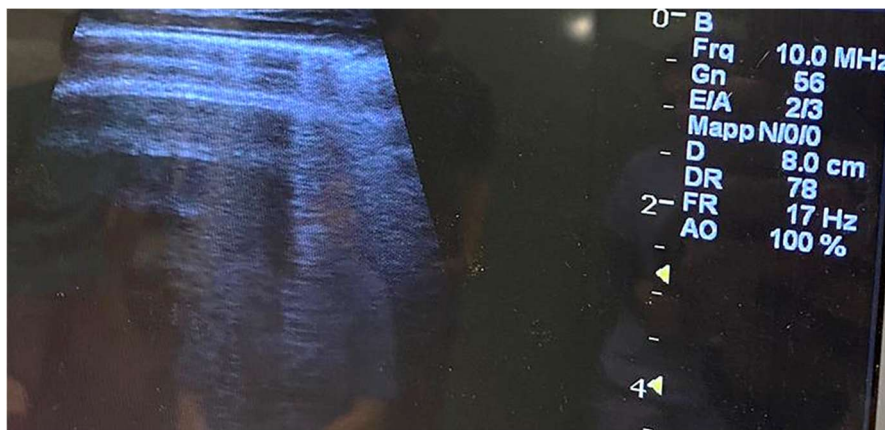


FIGURA 2.5: ecografia toracica con *comet tail* visibili.

Nei giorni successivi viene iniziata anche la terapia ventilatoria, con la somministrazione di O<sub>2</sub> con flusso di 2l/min ogni volta che la puledra mostra segni di agitazione. La puledra presenta respiro stertoroso e mostra sforzo respiratorio aumentato; le comet tail sono tuttavia diminuite di numero (figura 2.6)

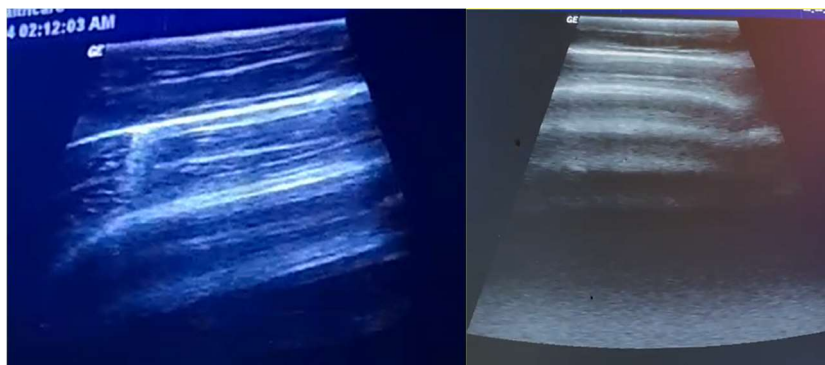


FIGURA 2.6: all'ecografia eseguita 6 e 7 giorni dopo le *comet tail* sembrano diminuire di numero, con intere aree polmonari prive di reperti ecografici significativi.

### CASO CLINICO 3

Puledro nato durante la notte, presentato in clinica alle 17 del giorno dopo. All'arrivo è incapace di mantenere la stazione (figura 2.7), presenta respiro addominale, temperatura 37.5, tempo di riempimento capillare 4, pressione media 53. All'emogasanalisi viene evidenziato uno stato di acidosi metabolica (pH 7.290) e lattati superiori a 20mmol/L. All'ecografia toracica sono visibili *comet tail* in articolare nei quadranti ventrali (figura 2.8). Diagnosi d'entrata: asfissia perinatale tardiva. Viene iniziata subito la terapia ventilatoria con 2L/min di O<sub>2</sub>. Tramite catetere a lunga permanenza viene sottoposto a fluidoterapia e gli viene somministrato plasma iperimmune. Il puledro è morto poche ore dopo essere stato ricoverato.



FIGURA 2.7: all'arrivo il puledro è incapace di mantenersi in stazione, presenta aumento dello sforzo respiratorio e respiro addominale



FIGURA 2.8: ecografia toracica dove è visibile il cuore e il polmone circostante. Le *comet tail* sono distribuite sulla superficie in particolare nei quadranti craniali.

#### CASO CLINICO 4

Puledro con sindrome da asfissia perinatale e convulsioni. Ha sviluppato successivamente anche una polmonite *ab ingestis*. All'ecografia si rilevano aree di consolidamento polmonare (figura 2.9) e *comet tail* diffuse (figura 2.10).

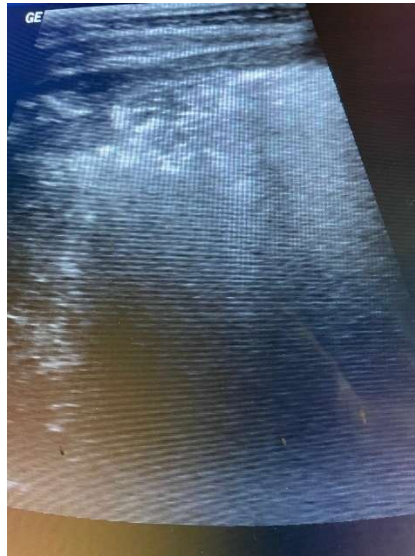


FIGURA 2.9: area di consolidamento polmonare circondata da polmone areato. Sono presenti broncogrammi fluidi, osservabili come strutture anecogene tubulari circondate da una parete iperecogena all'interno del parenchima polmonare.



FIGURA 2.10: ecografia toracica con *comet tail* ben visibili.

## 2.2 SEPSI

Patologie respiratorie infettive possono essere parte di un'infezione multiorgano o di un quadro di sepsi. La polmonite batterica è un problema frequente in puledri di tutte le età, ma l'eziologia varia con la crescita: in puledri più anziani e in puledri svezzati è frequente la polmonite primaria (causata in genere da batteri che risiedono normalmente nelle prime vie respiratorie), mentre i puledri neonati è più probabile che sviluppino polmonite in seguito a sepsi (Reuss e Cohen 2015). Un danno polmonare acuto o una sindrome da insufficienza respiratoria acuta può quindi essere il risultato della risposta infiammatoria sistemica dovuta a un quadro di sepsi. La prevalenza di polmoniti in puledri con sepsi varia dal 19% al 50% (Reuss e Cohen 2015).

L'infezione può avvenire nell'utero, durante il parto o nel periodo post-natale. Nei puledri neonati la sepsi è il risultato frequente del fallimento del trasferimento dell'immunità passiva. Possibili vie di entrata del patogeno sono il tratto respiratorio, gastro-intestinale e il cordone ombelicale. Nelle prime 24h di vita l'intestino ha maggiore permeabilità necessaria per permettere il trasferimento dell'immunità passiva tramite il colostro; questa permeabilità però permette anche l'assorbimento di batteri attraverso gli enterociti e se i patogeni non vengono controllati dalle IgG possono superare la risposta immunitaria innata e causare infezione sistemica. La traslocazione batterica intestinale ha come conseguenza tipica la batteriemia di patogeni Gram-negativi e l'endotossiemia, definita come la presenza di lipopolisaccaridi di batteri Gram-negativi nel sangue. Altre possibili vie di invasione batterica che possono risultare in un quadro di sepsi sono l'apparato urogenitale oppure una barriera cutanea o mucosale danneggiata (Taylor 2015). Cattive condizioni sanitarie e cure inappropriate al cordone ombelicale costituiscono fattori di rischio.

La sepsi è definita come una risposta infiammatoria sistemica (SIRS) dovuta ad un'infezione, che nel caso degli equini è prevalentemente batterica e che provoca segni clinici quali ipertermia, abbattimento del sensorio, anoressia, disidratazione, tachicardia e tachipnea (Reuss e Cohen 2015; Taylor 2015). La sepsi è una delle principali cause di morbilità e mortalità in puledri neonati ma anche in cavalli maturi: la percentuale di sopravvivenza varia da 46% a 65% (Wong e Wilkins 2015). È importante fare una diagnosi più precocemente possibile in modo da poter impostare una terapia adeguata e di aumentare le possibilità di recupero, riducendo quindi morbilità e mortalità.

La patogenesi della SIRS è complessa ed è il risultato dell'attività di mediatori pro-infiammatori e anti-infiammatori (Wong e Wilkins 2015): la reazione pro-infiammatoria dell'ospite ha lo scopo di eliminare il patogeno ma può risultare in un danno tissutale, mentre la risposta anti-infiammatoria, che ha lo scopo di controllare il danno tissutale locale e sistemico, è responsabile dell'aumento di

suscettibilità dell'ospite ad infezioni secondarie. In caso di infezione batterica la risposta infiammatoria è attivata dal riconoscimento da parte del sistema immunitario dei PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*), che provoca l'attivazione di una cascata di segnale che termina con l'induzione della risposta immunitaria innata e con la produzione di citochine infiammatorie, interferone-gamma e altri mediatori. Se lo stimolo attivatorio (in questo caso i batteri) supera la capacità dell'ospite di contenere la risposta infiammatoria locale, l'infiammazione diventa sistemica e risulta in un danno ai tessuti piuttosto che nella protezione: l'eccessiva o sbilanciata produzione di mediatori pro-infiammatori (come TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL 12 e IFN) contribuisce alla SIRS. Il danno alle cellule e agli organi dell'ospite può essere causato anche dall'attivazione, in seguito allo stimolo infiammatorio, di neutrofili e macrofagi che producono specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto (perossido di idrogeno, acido ipocloroso, radicale ossidrilico, ossido nitrico e anione perossinitrito). Le citochine, inoltre, insieme all'aumento della concentrazione di prostaglandine e leucotrieni e alla trasmigrazione dei neutrofili e dei monociti, possono causare disfunzione endoteliale che porta a vasodilatazione e all'aumento di permeabilità capillare; questo provoca ipotensione, emocoagulazione, stravaso macromolecolare e edema. L'esposizione ai PAMPs porta infine all'attivazione del sistema serin-proteasi, che comprende anche la cascata di coagulazione e del complemento. L'infiammazione può quindi risultare in coagulopatie (anche perché le citochine infiammatorie possono bloccare mediatori antinfiammatori come l'antitrombina e la proteina C-reattiva), che contribuiscono allo sviluppo di micro-trombi e ad una possibile disfunzione dell'organo. L'attivazione eccessiva del complemento contribuisce al danno dell'ospite: l'anafilossina C5a è fortemente pro-infiammatoria e l'interazione con i suoi recettori (C5aR e C5L2) porta all'inibizione delle vie di segnale dell'immunità innata e ad una funzione fagocitica compromessa, una disfunzione dei neutrofili, immunoparalisi, coagulopatie e fallimento multiorgano. La risposta infiammatoria coinvolge anche il sistema neuroendocrino e il dolore che deriva dai mediatori infiammatori ha un impatto sui nervi somatosensoriali locali e riduce la soglia di stimolazione dei nocicettori.

I soggetti con SIRS sono però anche a rischio di sviluppare immunosoppressione: in seguito a un'eccessiva risposta infiammatoria, infatti, si può verificare una iper-stimolazione della risposta anti-infiammatoria. Le citochine antinfiammatorie (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e TGF- $\beta$ ) promuovono lo sviluppo della risposta immunitaria umorale stimolando il differenziamento dei linfociti-B e la produzione di anticorpi e diminuiscono i mediatori pro-infiammatori. Un'eccessiva attivazione dei mediatori antinfiammatori può risultare nella sindrome di risposta antinfiammatoria compensatoria (CARS). L'ospite con sepsi risulta quindi più suscettibile a infezioni secondarie.

La sepsi nei neonati si può presentare in diversi modi, con molti puledri che presentano batteriemia (Taylor 2015). I microorganismi isolati più frequentemente in puledri batteriemici sono Gram-negativi e l'organismo eziologico isolato più spesso dal sangue di puledri con sepsi è *E. coli*; altri patogeni comuni sono *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp, *Enterobacter* spp. e *Actinobacillus* spp. Negli ultimi anni però è stato osservato un aumento della percentuale dei batteri isolati Gram-positivi (*Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp., con l'aumento della prevalenza di *Enterococcus* spp.).

Altre manifestazioni di sepsi nei puledri, oltre alla SIRS e a batteriemia, comprendono enterocoliti (32-36% dei puledri con sepsi), onfaliti/onfaloflebiti (intorno al 13% dei puledri con sepsi), meningoencefaliti, artriti settiche (14-38% dei puledri con sepsi) e polmoniti (Taylor 2015). L'enterocolite è causata spesso da un patogeno intestinale primario che danneggia la mucosa intestinale e permette quindi la traslocazione batterica (i principali batteri sono *Clostridium perfringens* di tipo A e C, *Clostridium difficile* e *Salmonella* spp.) e di conseguenza la sepsi (vedi caso clinico 5). Un'altra via di accesso dei batteri al flusso sanguigno del neonato, anche se meno comune di quella intestinale, è quella attraverso l'ombelico; una possibile conseguenza in caso di onfaloflebite è lo sviluppo dell'uraco pervio. La meningoencefalite è una manifestazione rara ma grave in caso di sepsi in puledri neonati e l'organismo isolato più frequentemente è, come nel caso dell'onfaloflebite, l'*E. coli*; sintomi di meningoencefalite comprendono: alterazione dello stato mentale, decubito, debolezza, diminuzione del riflesso di suzione, riflessi pupillari alterati, convulsioni e nistagmo. La diffusione batterica nel sangue può avvenire anche a partire da artriti; circa il 50% dei puledri con artriti settiche hanno più di un'articolazione coinvolta e quelle affette più comunemente sono l'articolazione tibio-tarsica e quella femoro-patellare (in puledri che mostrano versamento articolare o segni di laminite bisogna sempre mettere infezioni ortopediche in diagnosi differenziale).

La polmonite settica in puledri neonati può svilupparsi in seguito a diffusione tramite il sangue in caso di batteriemia, oppure può essere secondaria ad aspirazione. Fattori predisponenti e/o aggravanti per la polmonite settica comprendono (Taylor 2015): sviluppo respiratorio perinatale anomalo, ipossia perinatale o uno stato immunocompromesso. In alcuni casi di SIRS è possibile osservare un aumento di infiltrato nella porzione caudo-dorsale del polmone. L'individuazione di alterazioni polmonari può essere utile per una diagnosi precoce di sepsi, ma bisogna tenere conto che in molti puledri con sepsi e coinvolgimento polmonare la frequenza respiratoria può apparire normale e non è detto che vengano rilevate alterazioni all'auscultazione polmonare. Per identificare



patologie polmonari è quindi raccomandato l'utilizzo della diagnostica per immagini, in quanto segni di stress respiratorio e ipossiemia sono spesso vaghi.

La diagnosi di sepsi è complessa perché i criteri di SIRS non sono specifici e l'isolamento batterico e le colture cellulari hanno bassa sensibilità. Attualmente sono studiati marcatori nel siero per il loro ruolo potenziale nella diagnosi e nella prognosi della sepsi (Taylor 2015).

## CASO CLINICO 5

Puledro con setticemia: non ha assunto colostro alla nascita e presenta polmonite ed enterite da clostridi. Presenta temperatura bassa e ipoglicemia (parametri indicativi di sepsi), stato del sensorio gravemente depresso (figura 2.11) e si evidenzia un aumento di sforzo respiratorio.

Il puledro è sottoposto ad alimentazione parenterale.



FIGURA 2.11: puledro con stato del sensorio gravemente depresso, incapace di tenere la stazione. Gli viene somministrata alimentazione parenterale.

L'ecografia toracica evidenzia un gran numero di *comet tail* (figura 2.12) in particolare nei lobi craniali. Sono presenti anche aree di epatizzazione polmonare.



FIGURA 2.12: All'ecografia polmonare è visibile un gran numero di *comet tail*, in particolare nei lobi craniali.



## **2.3 POLMONITI INFETTIVE**

Le patologie respiratorie infettive sono una causa comune di morbidità e mortalità nei puledri fino ai sei mesi di età. L'eziologia di queste patologie varia, anche se i virus sono spesso gli agenti primari. Lo svezzamento è considerato un fattore di rischio per lo sviluppo di patologie respiratorie, tuttavia un altro momento critico corrisponde alle quattro settimane di età, periodo in cui si assiste ad un abbassamento della concentrazione di anticorpi materni nel siero del puledro (Marenzoni et al. 2008). La sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) in puledri neonati, se causata da agenti infettivi, in genere è una conseguenza di sepsi, infezione perinatale da EHV-1 e EHV-4 e infezione da virus dell'arterite equina. In caso di infezione da adenovirus o EHV-2 è riportata una sindrome respiratoria più lieve e presente in genere in puledri immunocompromessi. In puledri più anziani la polmonite bronco-interstiziale e ARDS sono causate, più che da sepsi, da polmoniti batteriche e virali. ARDS è caratterizzato da esordio acuto con tachipnea rapidamente progressiva. L'aumento dello sforzo respiratorio, la cianosi, l'ipossiemia e l'ipercapnia che accompagnano ARDS sono spesso poco responsivi a trattamenti intensivi (antimicrobici, ossigeno-terapia, molecole antinfiammatorie, broncodilatatori e controllo termoregolatorio) e la mortalità spesso supera il 30% (Peek et al. 2004).

### **2.3.1 POLMONITI BATTERICHE**

La polmonite nei puledri di età superiore a un mese è causata in genere da batteri residenti nel tratto respiratorio superiore, mentre la polmonite nei puledri neonati si verifica più spesso in associazione con setticemia attribuibile a batteri aerobi Gram-negativi (Punsmann et al. 2020). La polmonite è una delle più frequenti cause di morbidità e mortalità in puledri da 1 a 6 mesi di vita e polmoniti primarie in genere sono dovute all'aspirazione durante la suzione. L'aspirazione del latte può avere diverse cause (Reuss e Cohen 2015): le più frequenti sono uno scarso riflesso di suzione, debolezza o disfagia associata a prematurità o alla sindrome di mal adattamento neonatale. L'aspirazione può essere causata anche da difetti congeniti come palatoschisi, megaesofago, compressione dell'esofago dovuta ad anomalie vascolari, paralisi periodica iperkaliemica o altre cause di disfunzione faringea. Anche un'impropria alimentazione tramite biberon, un posizionamento o un uso scorretto del tubo nasogastrico o nasofaringeo per l'alimentazione possono risultare in polmonite batterica primaria da aspirazione.

In utero o al momento del parto il puledro può aspirare il meconio e questo risulta nella sindrome da aspirazione del meconio (vedi capitolo 2.1), con una compromissione della respirazione a causa della combinazione di un'ostruzione meccanica delle vie aeree, polmonite chimica (dovuta all'inalazione di sostanze irritanti per i polmoni), edema alveolare e spostamento del surfactante (che porta a una riduzione della *compliance* polmonare e all'ostruzione delle piccole vie aeree causando alterazione del rapporto ventilazione/perfusione). Il meconio è sterile ma spesso si può verificare un'infezione batterica come complicazione secondaria (Reuss e Cohen 2015).

Fattori che diminuiscono l'efficacia dei meccanismi di difesa del tratto respiratorio, come un'elevata temperatura ambientale, agenti ambientali irritanti, sovraffollamento, parassitosi o infezioni virali primarie, predispongono il soggetto a un'infezione batterica (Lakritz et al. 1993).

In altre specie infezioni da batteri come *Rhodococcus equi* e *Pneumocystis carinii* sono riportate solo in animali immunocompromessi, quindi l'elevata incidenza di queste infezioni nei puledri potrebbe essere dovuta a un fisiologico stato di immunodeficienza cellulare nel tratto respiratorio, che viene smascherato a 2-3 mesi di età in seguito all'abbassamento del titolo anticorpale materno (Patterson-Kane et al. 2008).

#### STREPTOCOCCUS EQUI SUB. ZOOEPIDEMICUS

L'agente batterico più comune come causa di polmonite primaria nel puledro è *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus* (Reuss e Cohen 2015), un batterio Gram<sup>+</sup> β-emolitico che può essere isolato da solo o come parte di un'infezione mista. *S. zooepidemicus* è il patogeno opportunista polmonare più comune negli equini: è un batterio commensale delle vie respiratorie superiori, ma un danno alle mucose dovuto ad infezioni virali (ad esempio da EHV-1, EHV-4, dal virus dell'influenza equina o dal virus dell'arterite equina) o situazioni stressanti come un'alta temperatura ambientale, svezzamento e trasporto possono provocare l'inizio della patologia.

#### RHODOCOCCO EQUI

Un secondo agente causa importante di polmoniti batteriche primarie, la cui incidenza sta aumentando probabilmente in seguito all'aumentata densità degli allevamenti ed al cambiamento climatico, è *Rhodococcus equi*. *R. equi* è un batterio Gram<sup>+</sup> intracellulare che infetta preferibilmente i macrofagi, causando una broncopolmonite piogranulomatosa. La patogenicità di *R. equi* consiste nell'abilità di sopravvivere e replicare all'interno di cellule come i macrofagi alveolari; la

proliferazione intracellulare porta alla necrosi del fagocita, di solito accompagnata da una risposta infiammatoria piogranulomatosa che danneggia i tessuti circostanti (Muscatello 2012a). La polmonite da *R. equi* ha un decorso spesso insidioso con segni clinici vaghi come tosse, ipertermia, aumento frequenza e sforzo respiratorio (narici a campana e componente addominale del respiro), aumento frequenza respiratoria, suoni anomali in trachea (rantoli) e in polmoni (crepitii e sibili); lo scolo nasale non è un reperto frequente in puledri con polmonite da *R. equi* (Cohen 2014). La patologia può progredire in insufficienza respiratoria acuta con morte in poche ore o giorni; questa forma acuta è caratterizzata, all'ispezione post-mortem, da polmonite interstiziale con lesioni miliari piogranulomatose (Muscatello 2012a). Nonostante i segni clinici spesso non siano visibili fino al mese di vita, l'infezione sembra avvenire poco dopo la nascita. Lo sviluppo della malattia nei puledri è il risultato di un insieme di fattori (Reuss e Cohen 2015):

- a) **Caratteristiche dell'agente.** *R. equi* per causare polmonite deve avere un plasmide particolare: VapA (*virulence-associated plasmid A*), la cui presenza è necessaria ma non sufficiente per causare polmonite. Ceppi di *R. equi* senza i Vap sono ubiquitari nell'ambiente e nelle feci equine ma non riescono a replicare nei macrofagi e non causano la malattia. Purtroppo, è possibile il trasferimento del plasmide dai ceppi virulenti a quelli non virulenti e questo rende impossibile l'eradicazione dei primi dall'ambiente.
- b) **Fattori ambientali.** L'infezione da *R. equi* avviene tramite inalazione e la concentrazione del batterio nell'aria è associata ad un aumento della probabilità di sviluppo della polmonite. Non sembra invece esserci associazione tra la concentrazione di ceppi virulenti nelle feci materne o nel suolo e lo sviluppo della polmonite. È comunque ipotizzato che le feci dei puledri infetti da *R. equi* siano la fonte principale di contaminazione degli allevamenti con ceppi virulenti: la concentrazione del batterio in feci di soggetti infetti può variare infatti da  $10^6$  a  $10^8$ /g (Muscatello 2012a). La concentrazione di *R. equi* nell'aria è maggiore in stalle e scuderie piuttosto che in pascoli; quindi, i puledri nati e cresciuti al pascolo hanno meno probabilità di sviluppare polmoniti da *R. equi*. Il periodo dell'anno in cui le concentrazioni del patogeno nell'aria aumentano variano a seconda del tipo di *management* e delle differenze geografiche (aumenta quando il clima diventa più caldo, secco e ventoso) e l'incidenza dell'infezione varia nei diversi allevamenti. Altri fattori che aumentano l'incidenza di polmonite da *R. equi* sono un'elevata densità di giumente e puledri, l'elevata numerosità di animali, la presenza transitoria di equini, un ambiente polveroso, suolo secco, poca erba e alte temperature ambientali (questi ultimi fattori promuovono la dispersione del patogeno dal suolo all'aria). L'aria può essere contaminata, oltre che dal suolo, anche dalla presenza di puledri infetti: questi ultimi infatti esalano quantità significativamente maggiori

di *R. equi* virulento rispetto a quelle derivate dal suolo; resta invece ancora da studiare il ruolo di puledri asintomatici che ospitano ceppi virulenti di *R. equi* nel tratto respiratorio (Muscatello 2012b). L'elevata prevalenza dell'infezione nei purosangue rispetto alle altre razze potrebbe essere spiegata col fatto che la rigida regolamentazione dell'allevamento dei purosangue risulta in un'elevata concentrazione di puledri con meno di 3 mesi di età durante la primavera e inizio estate, quando le condizioni metereologiche diventano più calde e polverose e quindi si ha un aumento della concentrazione di ceppi virulenti nell'aria (Muscatello 2012a).

- c) **Fattori individuali.** Solitamente la polmonite da *R. equi* è visibile in puledri tra 1 e i 6 mesi di vita, probabilmente a causa dell'immaturità del sistema immunitario nel puledro (Muscatello 2012a). Sia la risposta immunitaria innata che quella adattativa svolgono un ruolo importante e la risposta Th1 sembra più efficace nel controllo dell'infezione in quanto i Th1 sono una fonte importante di interferone- $\gamma$ , che permette l'attivazione della risposta immunitaria cellulo-mediata. Sebbene il puledro di per sé abbia bassi livelli di INF- $\gamma$ , se stimolato da determinati antigeni, ha la capacità di aumentare la risposta Th1 e la produzione di INF- $\gamma$  (Muscatello 2012a). I puledri immunocompromessi hanno più probabilità di sviluppare la polmonite da *R. equi*: è stato osservato che la concentrazione dei leucociti, e in particolare dei neutrofili, in puledri di 2 e 4 settimane che successivamente hanno sviluppato polmonite era più bassa rispetto a puledri di controllo della stessa età (Chaffin et al. 2004). Il periodo tra 1 e i 3 mesi di vita inoltre corrisponde al momento in cui i titoli anticorpali circolanti sono più bassi, a causa dell'abbassamento degli anticorpi materni e della produzione endogena ancora bassa; questo periodo corrisponde all'età in cui avviene il maggior numero di diagnosi di polmoniti da *R. equi*, quindi anche un basso titolo anticorpale potrebbe contribuire alla suscettibilità età-dipendente dei puledri. Anche l'assenza di IgA nella mucosa nasale durante le prime 4 settimane di vita potrebbe essere un fattore predisponente all'infezione (Muscatello 2012a). Sembra infine esserci un fattore genetico che influenza la suscettibilità individuale all'infezione (Cohen 2014). I cavalli adulti e i puledri con più di 6 mesi di età non immunocompromessi sono resistenti all'infezione.

L'utilizzo di uno *screening* ecografico a 3-6 settimane di età (vedi capitolo 3) sta aumentando negli allevamenti endemici per identificare i puledri con consolidamento polmonare o ascessi diffusi superiori ai 10 mm attribuibili a *R. equi*; questo permette una diagnosi precoce e quindi la riduzione del periodo di trattamento e il miglioramento del risultato terapeutico, oltre a ridurre la diffusione di ceppi virulenti di *R. equi* (Muscatello 2012b). Tramite l'ecografia è possibile individuare anche i

puledri infetti che non svilupperanno segni clinici in seguito alla polmonite, quindi se si utilizza l'ecografia come strumento di controllo si osserva un aumento apparente dell'incidenza della patologia (Cohen 2014). La problematica dell'utilizzo dello *screening* ecografico per l'identificazione dell'infezione riguarda l'utilizzo degli antimicrobici: un aumento dei casi identificati risulta infatti in un aumento, spesso non necessario, di puledri trattati con antimicrobici. Una percentuale di puledri con infezione subclinica con uno o più ascessi inferiori a 1-2cm di diametro osservabili all'ecografia guarisce infatti senza bisogno di trattamento (Muscatello 2012b). Anche l'auscultazione dei polmoni dei puledri due volte a settimana può consentire una precoce diagnosi di polmonite da *R. equi*, tuttavia non è un metodo facilmente praticabile in grandi allevamenti (Muscatello 2012b).

La risposta infiammatoria pio-granulomatosa, gli ascessi e la natura intracellulare del batterio riducono la scelta di molecole antimicrobiche efficaci per trattare l'infezione, che dovrebbero limitarsi a sostanze lipofile a cui *R. equi* è suscettibile in vitro (Muscatello 2012b). Il trattamento utilizzato nelle polmoniti da *R. equi* (vedi anche capitolo 3) consiste nella combinazione di un macrolide (eritromicina, claritromicina, azitromicina) e la rifampicina, utilizzate insieme sia per ridurre il fenomeno dell'antimicrobico resistenza sia per la scarsa efficacia dell'eritromicina nell'ambiente intracellulare, nonostante l'alta concentrazione raggiungibile nei macrofagi alveolari: se usati insieme, il sinergismo di questi agenti potenzia l'effetto contro *R. equi* (Giguère et al. 2012; Muscatello 2012b). Effetti avversi a questi farmaci includono leggera anoressia, colite, bruxismo; l'eritromicina può provocare leggera diarrea auto-limitante e, in alcuni casi, una reazione idiosincratca caratterizzata da grave ipertermia e tachipnea che può portare a morte; per questi motivi negli ultimi anni sono state rese disponibili nuove molecole in sostituzione all'eritromicina: l'azitromicina e la claritromicina che richiedono una somministrazione meno frequente e che hanno minori effetti collaterali (Muscatello 2012b). Negli ultimi anni sta aumentando il fenomeno dell'antimicrobico-resistenza nei confronti dei macrolidi e gli isolati di ceppi di *R. equi* resistenti ai macrolidi sono associati a una prognosi peggiore nei puledri causata da una maggior difficoltà di trattamento e probabilmente da una maggior virulenza dei ceppi resistenti (Cohen 2014). L'avvento di nuovi macrolidi non può essere la soluzione allo sviluppo delle resistenze perché sono comuni i fenomeni di cross-resistenza tra molecole di questa classe. Un'alternativa all'uso degli antimicrobici potrebbe essere la somministrazione giornaliera di maltolato di gallio (20mg/Kg), che mima lo ione ferrico ( $Fe^{3+}$ ) e che quindi, quando preso da *R. equi* (che necessita di ferro per crescere nell'ospite) interferisce con il metabolismo batterico del ferro (Muscatello 2012b). Ad ogni modo il monitoraggio ecografico, ematologico e clinico può aiutare a ridurre la durata del trattamento e, in alcuni casi, eliminare un trattamento non necessario.

L'infezione da *R. equi* può provocare anche patologie extra-polmonari, tra cui le più comuni sono: diarrea (che può essere dovuta anche all'uso degli antimicrobici), enterotiflocolite ulcerativa (in seguito all'ingestione di espettorato contenente alte concentrazioni del batterio), presunta sinovite immuno-mediata (soprattutto in articolazione tarso-crutale, del carpo e del nodello), osteomielite, ascessi renali o epatici, linfo-adenite granulomatosa o suppurativa immuno-mediata e uveite (Muscatello 2012a; Cohen 2014). La prognosi per i puledri che sviluppano ascessi intra-addominali (come anche uveite) è infausta, per questo è consigliato eseguire un'ecografia addominale nei soggetti infetti (Cohen 2014).

Per il controllo della polmonite da *R. equi* la strategia più efficace è la profilassi. Non esistono tuttavia ancora vaccini efficaci e deve ancora essere dimostrata l'effettiva efficacia della trasfusione di sangue iperimmune nel ridurre l'incidenza cumulativa dell'infezione (oltre al fatto che comporta dei rischi per il puledro). È da evitare l'utilizzo di macrolidi con scopo profilattico alla luce del fenomeno dell'antimicrobico-resistenza. Sono stati riportati casi di diminuzione dell'incidenza dell'infezione in seguito a una riduzione della densità delle giumente e dei puledri (Cohen 2014) ed è auspicabile limitare il tempo in cui i puledri vivono insieme in grandi gruppi. Altre strategie che riducono la contaminazione dell'aria da ceppi virulenti derivanti dal suolo sono un'intensiva irrigazione di recinti e corsie prima del raduno dei puledri e delle giumente e la sistemazione dei puledri all'aperto in terreni con elevata capacità di trattenere l'acqua (argilla al posto di sabbia). Altre strategie consistono nel ridurre il tempo speso dai puledri nelle stalle o aumentare l'igiene; mentre per il controllo delle epidemie è importante disinfettare le stalle dove sono stati ospitati puledri infetti (sono utili disinfettanti che alterano il pH) e la decontaminazione della lettiera (Muscatello 2012b). Vista l'assenza di un sistema di prevenzione efficace molti veterinari si affidano a un sistema di *screening* ecografico con lo scopo di individuare precocemente l'infezione; bisogna però tenere conto, come detto prima, della bassa specificità dell'ecografia.

Distinguere clinicamente una polmonite causata da *R. equi* da una causata da un altro agente batterico è complesso a causa della sintomatologia simile. Tuttavia, la diagnosi precoce e accurata dell'infezione da *R. equi* è fondamentale perché quest'infezione è poco responsiva nei confronti degli antibiotici usati comunemente per le altre polmoniti batteriche (Vitale et al. 2019) e viceversa gli altri batteri Gram<sup>-</sup> dei cavalli sono poco responsivi nei confronti dei macrolidi e della rifampicina (Giguère et al. 2012). L'individuazione di ascessi polmonari all'ecografia toracica può aumentare il sospetto di un'infezione da *R. equi*; tuttavia, le lesioni visibili tramite ecografia non sono patognomoniche e l'unico modo per stabilire con certezza la diagnosi consiste nella coltura batterica o nell'amplificazione del gene Vap A tramite PCR da un aspirato tracheobronchiale

(TBA). Il TBA però è una tecnica invasiva e spesso non viene eseguita per i costi e i rischi che comporta; questo fa sì che spesso la diagnosi negli allevamenti con casi ricorrenti di *R. equi* sia solo presunta e basata sul segnalamento, segni clinici e individuazione di ascessi e consolidamento polmonare all'ecografia toracica. La coltura batterica ad ogni modo richiede fino a 72 ore per avere un risultato, oltre a non distinguere i ceppi virulenti da quelli non virulenti; il clinico quindi, nell'attesa dei risultati dei test microbiologici, deve spesso scegliere se usare una terapia antimicrobica specifica contro *R. equi* o se usare molecole antimicrobiche ad ampio spettro (Vitale et al. 2019). L'utilizzo della PCR nel fluido prelevato con TBA ha il vantaggio di offrire risultati rapidi (poche ore), maggiore sensibilità rispetto alla coltura microbiologica e permette di identificare i ceppi virulenti tramite l'amplificazione del gene VapA. Tuttavia la PCR non permette di identificare altre specie batteriche che possono essere presenti e non permette di eseguire i test di sensibilità agli antimicrobici (Cohen 2014). Un ulteriore strumento utile per la diagnosi della polmonite da *R. equi* è il monitoraggio della concentrazione dei leucociti nel sangue, con un *cut-off* di  $15 \times 10^9$  cellule/L nei casi precoci e  $20 \times 10^9$  cellule/L nei casi avanzati (Muscatello 2012b).

La presenza ubiquitaria di *R. equi* nell'ambiente porta al rischio di falsi positivi; per questo, dove possibile, una coltura positiva a *R. equi* dovrebbe essere seguita dalla valutazione citologica del fluido prelevato tramite il TBA, che dovrebbe mostrare una popolazione di cellule infiammatorie pleomorfe e bacilli Gram<sup>+</sup> intracellulari (Cohen 2014). Un'alternativa al TBA è il lavaggio bronco-alveolare (BAL), meno invasivo ed eseguibile senza endoscopio. La coltura batterica del fluido prelevato con il BAL non è rappresentativa della microflora delle basse vie respiratorie, perché potrebbe essere contaminata nel passaggio attraverso le vie aeree superiori, tuttavia il BAL può fornire un supporto nella diagnosi di polmonite nei cavalli (Vitale et al. 2019). La valutazione citologica del fluido prelevato tramite BAL mostra un aumento significativo di cellule nucleate totali (TNC) e un aumento della percentuale dei neutrofili nei puledri positivi a *R. equi*, mentre non sono state trovate differenze significative nella percentuale di eosinofili e linfociti (tabella 2).

Results of total nucleated cell count (TNCC) and differential cell count of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in <i>R. equi</i> -positive and <i>R. equi</i> -negative foals.			
Variable	<i>R. equi</i> -positive	<i>R. equi</i> -negative	P value
TNCC (cells/ $\mu$ L)	1300 $\pm$ 322 <sup>a</sup> 500–2800	500 $\pm$ 25 <sup>a</sup> 400–650	.0291
Macrophages (%)	52 $\pm$ 4 <sup>a</sup> 20–58	67 $\pm$ 3 <sup>a</sup> 40–80	.0140
Lymphocytes (%)	5 $\pm$ 0 3–7	17 $\pm$ 2 4–30	.0554
Neutrophils (%)	40 $\pm$ 4 <sup>a</sup> 39–75	21 $\pm$ 3 <sup>a</sup> 1–40	.0020
Eosinophils (%)	0 $\pm$ 0 0–1	0 $\pm$ 0 0–5	.8571

Data are presented as median  $\pm$  standard error, minimum and maximum values.  
<sup>a</sup> Indicates statistically significant differences between groups. P values are reported on the right column.

TABELLA 2: valutazione citologica del fluido prelevato tramite BAL in puledri positivi e negativi a *R. equi* (Vitale et al. 2019).

Altri batteri isolati dal fluido di lavaggio bronchiale in puledri con polmoniti sono *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *E. coli*, *Serratia marcescens* e *Streptococcus* spp. alpha-emolitico (Vitale et al. 2019). Sono frequenti infezioni miste di *R. equi* con altri batteri come quelli detti sopra oltre che *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus* spp., *Klebsiella* spp. *Salmonella* e altri (Giguère et al. 2012). L'isolamento di diversi batteri o funghi insieme a *R. equi* tramite TBA in puledri con polmonite non influenza l'*outcome* della malattia e non ha un impatto negativo sulla prognosi, anche perché probabilmente molti batteri isolati colonizzano la trachea dei puledri senza contribuire alla patologia polmonare e non sono stati associati con l'insorgenza di polmoniti nei puledri. Non sembra quindi consigliato aggiungere una terza molecola antibiotica al trattamento con macrolidi e rifampicina in puledri con polmonite da *R. equi* con infezione mista (Giguère et al. 2012). Batteri come gli streptococchi beta-emolitici, *Actinobacillus/Pasteurella* spp., *E. coli*, *Bordetella bronchiseptica* e *Klebsiella* spp sono stati associati a patologie delle basse vie respiratorie in puledri e cavalli adulti; tuttavia, questi patogeni sono stati isolati tramite TBA anche in puledri clinicamente sani.

### 2.3.2 POLMONITI VIRALI

Le patologie respiratorie virali sono le patologie più comuni nei cavalli dopo le coliche (Lee et al. 2022). Le polmoniti bronco-interstiziali di origine virale sono più comuni in puledri di 2-3 mesi a causa probabilmente dell'abbassamento degli anticorpi materni, mentre sono rare in puledri neonati



o più giovani (anche se comunque sono stati riportati dei casi, come il focolaio di influenza equina in giovani puledri in Australia nel 2007). Altri fattori che predispongono a questa patologia sono la presenza di sostanze irritanti nell'ambiente, alta temperatura ambientale, sovraffollamento e parassitismo (Patterson-Kane et al. 2008).

Le cause più frequenti di polmonite virale nei puledri sono: EHV-1, EHV-4 (probabilmente i più impattanti clinicamente), EHV-2, il virus dell'influenza equina e il virus dell'arterite equina (EVA). Nei puledri arabi con la sindrome di immunodeficienza grave combinata (SCID: *severe combined immunodeficiency disease*) anche l'adenovirus può causare patologia. Nel neonato, l'infezione da EHV-1 o EVA è quasi sempre fatale e la diagnosi ante-mortem è difficile, anche quando è identificato un focolaio in un certo allevamento. Puledri con un'infezione da EHV-1 sembrano avere in comune sintomi come ittero, leucopenia, neutropenia e petecchie emorragiche; ma questi segni sono presenti anche in puledri con grave sepsi; la diagnosi avviene tramite isolamento virale (Wilkins 2003). In caso di sospetto di infezione virale dovrebbe essere prelevato un campione di sangue e di aspirato tracheale per l'isolamento batterico e virale. I polmoni di puledri con infezione da EHV-1 o EVA perdono la *compliance* e possono presentare edema polmonare (Wilkins 2003).

In neonati con infezione da EHV-1 è stato usato l'acyclovir (10-16mg/Kg per via orale o rettale quattro o cinque volte al giorno) con qualche riscontro di efficacia in puledri con un'infezione lieve o con infezione contratta dopo la nascita. In altri casi più gravi la ventilazione meccanica può prolungare la vita ma la morte in genere è inevitabile a causa della gravità dei danni nei polmoni. I puledri infetti da EVA in genere nascono da madri sieronegative e un trattamento intravenoso con plasma con un titolo di anticorpi più alto nei confronti di EVA potrebbe dare benefici, in quanto sembra che l'immunità passiva svolga un ruolo importante nella protezione contro il virus dell'arterite equina (Wilkins 2003).

I puledri con sospetta infezione da EHV-1 o EVA dovrebbero essere isolati perché in genere eliminano una grande quantità di virus e costituiscono un rischio per gli altri puledri e le fattrici gravide (Wilkins 2003).

EHV può infettare anche puledri più anziani e puledri svezzati, ma di solito la malattia in questi casi è più lieve. I segni clinici sono indistinguibili da quelli dell'influenza e comprendono: tosse secca, ipertermia e scolo nasale da sieroso a mucopurulento, soprattutto in caso di infezione batterica secondaria. La patologia coinvolge sia le vie aeree superiori (possibili riniti, faringiti, tracheiti) che quelle profonde e il trattamento in questi casi in genere è di supporto (Wilkins 2003).

## HERPESVIRUS EQUINO

Negli equidi sono stati identificati otto herpesvirus (Patel e Heldens 2005): il cavallo è l'ospite naturale degli  $\alpha$ -herpesvirus di tipo 1 (EHV-1), 3 (EHV-3), 4 (EHV-4) e di  $\gamma$ -herpesvirus di tipo 2 (EHV-2) e 5 (EHV-5), mentre l'asino è l'ospite di AHV-3, AHV1 e AHV-2. Tra questi i più rilevanti dal punto di vista clinico, economico ed epidemiologico sono EHV-1 e EHV-4, entrambi endemici in tutto il mondo e cause potenziali di una rino-polmonite febbrile. EHV-1 inoltre è la principale causa di aborto, di paresi in seguito a sviluppo della forma neurologica (EHM: *equine herpesvirus myeloencephalopathy*) e di morte di puledri neonati a causa di polmonite interstiziale (Patel e Heldens 2005; Stokol e Soboll Hussey 2020). EHV-1 causa quindi una patologia molto più grave rispetto a EHV-4, la cui capacità di causare aborto è ancora controversa (Agerholm et al. 2021). EHV-4 causa una patologia chiamata rino-polmonite equina e accidentalmente può causare anche una forma neurologica (atassia, decubito, paresi vescicale). Sin dal 1972 la maggior parte dei ceppi EHV-1 sono classificabili in "respiratori" (sottotipo 2) e "abortigeni" (sottotipo 1).

EHV2 è un virus ubiquitario e sembra avere un ruolo nello sviluppo o nella manifestazione clinica di patologie respiratorie batteriche (ad esempio da *R. equi*) e potrebbe anche essere uno dei fattori scatenanti della polmonite interstiziale. EHV 5, che come EHV2 appartiene ai  $\gamma$ -herpesviridae, è associato alla fibrosi polmonare multinodulare equina (EMPF), una polmonite interstiziale del cavallo adulto (Punsmann et al. 2020).

Gli Alpha-herpesvirus hanno un ciclo replicativo relativamente corto e vanno in latenza nei neuroni sensoriali o nei linfociti dell'ospite infettato. Si distribuiscono da cellula a cellula ma sono anche facilmente rilasciabili dalle cellule infette, causando così un effetto citopatico e lo sviluppo di corpi inclusi intranucleari eosinofili (Oladunni, Horohov, e Chambers 2019).

EHV-1 ed EHV-4 sono considerati ubiquitari nella popolazione mondiale degli equidi (Marenzoni et al. 2008). In natura i cavalli subiscono ripetute infezioni da EHV-1 e EHV-4 e man mano che gli episodi progrediscono nel corso della vita le manifestazioni cliniche si riducono di gravità grazie alla memoria immunitaria (Patel e Heldens 2005). L'esposizione a EHV-1 e EHV-4 avviene molto presto: circa 80-90% dei cavalli sono infettati da uno dei due virus entro i due anni di età. L'infezione da EHV-1 avviene principalmente d'inverno, mentre quella da EHV-4 può avvenire durante tutto l'anno (Patel e Heldens 2005). La riattivazione del virus in un ospite infetto, e di conseguenza l'eliminazione virale, può avvenire periodicamente in seguito a situazioni stressanti come il trasporto, il cambio di scuderia, lo svezzamento o la somministrazione di corticosteroidi. In seguito a riattivazione si possono osservare o meno manifestazioni cliniche come scolo nasale. L'infezione da EHV-1 può avvenire facilmente per contatto con materiale infetto, inclusi i fomite e

l'aerosol; la trasmissione del virus può avvenire inoltre per contatto con un cavallo in corso di infezione acuta, per contatto con un cavallo in cui il virus si è riattivato o per contatto con un feto abortito o una placenta infetti (Oladunni, Horohov, e Chambers 2019).

Nelle giumente in lattazione, in seguito allo stress della gravidanza e del parto che provocano un calo delle difese immunitarie, può avvenire una riattivazione di EHV-1 (Patel e Heldens 2005); i puledri lattanti possono quindi contrarre l'infezione nei primi 30 giorni di vita e possono poi trasmettere il virus ad altre giumente e puledri, per questo sono considerati *reservoirs* importanti e devono essere un target per il controllo di EHV-1. Si ipotizza che anche per EHV-4 l'infezione nel puledro avvenga nei primi giorni di vita. In alcuni puledri infetti EHV-1 può raggiungere i polmoni causando broncopolmonite.

Per la diagnosi si fa l'isolamento virale, la sierologia e la PCR da un tampone nasofaringeo o da tessuti fetali (Patel e Heldens 2005). La PCR offre un metodo rapido per distinguere EHV-1 da EHV-4 e può individuare il loro DNA sia nelle infezioni litiche che in quelle latenti (Marenzoni et al. 2008). Il *gold standard* rimane però la coltura cellulare e l'isolamento virale (Patel e Heldens 2005), in quanto la PCR è efficace nel confermare la circolazione del virus in una struttura ma non è uno strumento diagnostico particolarmente efficace, come dimostrato da uno studio in cui i risultati della PCR non hanno mostrato differenze significative tra puledri con o senza segni clinici che avevano o meno sierconvertito (Marenzoni et al. 2008). La PCR deve essere eseguita sul DNA estratto dal tampone nasofaringeo e dalle cellule mononucleate del sangue (PBMCs). La presenza del DNA virale nelle PBMCs indica la presenza del virus nel sangue, in seguito a infezione primaria o latente; la presenza del DNA virale nel tampone nasofaringeo è dovuta invece o a replicazione attiva del virus o a un semplice contatto col virus esogeno. Il ruolo della PCR è quindi quello di verificare se il virus è presente in un determinato ambiente (Marenzoni et al. 2008). Nei puledri non ancora svezzati tuttavia la PCR ha il vantaggio di poter essere applicata anche in presenza di anticorpi materni, mentre l'isolamento virale e il test sierologico possono essere compromessi a causa dell'interferenza degli anticorpi materni nella sieroconversione dei puledri infetti. Un altro caso in cui è possibile avere PCR positiva e sierologico negativo riguarda i puledri immunosoppressi in seguito all'infezione con un ceppo particolarmente virulento (Marenzoni et al. 2008). Un test sierologico positivo e una PCR negativa invece possono essere dovuti alla presenza di anticorpi provenienti dal colostro o alla presenza di una concentrazione virale inferiore al limite di sensibilità della PCR (Marenzoni et al. 2008). L'infezione da EHV-1 va in diagnosi differenziale con il virus dell'arterite equina, il virus dell'influenza equina, adenovirus, rhinovirus, EHV-4 e l'infezione da *sarcocystis neurona*.

I sintomi della patologia respiratoria dovuta a infezione da EHV-1 e EHV-4 includono febbre, anoressia, scolo oculare e scolo nasale con essudato sieroso o mucopurulento, a seconda della gravità dell'infezione.

L'infezione da EHV-1 comporta rilevanti conseguenze economiche, come l'interruzione dell'allenamento in giovani cavalli atleti in seguito a episodi di piressia, l'aumento di aborti, il calo di produttività e le misure restrittive adottate in seguito ad episodi di mieloencefalopatia (EHM), che può portare anche alla morte degli animali.

Non c'è un trattamento specifico per l'infezione da EHV-1, ma un trattamento sintomatico con antinfiammatori non steroidei può dare giovamento. In caso di EHM farmaci corticosteroidi e immunomodulatori possono essere utilizzati per trattare i segni clinici precoci, tuttavia non è stata dimostrata l'efficacia effettiva del loro uso quindi dovrebbero essere usati con cautela per evitare la riattivazione e l'eliminazione virale (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023).

Le misure di controllo adottate, come l'isolamento dei cavalli infetti, il corretto smaltimento di materiale infetto e l'implemento di corrette misure di biosicurezza, hanno lo scopo di ridurre la diffusione del virus negli ospiti suscettibili. È importante inoltre prevenire la riattivazione virale negli animali infetti (Oladunni, Horohov, e Chambers 2019). L'identificazione precoce di EHV-1 in un focolaio permette un intervento medico precoce con l'obiettivo di prevenire la mieloencefalopatia. (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023).

I vaccini disponibili riducono le manifestazioni cliniche della patologia ma non prevengono completamente l'infezione, né la viremia cellulo-associata (e quindi anche l'aborto) o la latenza; inoltre sono stati riportati casi di EHM in cavalli vaccinati (Oladunni, Horohov, e Chambers 2019; Mahmoud, Fouad, e Amin 2023).

### **infezione fetale e infezione dei puledri da EHV**

EHV-1 può causare la morte di feti negativi al virus, di feti positivi al virus o la nascita di puledri infetti che generalmente muoiono pochi giorni dopo la nascita (Patel e Heldens 2005).

L'aborto di un feto negativo al virus può avvenire in seguito ad anossia causata da una separazione progressiva tra placenta ed endometrio. In 9-13 giorni dopo l'infezione della madre infatti, l'infezione delle cellule endoteliali si distribuisce diventando una vasculite multifocale e le microtrombosi nei vasi sanguigni possono provocare una necrosi trombo-ischemica dei cotiledoni e dello stroma intercotiledonare, provocando il distacco del feto dalla placenta, e la sua morte per

anossia (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023; Oladunni, Horohov, e Chambers 2019). L'aborto può avvenire dal 5° mese di gravidanza in poi (aborto tardivo, più frequentemente tra l'8° e il 9° mese) perché, visto che il target del virus è la placenta, l'infezione può avvenire solo dopo il 120° giorno, momento in cui la placentazione è completa. In seguito ad infezioni sperimentali si è osservato che l'aborto può essere provocato anche da stress materno o episodi di piressia della giumenta (Oladunni, Horohov, e Chambers 2019).

In seguito a viremia associata ai leucociti EHV-1 può raggiungere l'endotelio dell'utero gravido e instaurare un'ulteriore replicazione virale. Tramite la placenta EHV-1 può essere trasferito al feto causando una patologia multiorgano. Fino al 95% degli aborti avvengono nell'ultimo terzo di gravidanza. In alcuni casi la giumenta non abortisce ma il puledro comincia a manifestare segni clinici entro i primi due giorni di vita (*neonatal foal disease*): sviluppa una grave insufficienza respiratoria che aumenta il rischio di polmonite virale o di infezioni batteriche secondarie che causano crisi respiratoria in pochi giorni. Il puledro nasce con ittero immediato e dispnea (la differenza con i sintomi da eritrolisi neonatale è che questi ultimi si manifestano dopo l'assunzione di colostro e non subito dopo la nascita). Puledri positivi a EHV-1 possono mostrare anche segni di patologie gastro-intestinali e deficienze neurologiche (Oladunni, Horohov, e Chambers 2019; Patel e Heldens 2005). La prognosi è sfavorevole e non sono disponibili trattamenti per fermare il deterioramento clinico della salute nei puledri infetti.

Come visto sopra, i puledri possono contrarre l'infezione anche dopo la nascita. Di questi solo una piccola percentuale mostra segni clinici e le infezioni subcliniche potrebbero essere spiegate con la presenza di anticorpi materni. I segni clinici nei puledri possono variare da lievi (scolo nasale sieroso e leggera ipertermia ma senza altri segni sistemici) a gravi (scolo nasale mucopurulento, tosse, sibili all'auscultazione del tratto respiratorio e segni clinici sistemici, compreso un aumento significativo della temperatura corporea (Marenzoni et al. 2008).

EHV-2 appartiene ai gamma-herpesvirus ed è ampiamente distribuito nella popolazione equina, stabilendo frequentemente infezioni persistenti. Anche in questo caso spesso l'infezione avviene poco dopo la nascita, e nonostante ci siano dati controversi riguardo la sua patogenicità, sono stati riportati casi in cui l'infezione ha causato cherato-congiuntivite e patologia respiratoria nei puledri. L'importanza di EHV-2 risiede però nel suo possibile ruolo come fattore predisponente per le infezioni da *R. equi*. In uno studio (Nordengrahn et al. 1996) è stato ipotizzato come EHV-2 possa essere un fattore predisponente per il complesso della patologia respiratoria nel puledro: la prima fase della patologia, virus-dipendente, è caratterizzata dalla presenza occasionale di scolo nasale e lieve aumento di temperatura; mentre la seconda, dovuta nella maggior parte dei casi a

complicazioni da *R. equi*, è caratterizzata da una patologia respiratoria grave con polmonite, ascessi polmonari, ipertermia e morte. Il ruolo del virus come fattore innescante potrebbe essere dovuto a un effetto immunosoppressivo in seguito all'infezione dei linfociti, dove stabilisce la latenza, tuttavia non è ancora chiarita la relazione tra infezione da EHV-2 e quella da *R. equi* e i risultati contraddittori sull'associazione tra EHV-2 e la patologia respiratoria potrebbero essere dovuti alla presenza di virus con diverse proprietà biologiche e alle differenze individuali dei puledri, che riflettono predisposizioni genetiche diverse nella risposta all'infezione (Dunowska et al. 2011).

### **lesioni fetali polmonari e monitoraggio ecografico**

Il monitoraggio ecografico fetale è una tecnica non invasiva che permette di monitorare il grado di sviluppo polmonare e osservare eventuali alterazioni polmonari che possono essere ricondotte ad un'infezione da EHV-1.

Il polmone fetale sano all'ecografia appare omogeneo (Jiao et al. 2022). Man mano che la gravidanza progredisce si osserva un aumento della capacità riflettente del polmone (Maeda et al. 1999) e quindi un aumento dell'iperecogenicità.

Lesioni fetali provocate da EHV-1 includono (Agerholm et al. 2021): edema sottocutaneo, fluido siero-emorragico in cavità toracica, edema polmonare, foci emorragici disseminati nel polmone e polmonite interstiziale fibrino-necrotizzante ed emorragica. Oltre a questo, in feti abortiti sono state osservate aree di necrosi epatica acuta/subacuta, zone di necrosi nella surrenale e necrosi dei follicoli linfoidi nella milza.

### **VIRUS DELL'INFLUENZA EQUINA**

L'influenza equina (EI) è una delle principali patologie respiratorie negli equini: il virus dell'influenza equina (EIV) è responsabile dei 2/3 delle infezioni respiratorie virali; e l'infezione ha enormi conseguenze economiche. EI è una patologia respiratoria acuta e altamente contagiosa causata dal virus dell'influenza A, che comprende due sottotipi in grado di dare patologia negli equini: H7N7 e H3N8; tuttavia il sottotipo H7N7 non è più stato isolato dal 1980 (Chambers 2014; Virmani et al. 2020). In letteratura ci sono poche informazioni riguardo le manifestazioni dell'influenza equina nei puledri neonati (Peek et al. 2004).

EIV appartiene alla famiglia degli *Orthomyxoviridae* che contiene cinque generi, tra cui il virus dell'influenza A (IAV). I virus dell'influenza sono classificati in A, B e C sulla base delle

differenze antigeniche del nucleocapside (NP) e della matrice (M); Il virus dell'influenza A causa infezioni in cavalli, umani, avicoli, suini e raramente cani, foche, visoni e balene (Virmani et al. 2020). Questi virus sono trasmissibili tramite aerosol e goccioline contaminate. IAV ha un genoma costituito da un singolo filamento di RNA segmentato che codifica per 12 proteine ed è contenuto in un *envelope* lipidico. IAV è classificato ulteriormente in diversi sottotipi sulla base delle caratteristiche antigeniche delle glicoproteine di membrana: emoagglutinine (H1-H18) e neuroaminidasi (N1-N11) (Virmani et al. 2020). Una delle caratteristiche del virus dell'influenza è quello di evolvere continuamente nel tempo, grazie all'accumulo di mutazioni puntiformi dovute ad errori della polimerasi nella replicazione virale, che portano col tempo al *drift* genetico. A causa della continua esposizione al sistema immunitario dell'ospite le variazioni antigeniche nei virus dell'influenza sono molto frequenti in due glicoproteine contenute nel doppio strato fosfolipidico di membrana: HA (responsabile del legame con i recettori cellulari) e NA (dirige il rilascio del virus dalle cellule infette). Le mutazioni del genoma possono essere silenti o possono modificare la virulenza o la patogenicità del virus e possono produrre cambiamenti strutturali e antigenici che alterano l'efficacia dei vaccini (Virmani et al. 2020). La natura segmentata del genoma dei virus dell'influenza permette inoltre il riassortimento genetico tramite il rimescolamento casuale del genoma durante una superinfezione: il nuovo virus riceverà quindi segmenti del genoma da entrambi i virus, creando un nuovo sottotipo (*shift* antigenico). Tuttavia, nel virus H3N8 la velocità di evoluzione è molto minore rispetto al virus dell'influenza umana e questo fenomeno è detto *frozen evolution*. Nonostante EIV sia più stabile rispetto al virus dell'influenza umana, va comunque incontro al fenomeno di *drift* antigenico in seguito a mutazioni puntiformi nei geni HA e NA, che porta a modifiche sostanziali nell'antigenicità del patogeno.

EI è endemica in Europa e Nord America, mentre non è ancora stata riportata in paesi come l'Islanda e la Nuova Zelanda. Gli equini sono suscettibili a tutte le età, compresi i neonati, e gli animali immunocompromessi sono i più a rischio di sviluppo della patologia. La prevalenza maggiore è riportata in puledri di 2 e 6 mesi (Virmani et al. 2020). Negli anni '80 H3N8 si è diviso in due lignaggi: quello americano e quello europeo, nominati in base al luogo dove sono stati isolati inizialmente, anche se successivamente i virus hanno iniziato a circolare senza limitazioni geografiche. Non è stata osservata cross protezione tra i due lignaggi, quindi sono inclusi entrambi nei vaccini. EIV si lega preferibilmente ad un particolare tipo di recettore che è predominante nel tratto respiratorio superiore degli equini e in particolare nelle cellule epiteliali, nelle cellule di goblet, nell'epitelio ghiandolare della mucosa nasale e nelle cellule epiteliali della trachea e dei bronchi (Virmani et al. 2020). I cavalli, gli asini e i muli sono la specie target per EIV, tuttavia recentemente è stato riportato il salto di specie di EIV, che dagli equini è passato anche a nuovi

ospiti come cani, suini e cammelli ed è stato dimostrato che anche i gatti sono suscettibili all'infezione. È stato visto quindi come anche nuovi ospiti hanno recettori appropriati (legami  $\alpha$ 2,3-acido sialico) nel tratto respiratorio per l'attaccamento di HA. Le cellule epiteliali umane contengono recettori  $\alpha$ 2,6-acido sialico che quindi non sono recettori specifici per EIV; l'assenza di recettori specifici non esclude la possibilità di trasmissione all'uomo, tuttavia non ci sono ancora evidenze sicure sul potenziale zoonotico di EIV (Virmani et al. 2020).

I maschi sono più suscettibili all'infezione da EIV a causa probabilmente dall'azione maggiormente immunosoppressiva del testosterone nei maschi rispetto a quella degli estrogeni nelle femmine che quindi sviluppano una veloce e protettiva risposta umorale e cellulo-mediata. Gli equini di tutte le età sono suscettibili all'infezione, tuttavia la patologia si manifesta comunemente tra puledri più piccoli dei due anni. I focolai si osservano soprattutto in condizioni di vendita di puledri, di fiere di animali, spostamenti di cavalli per gare o per la riproduzione, spostamenti incontrollati o di un grande numero di animali e la morbilità può raggiungere il 100%. In seguito all'infezione gli animali colpiti sviluppano una risposta anticorpale protettiva nei confronti dei ceppi omologhi e l'immunità dura un anno. Cavalli con titolo anticorpale parzialmente protettivo potrebbero non sviluppare una patologia importante ma potrebbero essere eliminatori silenti del virus, assumendo un ruolo importante nella persistenza del virus nell'ambiente (Virmani et al. 2020).

La trasmissione può avvenire sia per via diretta che indiretta. I cavalli infetti che non erano mai entrati a contatto con EIV in precedenza iniziano a eliminare il virus tramite le secrezioni nasali 24h dopo essere stati esposti e l'eliminazione continua per 10 giorni (nell'EI, a differenza dell'arterite equina, non esiste lo stato di portatore). Un cavallo infetto può eliminare il virus fino a una distanza di 32 m tramite la tosse, mentre nell'aerosol EIV può viaggiare anche per più di 8 Km (Virmani et al. 2020). I cavalli che non hanno sviluppato immunità in seguito a infezione precedente o a vaccino eliminano il virus per un maggior periodo di tempo e l'isolamento virale appare più consistente (Patterson-Kane et al. 2008). La diffusione del virus dell'influenza equina tra individui è rapida e questo può aiutare a distinguere un focolaio di EIV da altre patologie respiratorie (Chambers 2014).

Il periodo di incubazione per EI varia dalle 18h ai 5 giorni ed è inversamente correlata alla quantità di virus presente. Il virus dell'influenza equina se non neutralizzato dalle glicoproteine del muco o dagli anticorpi locali contro l'emoagglutinina (HA) si replica estensivamente nelle cellule epiteliali dell'intero tratto respiratorio (Patterson-Kane et al. 2008). Dopo essersi legato ai recettori  $\alpha$ 2,3-acido sialico tramite HA, EIV produce lesioni in tutto il tratto respiratorio, specialmente nelle basse vie respiratorie (Virmani et al. 2020), mentre non è riportata una diffusione sistemica (Chambers 2014). Per avere accesso ai recettori cellulari EIV rompe (grazie a NA) i residui di acido sialico



presenti nel muco e questo favorisce infezioni batteriche secondarie, costituendo un esempio di sinergismo virus-batterio. L'infezione virale danneggia l'epitelio ciliato e porta a una ridotta *clearance* della trachea. Il virus dell'influenza nelle cellule dei mammiferi provoca apoptosi ed ha un effetto citopatico. Il meccanismo molecolare di come il virus stimoli l'apoptosi non è ancora completamente compreso ma sono state fatte diverse ipotesi: EIV promuove l'espressione cellulare della citochina TGF- $\beta$ 1, il cui aumento può causare apoptosi, inoltre l'infezione causa stress ossidativo nella cellula e stimola fattori di trascrizione collegati allo stress (come c-jun/Ap-1) che sono associati con apoptosi e morte cellulare (Virmani et al. 2020).

I segni clinici e la gravità della patologia dipendono dal ceppo del virus e dallo stato immunitario dell'ospite e nei cavalli non vaccinati che entrano in contatto la prima volta col virus si può sviluppare una patologia grave. L'immunità materna in genere dura 6 mesi (Patterson-Kane et al. 2008). I segni clinici appaiono 24h dopo l'infezione e sono caratterizzati da una patologia febbrile bifasica (col secondo picco circa una settimana dopo), dispnea, tosse secca e persistente e scolo nasale sieroso che in 3-4 giorni diventa mucopurulento (Virmani et al. 2020). Altri segni clinici possibili includono anoressia, depressione, mialgia e aumento del volume dei linfonodi associati all'apparato respiratorio e edema degli arti. I segni clinici possono persistere per 7-14 giorni senza complicanze, ma la tosse può durare più di 21 giorni. La mortalità è bassa ma cavalli anziani e immuno-compromessi possono andare incontro a morte in seguito a infezioni batteriche secondarie.

Nei puledri neonati che non hanno assunto un colostro con anticorpi contro EIV l'infezione può portare a morte i soggetti, inoltre anche nel loro caso il virus dell'influenza può predisporre a infezione batterica secondaria da parte di una varietà di patogeni Gram<sup>-</sup> e Gram<sup>+</sup> provocando polmonite potenzialmente fatale (Chambers 2014). In caso di focolaio tra fattrici gravide si può verificare un aumento di morti neonatali a causa di ipossia fetale provocata da una separazione precoce della placenta e da distocia. I puledri abortiti presentano aspirazione del meconio e polmoni poco insufflati, spesso con edema polmonare ma in genere non è presente tracheite né polmonite interstiziale, a sostegno del fatto che l'aborto è causato da distocia (che provoca ipossia fetale, aspirazione del meconio e asfissia), più che da infezione fetale (Begg et al. 2011). I cambiamenti ematologici e biochimici sono generici e includono anemia, leucopenia, linfopenia e ipoalbuminemia (Virmani et al. 2020). I puledri infetti si presentano febbrili, con scolo nasale mucopurulento, tachipnea e crepitii e sibili diffusi all'auscultazione toracica. Alla radiografia toracica è osservabile un *pattern* bronco-interstiziale diffuso e tramite emogasanalisi si evidenzia ipossemia, ipercapnia e bassa saturazione d'ossigeno (Peek et al. 2004). Alterazioni patologiche di

altri organi, come necrosi epatica multifocale o infarti renali sono dovuti a pleuropolmonite batterica secondaria (Begg et al. 2011).

Le lesioni anatomico patologiche sono confinate al tratto respiratorio e ai linfonodi associati e comprendono iperemia della mucosa nasale, secrezioni nasali sierose e in fase acuta lieve edema dei linfonodi retrofaringei e polmonari. Dopo una settimana dall'infezione si possono osservare petecchie emorragiche ed essudato mucopurulento in trachea e nei bronchi con edema interstiziale nella porzione del polmone infetto. Due settimane dopo l'infezione è possibile osservare epatizzazione e consolidamento polmonare a causa di polmonite batterica (Virmani et al. 2020). Le bronco-polmoniti batteriche secondarie sono più frequenti nei cavalli adulti piuttosto che nei puledri (dove quello che si osserva più frequentemente è polmonite bronco-interstiziale) e in questi casi si possono osservare anche ascessi polmonari e pleuriti (Begg et al. 2011). Nella fase iniziale dell'infezione le lesioni istopatologiche sono confinate nel primo tratto respiratorio e comprendono degenerazione epiteliale e necrosi con perdita dell'epitelio ciliato, riduzione del numero di cellule di goblet (cellule caliciformi mucipare) e infiltrato linfocitico nella lamina propria. 7 giorni dopo l'infezione le lesioni si estendono ai bronchioli e agli alveoli ed è osservabile iperplasia epiteliale, metaplasia squamosa, infiltrato variabile di neutrofili e macrofagi, essudazione fibrinosa, formazione di membrane ialine, proliferazione di pneumociti di tipo 2 e broncopolmonite suppurativa con edema polmonare, oltre a bronchite e bronchiolite necrotizzante (Peek et al. 2004; Begg et al. 2011; Patterson-Kane et al. 2008). La broncopolmonite si sviluppa in seguito a infezioni batteriche secondarie, causate principalmente da *Streptococcus Zooepidemicus*, *Streptococcus equi*, *Actinobacillus equuli* e *Bordetella bronchiseptica*. I bronchioli e il parenchima polmonare si riempie di neutrofili, macrofagi e cellule epiteliali necrotiche. 14 giorni dopo l'infezione è osservabile grave tracheite e bronchite con iperplasia delle cellule epiteliali, metaplasia squamosa con villi più corti e cellule di goblet più piccole (Virmani et al. 2020).

Le lesioni patologiche non sono patognomoniche per EI, nonostante la tracheite proliferativa e la metaplasia squamosa non sono state trovate in altre patologie respiratorie comparabili (Begg et al. 2011), quindi per la diagnosi è necessario procedere con l'isolamento virale. Le lesioni polmonari nei puledri sono uguali a quelle riportate in puledri di diverse età che presentano polmonite bronco-interstiziale provocata da diverse cause, quindi probabilmente si tratta di una risposta stereotipata a diversi insulti (Patterson-Kane et al. 2008). L'RNA virale è individuabile tramite PCR per 15 giorni e a volte anche di più (Chambers 2014). L'isolamento virale dalle lesioni diventa difficile quando si raggiunge lo stadio di desquamazione dell'epitelio necrotico perché il virus può essere stato rimosso (Patterson-Kane et al. 2008). Nei puledri le diagnosi differenziali comprendono EHV-1, EHV-4 e il

virus dell'arterite equina. La diagnosi può essere fatta tramite test antigenico sulle secrezioni nasali e isolamento virale, che però costituisce una tecnica meno sensibile (Peek et al. 2004)

Non è disponibile un trattamento specifico per l'influenza equina, quindi si gestisce tramite trattamento di supporto basato sui segni clinici. Il trattamento comprende riposo adeguato, nutrizione e idratazione adeguata, antibiotici ad ampio spettro, antistaminici e farmaci antinfiammatori non steroidei (per ridurre l'infiammazione nel tratto respiratorio). Gli studi su molecole antivirali (amantidina, rimantidina che hanno come bersaglio il dominio transmembrana dei canali ionici M2; e zanamivir e oseltamivir, inibitori di NA) sono stati promettenti, tuttavia sono ancora insufficienti (Virmani et al. 2020).

I vaccini disponibili comprendono vaccini veri inattivati o vaccini a subunità. La pianificazione della vaccinazione consiste in due dosi iniziali distanziate da 2-6 settimane, seguite da una vaccinazione annuale. In caso di esposizione ad un virus influenzale antigenicamente diverso potrebbe essere richiesta un titolo anticorpale più alto. Un gruppo di esperti, sotto la guida dell'OIE, emette annualmente le raccomandazioni sul ceppo vaccinale da utilizzare basandosi sulle analisi filogenetiche della sequenza di HA, sull'analisi antigenica comparativa e sulle informazioni riguardo l'efficacia del vaccino valutata in campo e sperimentalmente (Chambers 2014). Il picco di anticorpi contro HA acquisito tramite il vaccino ha breve durata e la popolazione vaccinata torna suscettibile in pochi mesi. L'immunità vaccinale ha breve durata soprattutto in cavalli con meno di 5 anni, mentre cavalli più anziani tendono ad avere un titolo anticorpale più stabile (Chambers 2014). L'infezione naturale è seguita da un'immunità più duratura e stimola la produzione, oltre che di IgG<sub>A</sub> e IgG<sub>B</sub>, di IgG<sub>A</sub> mucosali. In seguito a vaccinazione invece non è presente la produzione di IgG<sub>A</sub> mucosali. Nei puledri la vaccinazione dovrebbe essere fatta dopo i 6 mesi, dopo il declino degli anticorpi materni (Virmani et al. 2020). Bisogna comunque tenere conto che il trasferimento passivo degli anticorpi tramite il colostro non garantisce al puledro la protezione dall'infezione (Peek et al. 2004).

In caso di focolaio è importante vaccinare tutti gli animali al di là della pianificazione precedente delle vaccinazioni al fine di mitigare la sintomatologia; il ruolo del vaccino nel contenimento dell'infezione invece è ancora da verificare. Restrizione dei movimenti, comunicazione e educazione del pubblico, delimitare le aree a rischio, test di laboratorio, tracciamento e sorveglianza della patologia e aumento delle misure di biosicurezza sono le misure che permettono il controllo dell'influenza equina in caso di focolaio. EIV è inattivato dalla luce solare, raggi UV, calore, freddo e disinfettanti comuni (Virmani et al. 2020).

## VIRUS DELL'ARTERITE EQUINA

L'infezione dal virus dell'arterite equina dovrebbe essere messa nella lista delle diagnosi differenziali in caso di puledri che manifestano ipertermia, depressione, difficoltà respiratoria, edema e morte improvvisa (Del Piero et al. 1997).

Il virus dell'arterite equina (EAV) provoca negli equidi una patologia respiratoria e riproduttiva, con gli stalloni portatori che eliminano il virus nel seme; è una patologia responsabile di perdite economiche dovute ad aborti, alla mortalità neonatale e alla malattia nei puledri (polmonite bronco-interstiziale fatale o sindrome polmonare ed enterica). Dal suo primo isolamento nel 1953 (in un polmone di feto abortito in Ohio) sono stati riportati periodici focolai in diversi paesi (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018). EAV è un virus con *envelope* e il genoma è costituito da un singolo filamento di RNA; appartiene al genere *α-Arterivirus*, della famiglia *Arteriviridae*, ordine *Nidovirales*.

Indagini sierologiche hanno mostrato una distribuzione mondiale del virus, in particolare nelle popolazioni equine in America, Europa, Australia, Africa e diversi paesi in Asia. Paesi indenni dalla patologia comprendono l'Islanda, il Giappone e la Nuova Zelanda. La sieroprevalenza varia anche a seconda della razza: in USA un'alta percentuale di trottatori americani e di americani da sella sono positivi al virus, mentre la sieroprevalenza nei purosangue è molto bassa; in diversi paesi europei gli stalloni a sangue caldo hanno una sieroprevalenza elevata (55-93%) (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018). La sieroprevalenza per EAV aumenta con l'età, quindi un equino può subire più di un'infezione nel corso della vita. Il ruolo epidemiologico principale nel mantenimento, nella dispersione e nell'evoluzione del virus è svolto dallo stallone portatore, che costituisce il *reservoir* di EAV: in seguito a infezione il 10-70% degli stalloni diventa persistentemente infetto ed elimina il virus per un periodo che può variare da settimane a anni, fino anche a tutta la vita (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018). È stato osservato che lo stato di portatore è accompagnato dalla presenza di uno specifico allele del gene CXCL16 (CXCL16S) e che la persistenza dell'infezione è mantenuta nonostante una risposta locale infiammatoria e umorale (Carossino et al. 2019). Mentre nei cavalli adulti la morbilità è elevata e la mortalità è bassa, nei giovani l'infezione è infrequente ma quasi sempre fatale (Del Piero et al. 1997).

La trasmissione avviene tramite via respiratoria o venerea. La trasmissione orizzontale avviene tramite le secrezioni respiratorie contaminate degli animali infetti in fase acuta (l'eliminazione nasale dura 7-14 giorni). EAV può essere trasmesso anche tramite urine e altre secrezioni ed escrezioni aerosolizzate che provengono da animali nel corso di infezione acuta, feti abortiti e membrane fetali (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018). La trasmissione orizzontale può

avvenire anche tramite fomiti contaminati presenti in oggetti. Le fattrici possono essere infettate per via venerea da uno stallone portatore (anche tramite l'utilizzo di seme congelato infetto) o tramite *embryo transfer*, nel caso in cui la donatrice sia stata inseminata con seme infetto. È possibile anche la trasmissione verticale nel caso in cui l'infezione avvenga in una giumenta gravida e in questo caso porta ad aborto o a morte neonatale in seguito a grave insufficienza respiratoria (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). In seguito ad infezione congenita i puledri sviluppano una polmonite interstiziale fulminante e un'enterite fibrino-necrotica (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018).

Il virus dell'arterite equina è sensibile al calore ed è inattivato dai solventi lipidici (come etere e cloroformio) e dai disinfettanti comuni. Il congelamento non ha un impatto significativo sull'infettività di EAV (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018).

In caso di trasmissione venerea il periodo di incubazione è 6-8 giorni, mentre per la trasmissione respiratoria varia da 2 a 14 giorni. EAV provoca leucopenia e i segni clinici nei cavalli adulti variano da infezione subclinica a grave sintomatologia che include febbre, abbattimento, anoressia, tosse, scolo nasale sieroso, difficoltà respiratoria, congestione della mucosa nasale, linfadenopatia inter-mandibolare, congiuntivite, lacrimazione e, meno frequentemente, opacizzazione della cornea. La vasculite provoca inoltre edema nello scroto, negli arti, nel ventre e nelle palpebre (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). Negli stalloni con infezione acuta è stata osservata una temporanea diminuzione della fertilità (6-11 settimane dopo l'infezione), dovuta probabilmente ad un aumento della temperatura testicolare: a una diminuzione della libido si accompagna quindi una riduzione della motilità spermatica, della concentrazione e della percentuale di spermatozoi morfologicamente normali (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). I giovani stalloni che contraggono l'infezione prima della pubertà non diventano portatori. L'infezione nei puledri provoca grave polmonite interstiziale o una sindrome pneumo-enterica e la gravità dell'infezione dipende dall'età del puledro nel momento dell'infezione (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). Nel puledro i segni clinici sono gravi e riguardano soprattutto il tratto respiratorio. In quelli che sopravvivono più di 24h è osservabile febbre, leucopenia e/o trombocitopenia; questi non sono segni diagnostici per l'infezione da EAV ma se combinati dai segni clinici possono aumentare il sospetto clinico di un'infezione dal virus dell'arterite equina. Esami anatomopatologici e istopatologici evidenziano la presenza di polmonite interstiziale (aumento del volume polmonare, del peso e della consistenza, con impronta delle coste), ipertrofia e iperplasia degli pneumociti di tipo II, materiale eosinofilo laminare o granulare nel lume alveolare (membrane ialine), arterite e periarterite con necrosi fibrinosa della tonaca media. In seguito ad infezione batterica secondaria (ad esempio da *E. coli* o *K. Pneumoniae*) si può sviluppare una polmonite bronco-interstiziale purulenta (Del Piero et al. 1997). L'infezione negli

adulti in genere non è fatale, mentre se contratta da puledri di pochi giorni o settimane la prognosi è infausta.

In seguito ad infezione per via respiratoria l'epitelio del tratto respiratorio e i macrofagi alveolari vengono invasi dal virus che inizia a replicare e nelle prime 48 ore EAV raggiunge i linfonodi locali, in particolare quelli bronchiali, e inizia l'eliminazione virale tramite le secrezioni nasali (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018). Dopo 3 giorni dall'infezione il virus è rilevabile nei linfonodi broncopolmonari, nell'endotelio e nei macrofagi circolanti. 6-8 giorni dopo l'infezione si sviluppa arterite necrotizzante e pan vasculite in seguito alla localizzazione del virus nell'endotelio e nei miociti dei vasi sanguigni (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). I macrofagi alveolari, a differenza di quelli circolanti, sono refrattari alla replicazione produttiva del virus. In seguito all'infezione aumenta la produzione di citochine infiammatorie (IL-1b, IL-6, IL-8 e TNF-a) e l'intensità della risposta infiammatoria dipende dalla virulenza del ceppo virale. Le citochine infiammatorie hanno la funzione di limitare la replicazione virale ma potrebbero contribuire al danno vascolare e tissutale che caratterizza l'infezione da EVA (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). La clearance del virus avviene 28 giorni dopo l'infezione e coincide con la comparsa e l'aumento nel siero di anticorpi neutralizzanti (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018). L'aborto avviene se la fattrice contrae l'infezione nel periodo compreso dai due mesi a fine gravidanza. L'infezione transplacentare del feto avviene in seguito alla miometrite con degenerazione dei miociti e successiva infiltrazione di cellule mononucleate. L'antigene virale è riscontrabile tramite immunofluorescenza nel miometrio e ghiandole endometriali, nel feto abortito (negli pneumociti, macrofagi alveolari, epitelio timico, cellule reticolari della milza, cellule endoteliali, cellule renali interstiziali, cellule glomerulari, cellule tubulari e enterociti) e, in maggior quantità, nello strato sotto-villoso della placenta (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). In caso di aborto la fattrice presenta un quadro sistemico (ipertermia, depressione del sensorio, anoressia, edema ventrale e sugli arti); il meccanismo di aborto non è ancora completamente compreso, ma è stato ipotizzato che avvenga in seguito alla vasculite dei vasi nel miometrio che porta a necrosi del miometrio, disfunzione placentare e distacco del corion (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018; Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). La presenza di puledri neonati morti e feti abortiti senza ritrovamenti immunoistochimici e con le fattrici sieropositive suggerisce che la causa dell'aborto risiede in anomalie placentari e uterine più che nell'infezione fetale (Del Piero et al. 1997).

Molecole antivirali efficaci contro EVA comprendono gli oligomeri morfolino fosforodiamidati (analoghi del DNA a singolo filamento) e le lectine (agenti leganti i carboidrati). Lo stato di portatore nello stallone infetto è collegato al testosterone, quindi l'inibizione della secrezione di

testosterone potrebbe limitare l'eliminazione di EVA (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). Si stanno studiando altre molecole come la ribavirina e due composti descritti precedentemente come inibitori del diidrodorato deidrogenasi (il quarto enzima della via di biosintesi della pirimidina); queste molecole inibiscono l'effetto citopatico di EVA e gli inibitori della biosintesi della pirimidina potrebbero agire come inibitori per l'intero ordine dei *Nidovirales* (Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). Al momento non esistono approcci terapeutici efficaci nell'eliminare lo stato di portatore negli stalloni. Per i puledri neonati con polmonite interstiziale o sindrome pneumoenterica non ci sono trattamenti disponibili, se non quello antibiotico per prevenire infezioni batteriche secondarie (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018).

Sono disponibili vaccini contro EVA ma è sconsigliato l'uso nelle fattrici gravide (per il rischio di aborto) e nei puledri con meno di 6 mesi. Questi ultimi possono essere vaccinati solo se ad alto rischio. La vaccinazione conferisce rapidamente l'immunità che dura 1-3 anni ma non protegge dalla reinfezione. I puledri nati da madre sieropositiva ricevono tramite il colostro gli anticorpi contro EVA, che appaiono nel siero poche ore dopo l'ingestione del colostro e raggiungono il picco una settimana dopo. L'immunità passiva scende drasticamente 8 mesi dopo la nascita, quindi se necessario la vaccinazione può essere eseguita a quest'età (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018; Mahmoud, Fouad, e Amin 2023). Vaccinando i puledri prima della pubertà si ottiene un'immunità protettiva e la resistenza allo sviluppo dello stato di portatori nei giovani stalloni. Gli stalloni portatori possono essere accoppiati solo con fattrici sieropositive (in seguito a vaccinazione o infezione naturale), che dovranno essere poi isolate per 21 giorni (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018).

I segni clinici di EVA non sono patognomonici e nella diagnosi differenziale devono essere messe altre patologie, come l'infezione da EHV-1 e 4, influenza equina e adenovirus equino. La diagnosi viene fatta con l'isolamento virale tramite PCR, mentre l'immunoistochimica o l'esame sierologico (basato sulle norme prescritte dall'OIE per la virus-neutralizzazione) costituiscono il metodo indiretto per l'identificazione dell'infezione, anche se non è possibile distinguere un animale infetto da uno vaccinato. Tramite l'immunoistochimica l'Ag è visibile principalmente all'interno delle cellule (intracitoplasmatico). L'Ag è soprattutto nelle cellule endoteliali e nei miociti delle venule ma spesso i vasi positivi all'immunoistochimica presentano lievi lesioni (edema) o nessuna lesione. L'Ag si trova anche nei pneumociti e nei macrofagi alveolari (Del Piero et al. 1997). La diagnosi per gli stalloni portatori viene fatta tramite ricerca di anticorpi neutralizzanti nel siero e identificazione del virus nel seme. I campioni di tessuto di puledri o feti abortiti possono essere fissati in soluzione con 10% di formalina per l'esame istopatologico e immunoistochimico. In caso

di aborto dovrebbero essere raccolti campioni di tessuto dal feto, dalle membrane fetali e dal fluido amniotico. In caso di puledro morto in seguito a polmonite interstiziale o sindrome pneumo-enterica i tessuti da campionare comprendono i polmoni, la milza e altri tessuti linfoidei come il timo, linfonodi mesenterici e bronchiali e i reni (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018).

EVA è una malattia notificabile e in caso di focolaio gli animali con sintomatologia clinica e quelli entrati in contatto con loro devono essere isolati e devono essere interrotte tutte le movimentazioni di animali. La diagnosi dovrebbe essere sempre confermata da un test di laboratorio ma in attesa della conferma devono essere implementate misure di isolamento e quarantena degli animali malati. Le misure di quarantena possono essere sospese quando non sono evidenziati nuovi casi per 3-4 settimane (Balasuriya, Carossino, e Timoney 2018).

Negli ultimi 20 anni in Europa il monitoraggio degli stalloni combinato con il programma di vaccinazioni ha avuto come risultato una diminuzione della prevalenza di stalloni sieropositivi e eliminatori del virus (Kaps, Wenderoth, e Aurich 2023).

## ADENOVIRUS EQUINO

Gli adenovirus nel senso comune sono considerati patogeni lievi e praticamente irrilevanti, tant'è che sono stati promossi come vettori per vaccini e usati nel campo dell'ingegneria genetica umana come vettori di geni per correggere difetti genetici. Nonostante nella maggioranza dei casi nella popolazione animale l'infezione passa senza grandi conseguenze gli adenovirus devono essere considerati microorganismi patogeni (Suddert M.J. 2003), e l'infezione può avere anche conseguenze gravi.

L'adenovirus equino 1 (EAdV1) è distribuito in tutto il mondo e provoca patologia acuta del tratto respiratorio superiore, congiuntivite follicolare, broncopolmonite e infezione del tratto intestinale con la produzione di feci molli (Suddert M.J. 2003). EAdV1 è stato isolato anche in puledri sani, ma è riconosciuto come causa di polmonite fatale in puledri Arabi con grave immunodeficienza combinata (SCID); sono comunque riportati casi di polmonite associata ad adenovirus anche in puledri apparentemente immunocompetenti (Bell et al. 2006). In puledri immunocompetenti la clearance del virus può avvenire in una settimana, tuttavia è possibile l'inizio di un'infezione batterica secondaria da patogeni opportunisti che complicano e prolungano la patologia respiratoria ed enterica (Suddert M.J. 2003).



Gli Adenovirus sono virus icosaedrici a doppio filamento di DNA e causano una varietà di patologie (respiratorie, enteriche e infezioni disseminate) in diverse specie, spesso più gravi nei neonati. La maggior parte degli Adenovirus sono ospite-specifici, sono isolati dal tratto respiratorio superiore e in genere causano infezione subclinica o lieve patologia delle vie respiratorie superiori (Lee et al. 2022). Sono stati identificati due Adenovirus equini: EAdV1, isolato in tutto il mondo da secrezioni nasofaringee di puledri e cavalli con o senza patologia; e EAdV2, isolato da linfonodi e feci di puledri con patologia al tratto respiratorio superiore e diarrea (Bell et al. 2006).

In base a studi sierologici, EAdV1 è endemico nella maggior parte delle popolazioni equine ed ha distribuzione mondiale con sieroprevalenza variabile: per esempio in Inghilterra è stata riportata sieroprevalenza del 24,1%, in Giappone dell'82,7% e 8,6%, in Irlanda del 10,6%, in Australia del 54,9% e 77%. In paesi come Francia, Belgio, Turchia e Giappone il tasso di positività è basso e varia da 1,4% a 3,9% (Lee et al. 2022). Le infezioni da EAdV1 sono spesso subcliniche e il virus può persistere nel cavallo per un lungo periodo (può essere isolato tramite tampone nasofaringeo anche 68 giorni dopo l'esposizione); tutte le infezioni da Adenovirus sembrano quindi essere seguite da uno stato di portatore latente (Suddert M.J. 2003). Sembra esserci un'elevata frequenza di reinfezioni in cavalli suscettibili soprattutto all'interno di popolazioni chiuse. Queste infezioni avvengono anche in presenza di un elevato titolo anticorpale nel siero e questo potrebbe essere dovuto al rapido declino delle IgA nasali che rendono il cavallo suscettibile ad una reinfezione nonostante gli alti livelli di anticorpi nel siero (Suddert M.J. 2003). I puledri, anche se hanno assunto gli anticorpi materni, possono ricevere l'infezione dalla fattrice o dagli altri cavalli durante il periodo d'allattamento. In caso di infezione in un puledro con anticorpi materni, in genere non si sviluppa patologia clinica. La patologia si presenta nel caso in cui l'infezione sia avvenuta nel momento di declino del titolo anticorpale materno o in puledri che non riescono a sviluppare una risposta immunitaria attiva. Il tasso di infezione nel primo anno di vita è alto, e in alcune popolazioni il 50% dei puledri con meno di un anno mancano di anticorpi contro EAdV1 e sono quindi a rischio di sviluppare la patologia (Suddert M.J. 2003).

EAdV1 viene trasmesso in seguito a infezione respiratoria o oculare tramite goccioline infette o stretto contatto con un animale infetto. EAdV1 può infettare anche le cellule del tratto gastroenterico e quindi probabilmente può essere trasmesso anche tramite un ciclo oro-fecale (Suddert M.J. 2003). Le fattrici sono probabilmente la causa dell'infezione dei puledri al momento della nascita, ma le modalità di trasmissione non sono ancora chiare (Bell et al. 2006).

La sintomatologia clinica in adulti include scolo nasale, tosse in seguito a sforzo, aumento dei linfonodi sottomandibolari, piressia e feci molle (Lee et al. 2022). In cavalli immunocompetenti la

guarigione avviene in una settimana, ma infezioni miste con altri virus (come EHV-1, EHV- 4, e virus della rinite equina A e B) o batteri può provocare una patologia più grave e prolungata. In puledri Arabi con SCID provoca polmonite fatale ma sono stati anche riportati casi sporadici di grave polmonite in puledri Purosangue non immunodeficienti. I segni clinici in questo caso sono scolo nasale mucopurulento, grave congiuntivite follicolare, anoressia e piressia transitoria e prolungata polipnea. La patologia appare più grave in puledri immunocompetenti che però non hanno assunto il colostro: in caso di assunzione di colostro la febbre è meno marcata e ha minore durata, la congiuntivite è meno grave e lo scolo nasale è minimo, mentre in caso di fallimento del passaggio di anticorpi materni la patologia respiratoria è più grave ed è più spesso associata a polmonite. Nonostante EAdV1 sia stato riportato come causa potenziale di aborto in seguito a inoculazione intrauterina del virus, non è stata provata la sua capacità di provocare aborto in natura (Suddert M.J. 2003).

EAdV1 e EAdV2 sono virus ospite-specifici e sono coltivabili solo in cellule di origine equina. Il ciclo di replicazione dell'adenovirus equino inizia con l'attaccamento ai recettori cellulari tramite i pentameri provvisti di fibre e con l'invaginazione clatrina-mediata. Nel citoplasma i pentameri sono rimossi, il genoma viene rilasciato ed entra nel nucleo dove inizia la trascrizione. Nel nucleo i trascritti di RNA vengono tradotti prima in 12 proteine precoci non strutturali e in seguito nelle proteine strutturali. I virioni vengono assemblati nel nucleo dove formano aggregati cristallini visibili istologicamente come corpi inclusi intranucleari. Il rilascio dei virioni avviene con lisi cellulare (Suddert M.J. 2003). In seguito all'infezione il virus si replica nelle cellule epiteliali del tratto respiratorio provocando quindi la loro lisi e desquamazione. Le cellule sottostanti non infette reagiscono andando in iperplasia. Le lesioni patologiche comprendono rinite, congiuntivite, tracheite e polmonite. Nelle aree affette dei polmoni ci può essere sia broncopolmonite che polmonite interstiziale. All'istopatologia si osserva proliferazione e disorientamento delle cellule dell'epitelio nasale colonnare ciliato ed essudato cellulare nel lume della cavità nasale. Anche l'epitelio bronchiale si presenta con proliferazione e con elevato essudato cellulare. Nelle cellule epiteliali sono visibili i corpi inclusi virali. Si può osservare anche atrofia dei villi duodenali (Suddert M.J. 2003). Le lesioni patologiche e istopatologiche nei puledri che hanno ricevuto il colostro sono le stesse di quelli senza immunità passiva, ma meno gravi.

La diagnosi di polmonite da Adenovirus viene fatta associando la patologia respiratoria (determinata tramite auscultazione toracica, radiografie ed ecografie) con l'isolamento virale e/o con istopatologia polmonare associata con la presenza di EAdV1 (Bell et al. 2006). L'isolamento virale tramite tamponi nasali e congiuntivali è possibile ma non è riportato frequentemente. In caso

di tamponi rettali è necessario differenziare EAdV1 da EAdV2. Tramite la tecnica di colorazione negativa al microscopio elettronico è possibile individuare velocemente l'adenovirus da preparazioni fecali. Per studi sieroepidemiologici è possibile utilizzare immunoprecipitazione, la fissazione del complemento, emoagglutinazione e sieroneutralizzazione (SN). La sieroneutralizzazione rimane il *gold standard* per la tipizzazione sierologica e si è dimostrata una tecnica più sensibile rispetto all'ELISA. La SN, tuttavia, richiede tempo quindi non è usata di routine per la diagnosi di infezioni da Adenovirus. È stata inoltre sviluppata la PCR sia per EAdV1 che per EAdV2 ed è un buon metodo per la diagnosi (Giles et al. 2010; Suddert M.J. 2003). Sono stati fatti tuttavia pochi studi riguardo l'individuazione molecolare di EAdV1 da tamponi nasali rispetto a quelli sierologici (Lee et al. 2022).

### **Puledri con PSCID e infezione da Adenovirus**

L'immunodeficienza combinata (PSCID) è un difetto immunologico correlato ad un gene autosomico recessivo; quindi, solo cavalli con due copie del gene manifestano la patologia. Fino ad oggi PSCID è stata osservata solo in puledri con sangue arabo. È possibile fare diagnosi di cavalli con genotipo normale, portatori o malati tramite l'utilizzo di oligonucleotidi contro la forma normale e difettiva di DNA-PKcs. In seguito a test degli animali e all'eliminazione dalla riproduzione dei portatori, i puledri con PSCID negli Stati Uniti e in Australia sono passati dal 2-3% allo 0,18%, e i portatori sono passati dal 30% all'8,4% e questo trend in diminuzione dovrebbe continuare (Suddert M.J. 2003). Il controllo della PSCID è possibile quindi evitando di far riprodurre portatori eterozigoti.

La broncopolmonite da adenovirus è secondaria alla sindrome di immunodeficienza combinata. I puledri affetti alla nascita appaiono normali e allattano normalmente. L'inizio della patologia si osserva circa a 25 giorni di vita ed è caratterizzata da scolo nasale inizialmente sieroso ma che col tempo diventa mucoso e potrebbe occludere parzialmente le narici rendendo difficile anche l'assunzione di latte. Il puledro va incontro a perdita di peso, ipertermia intermittente, tosse e dispnea. Il pelo diventa secco e arruffato e si osserva frequentemente perdita di pelo soprattutto intorno al muso, agli occhi e alla base delle orecchie. I segni clinici possono presentarsi a diverse età a seconda della quantità di anticorpi materni presenti nei confronti dei diversi batteri, virus e protozoi che infettano successivamente questi puledri. La caratteristica patologica predominante in puledri con PSCID è appunto una broncopolmonite progressiva e intrattabile da EAdV1, anche se al decesso del puledro contribuiscono anche altri patogeni e commensali (Suddert M.J. 2003).

I puledri con PSCID mostrano un progressivo declino nella salute nonostante la terapia intensiva. Il trattamento antibiotico ad ampio spettro e la terapia di supporto, che comprende l'amministrazione di fluidi e di siero con alti livelli di anticorpi contro EAdV1, può allungare il corso della malattia, ma i puledri muoiono comunque a 34-77 giorni di età (Suddert M.J. 2003).

La diagnosi di PSCID *ante-mortem* viene fatta tramite conta linfocitaria, i puledri infatti sono linfopenici alla nascita. Una quantità di linfociti inferiore a 1000 linfociti/mm<sup>3</sup> può essere considerata diagnostica. L'assenza di IgM dal sangue prima dell'assunzione del colostro contribuisce alla diagnosi, in quanto normalmente sono sintetizzate dal feto. Dopo l'assunzione del colostro IgG, IgM e IgA sono presenti nel siero del puledro ma quando gli anticorpi materni calano non sono sostituiti quindi il puledro con PSCID diventa ipo-gammaglobulinemico e probabilmente dai 25 giorni di vita le IgM non sono più presenti nel siero.

Lesioni patologiche di puledri con PSCID e infezione da EAdV1 comprendono estensiva rinite, tracheite e broncopolmonite: in genere 25% del volume polmonare, soprattutto nella porzione cranio-ventrale, è consolidato. Il polmone patologico non collassa e al taglio i bronchi appaiono pieni di essudato catarrale-purulento. È possibile osservare anche ascessi polmonari con diametro che varia da pochi mm a qualche cm e dai quali viene isolato *R. equi*. In questi puledri il timo si presenta piccolo, costituito da porzioni rosa salmone o trasparenti disseminate nel mediastino anteriore; istologicamente la maggior parte del timo è costituito da tessuto adiposo e c'è assenza totale di linfociti nella corticale. Anche i linfonodi di tutto il corpo appaiono piccoli e sia nei linfonodi che nella milza all'istologico è osservabile assenza di follicoli e linfociti periarteriolari (nella milza) o nella zona corticale profonda e interfollicolari (nei linfonodi). All'esame istologico si osserva congiuntivite, rinite e tracheite con corpi inclusi nelle cellule epiteliali. L'epitelio bronchiale e dei turbinati va incontro a proliferazione e si osserva l'infiltrato infiammatorio cellulare nella regione sotto-epiteliale e nel lume. I bronchi infetti sono circondati da aree di polmonite interstiziale. La presenza dell'antigene virale nelle cellule dell'epitelio bronchiale è dimostrabile tramite immunofluorescenza indiretta (Suddert M.J. 2003). Gli eventuali ascessi da *R. equi* richiamano un infiltrato cellulare costituito quasi esclusivamente da leucociti polimorfonucleati; sono presenti occasionalmente dei macrofagi mentre non ci sono linfociti. Da circa la metà dei polmoni dei puledri con PSCID è possibile isolare *Pneumocystis carinii*, un protozoo che si trova comunemente nei polmoni di umani affetti da HIV/AIDS (Suddert M.J. 2003).

Un altro organo colpito è il pancreas, con lo sviluppo di una grave e diffusa pancreatite adenovirale, con setti inspessiti e fibrotici e cellule infiammatorie costituite quasi esclusivamente da neutrofili polimorfonucleati. I corpi inclusi sono visibili in cellule acinari e duttali e tramite

immunofluorescenza è dimostrabile la presenza dell'antigene virale. Le ghiandole salivari labiali e parotidiche possono andare incontro a una sialoadenite adenovirale e può essere presente anche cistite e pielite (Suddert M.J. 2003).

## **2.4 POLMONITE INTERSTIZIALE (ALI e ARDS)**

La polmonite interstiziale rappresenta un gruppo di malattie respiratorie infiammatorie acute e croniche che possono causare marcati danni alveolari e compromissione dello scambio gassoso nei cavalli di tutte le età, con prognosi in genere negativa (Wilkins e Lascola 2015). Si tratta di una sindrome piuttosto che una patologia: presenta eziologia multifattoriale e consiste in una risposta stereotipata del polmone a diversi patogeni o sostanze irritanti, presenti spesso in più di uno simultaneamente (Punsmann et al. 2020). Tra le polmoniti interstiziali vengono comprese la fibrosi multinodulare polmonare equina (*Equine multinodular pulmonary fibrosis*, EMPF), tipica del cavallo adulto, e il danno polmonare acuto/sindrome da insufficienza respiratoria acuta (*acute lung injury*, ALI/ *acute respiratory distress syndrome*, ARDS).

Le cause di polmonite interstiziale sono diverse e possono essere presenti più di una contemporaneamente (vedi tabella 3): virus (EHV, EIV, EAdV), batteri (come *E. Coli*, *Rhodococcus equi* e *Klebsiella pneumoniae*), sostanze chimiche tossiche, shock, colpo di calore, DIC e setticemia. *R. equi* non sembra essere sufficiente per causare polmonite interstiziale da solo, ma potrebbe essere un fattore predisponente, mentre *K. Pneumoniae* potrebbe essere un patogeno opportunista secondario più che la causa. In uno studio su nove puledri malati il fungo *Pneumocystis carinii* è stato trovato in tutti i soggetti. Si tratta di un patogeno opportunista che causa polmonite in cavalli immunocompromessi (Punsmann et al. 2020). Anche l'ossigeno può causare polmonite interstiziale e proliferazione di pneumociti di tipo II, soprattutto in puledri neonati sottoposti a ventilazione meccanica per diversi giorni con elevati livelli di ossigeno. Il danno in questo caso sembra causato dalla produzione di specie reattive dell'ossigeno e dal barotrauma (Wilkins e Lascola 2015).

Uremia acuta, shock, ustioni, traumi, sepsi, inalazione di fumo, esposizione a tossine e farmaci, polmoniti, DIC possono produrre una lesione polmonare acuta che viene denominata ALI o ARDS a seconda della gravità (Sprayberry 2015). Per una rappresentazione schematica dei possibili meccanismi fisiopatologici della polmonite interstiziale si rimanda alla figura 2.15. ALI e ARDS sono patologie polmonari acute in risposta a stimoli infiammatori diretti (polmonari) o indiretti (extra-polmonari). ARDS è in genere caratterizzata da infiltrato polmonare bilaterale, edema

polmonare non cardiogeno e ipossiemia severa (rapporto  $\text{PaO}_2/\text{F}_i\text{O}_2$  inferiore o uguale a 200 mmHg). ALI è considerata da molti come precursore della ARDS (rapporto  $\text{PaO}_2/\text{F}_i\text{O}_2$  inferiore o uguale a 300 mmHg). Per la definizione di ARDS e ALI nei puledri neonati sono state create delle sottocategorie specifiche (eqNARDS ed EqNALI), che tengono conto dell'ipossiemia relativa del puledro nelle prime settimane di vita (vedi capitolo 3). I puledri con ARDS o ALI presentano in genere un improvviso e grave stress respiratorio. I puledri possono avere in anamnesi una precedente infezione virale o batterica (ad esempio da *R. Equi*), che infatti costituiscono una fonte di rischio per l'insorgenza di queste sindromi, ma possono anche presentarsi senza alcuna patologia respiratoria pregressa. Pochi minuti/ore dopo l'insulto si ha edema polmonare per aumento della permeabilità capillare (*hallmark* di ALI/ARDS), infiltrazione di cellule infiammatorie, atelettasia, ipertensione polmonare e ridotta *compliance* polmonare (vedi figura 2.4). Clinicamente si osserva dispnea, tachipnea, aumento sforzo respiratorio, occasionalmente respiro paradossale, cianosi e ipossiemia dovuta ad alterazione del rapporto ventilazione/perfusione. ALI e ARDS possono andare incontro a risoluzione dell'edema e dell'infiammazione e alla ricostruzione della membrana epiteliale alveolare o possono risultare in riparazione fibrotica. EqNARDS ed eqNALI vanno distinte dalla sindrome da insufficienza respiratoria nei puledri neonati (NERDS), che è causata da una deficienza primaria di surfactante in puledri con meno di 24h di vita (Wilkins e Lascola 2015).

L'Herpesvirus-5 è associato con una forma nodulare di polmonite interstiziale caratterizzata da fibrosi interstiziale, che viene chiamata EMPF. EMPF riguarda in genere cavalli di età più avanzata, ma è stata trovata in puledri anche di due anni di età.

Spesso non si riesce a identificare la causa primaria e la diagnosi finale è quella di polmonite interstiziale idiopatica.

<i>Acute</i>
Infections (viral, bacterial, fungal, parasitic)
Inhaled chemicals
Oxygen (high $F_{iO_2}$ , >50%)
Smoke
Ingested toxins (or precursors)
Perilla mint
Crofton weed
<i>Crotalaria</i> spp
<i>Senecio</i> spp
Adverse drug reactions
Hypersensitivity
Endogenous metabolic or toxic conditions
ALI/ARDS
Endotoxemia
Systemic inflammatory response syndrome
Disseminated intravascular coagulation
Idiopathic or cryptogenic
<i>Chronic</i>
Infections (Viral, bacterial, fungal, parasitic)
EMPF
Inhaled inorganic dust (pneumoconiosis)
Silicosis
Hypersensitivity
Ingested toxins (or precursors)
Perilla mint
Crofton weed
<i>Crotalaria</i> spp
<i>Senecio</i> spp
Collagen/vascular disorders
Idiopathic or cryptogenic
<i>Abbreviation: <math>F_{iO_2}</math>, fraction of inspired oxygen (21% room air).</i>

TABELLA 3: cause di polmonite interstiziale nei cavalli (Wilkins e Lascola 2015)

La polmonite interstiziale acuta si differenzia dalla broncopolmonite cranioventrale per la mancanza di orientamento attorno alle vie aeree e la frequente distribuzione dorsocaudale delle lesioni. In seguito all'ingestione o inalazione di sostanze tossiche, o infezione di agenti virali che si distribuiscono ampiamente in tutti i polmoni, si creano lesioni attorno ai bronchioli, con accumulo interstiziale di macrofagi, linfociti e plasmacellule. Gli epitelii alveolari e bronchiolari vengono colpiti a causa della loro attività metabolica e/o del tropismo dei virus infettanti. È quindi più appropriato riferirsi a una polmonite di questo tipo come polmonite bronco-interstiziale (Lakritz et al. 1993).

Segni clinici della polmonite interstiziale comprendono tosse, perdita di peso, scolo nasale, intolleranza all'esercizio, tachipnea, dispnea e pattern respiratorio restrittivo. Può essere presente ipertermia e i puledri appaiono in genere depressi, anoressici e cianotici nei casi più gravi. All'auscultazione si percepiscono crepitii e sibili. L'emocromo può mostrare leucocitosi (Punsmann

et al. 2020) e altre alterazioni laboratoristiche includono iper-fibrinogenemia, ipossiemia e acidosi dovuta all'ipercapnia (Wilkins 2003). La patologia può presentarsi in forma acuta o cronica e i cavalli e puledri possono essere valutati diverse volte e trattati per un certo numero di condizioni prima che venga fatta la diagnosi di polmonite interstiziale (Wilkins e Lascola 2015).

La polmonite interstiziale progredisce in quattro fasi (Wilkins e Lascola 2015):

- 1- L'insulto iniziale causa danno al parenchima e alveolite
- 2- Segue poi una fase proliferativa caratterizzata da alterazioni cellulari e del parenchima
- 3- I casi cronici proseguono sviluppando fibrosi interstiziale
- 4- Lo stadio finale consiste in una fibrosi polmonare irreversibile

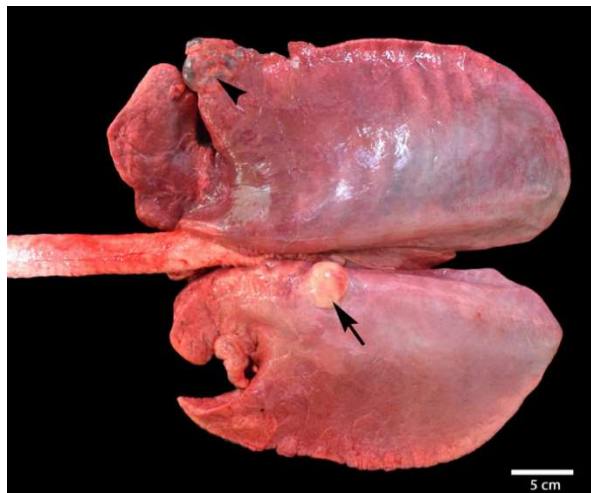


FIGURA 2.13: polmone di puledro con polmonite interstiziale. Sono visibili le impronte costali, un ascesso (freccia) ed enfisema alveolare marginale (Punsmann et al. 2020).

I cambiamenti strutturali che si verificano nel polmone riducono il numero di alveoli funzionali, alterando il rapporto ventilazione/perfusione, riducendo la superficie disponibile per lo scambio gassoso e aumentando lo spessore della barriera di diffusione. La ridotta compliance polmonare è associata alla perdita di alveoli espandibili, alla presenza di edema polmonare e di fibrosi. I polmoni all'esame anatomico-patologico non collassano, presentano le impronte delle coste (figura 2.13) e il parenchima polmonare appare compatto con consistenza carnosa, segno di una polmonite interstiziale diffusa (Punsmann et al. 2020). Una possibile complicanza della polmonite interstiziale è l'ipertensione polmonare, dovuta probabilmente alla vasocostrizione ipossica e alla formazione di sostanze vasoattive come l'endotelina-1, che in situazioni acute alterano le resistenze polmonari, mentre in condizioni croniche alterano l'anatomia vascolare (Wilkins e Lascola 2015). All'istologia



i polmoni dei puledri con polmonite interstiziale presentano edema e infiltrazione cellulare, composta principalmente da macrofagi e in minor misura da neutrofili e linfociti. È osservabile necrosi del parenchima polmonare accompagnato da essudato intra-alveolare e formazione di membrane ialine (figura 2.14). Come segno della fase proliferativa (fase 2) si osserva iperplasia dei pneumociti di tipo II (Punsmann et al. 2020).

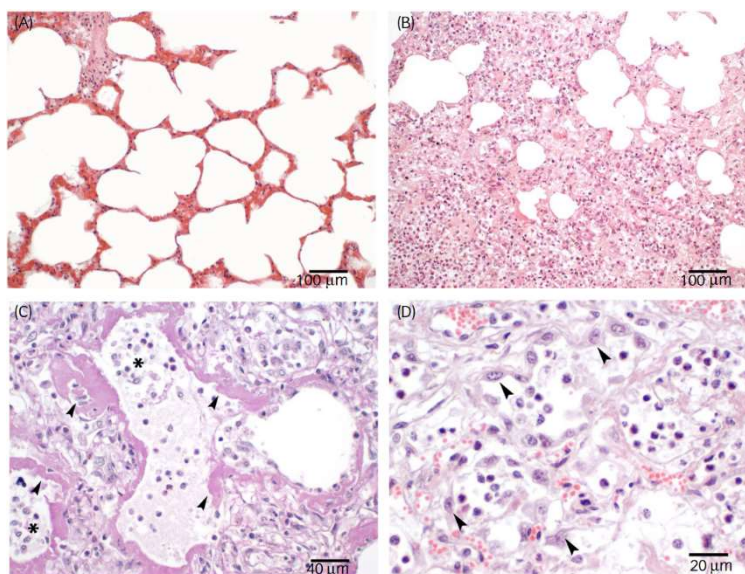


FIGURA 2.14: immagini al microscopio ottico di parenchima polmonare di puledri. A, polmone sano. B, polmone con parenchima collassato che ha portato a perdita della struttura e funzione alveolare. C, la colorazione PAS (*Periodic acid-Shiff reaction*) mostra la formazione di membrane ialine (punte di freccia) e alveolite neutrofilica lieve (asterischi); l'infiammazione interstiziale ha portato all'ispessimento delle pareti alveolari. D, iperplasia degli pneumociti di tipo II (punte di freccia). (Punsmann et al. 2020).

La diagnostica per immagini può aiutare per la diagnosi della patologia (vedi capitolo 3). Alla radiografia toracica si osserva pattern alveolare, interstiziale o bronco-interstiziale diffuso, con possibile presenza di infiltrati nodulari diffusi. All'ecografia toracica si osserva un aumento drastico di code di cometa (*comet tail*) prevalentemente nei campi polmonari dorso-caudali e in alcuni casi possono essere presenti aree ipo-ecogene nodulari di consolidamento polmonare. L'ecografia può anche essere utile per evidenziare eventuale polmonite batterica concomitante e per escludere patologie cardiache (Punsmann et al. 2020). Spesso le colture batteriche e fungine e l'isolamento virale dal BAL non mostrano la presenza di un particolare patogeno che può essere considerato la causa primaria della polmonite interstiziale. Alla citologia tracheale o del BAL in genere si osserva un aumento dei neutrofili e dei macrofagi. Per la diagnosi definitiva *ante mortem* di polmonite

interstiziale cronica, fibrosi polmonare e EMPF è necessario eseguire una biopsia polmonare e l'esame istologico (Wilkins e Lascola 2015).

Il trattamento è spesso non specifico e di supporto. Se è presente infezione batterica non è detto che sia quella la causa principale della polmonite interstiziale, anzi in genere si tratta di batteri opportunisti, ma l'infezione va comunque trattata. Scopo della terapia è quindi trattare eventuali infezioni secondarie, ridurre l'infiammazione, mantenere il trasporto d'ossigeno adeguato, risolvere eventuali broncocostrizioni associate e prevenire o risolvere eventuali complicazioni. È importante mantenere un ambiente con corretta temperatura, umidità e ventilazione. Nei puledri la terapia principale consiste nella somministrazione parenterale di corticosteroidi. Il trattamento antibatterico ad ampio spettro iniziale va poi sostituito con trattamento antibiotico mirato in seguito ad antibiogramma fatto da aspirato trans-tracheale (TTA). I puledri possono trarre beneficio da insufflazione nasale di ossigeno umidificato (10 l/min) e in casi gravi la ventilazione meccanica può essere salvavita. L'utilizzo dei broncodilatatori può peggiorare le alterazioni ventilazione/perfusione quindi meglio somministrarli per via inalatoria e la somministrazione deve essere accompagnata da supplemento di O<sub>2</sub>, monitorata tramite emogasanalisi e interrotta se l'ipossiemia peggiora (Wilkins e Lascola 2015). I polmoni dei puledri che sono guariti dalla polmonite interstiziale acuta sembra che abbiano la capacità di rigenerarsi completamente e non mostrano danni permanenti: anche in seguito a casi gravi, se guariti, i puledri possono condurre con successo una carriera da atleti (Punsmann et al. 2020).

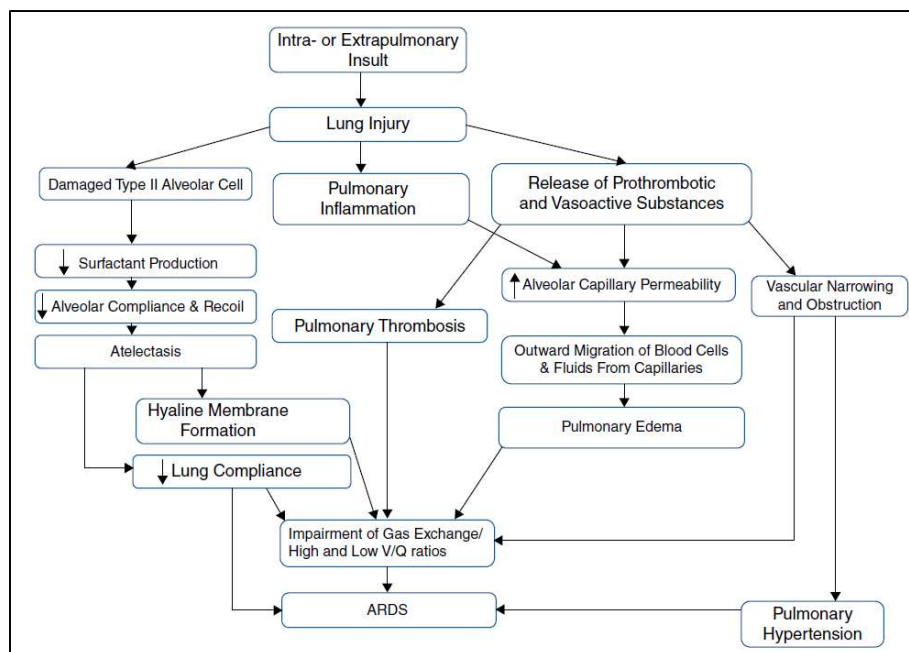


FIGURA 2.15: rappresentazione schematica di alcuni dei meccanismi che contribuiscono alla patofisiologia di ARDS (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 2024).

## 2.5 ALTRE CAUSE DI PROBLEMI RESPIRATORI NEI PULEDRI

Le polmoniti fungine nei puledri neonati o nei feti sono rare ma sono stati riportati casi di polmoniti da *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Aspergillus* e *Coccidioides*. In caso di infezione fungina del feto o del neonato è necessario esaminare il tratto riproduttivo della madre perché può essere stata la fonte di infezione (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Anche la polmonite parassitaria non è frequente nei puledri ma può essere causata da parassiti come *Parascaris equorum*, *Dictyocaulus arnfieldi*, *Strongyloides westeri* e *Strongylus vulgaris*. *P. equorum* è il più frequente nei puledri, mentre nei cavalli adulti immunocompetenti in genere non viene trovato, grazie alla loro abilità di sviluppare immunità acquisita. Le uova embrionate (che possono resistere nel suolo fino a 5 anni) vengono ingerite dal puledro, le larve vengono liberate, tramite i vasi portali raggiungono il fegato, entrano nella vena epatica, poi nella vena cava, raggiungono il cuore, le arterie e i capillari polmonari e entrano negli alveoli; in seguito arrivano ai bronchi, tramite l'apparato muco-ciliare risalgono la trachea e vengono deglutite. Nell'intestino maturano in adulti e depongono le uova. Sebbene i segni clinici di *P. equorum* siano associati prevalentemente al tratto digestivo (coliche, enteriti, riduzione del peso), la presenza di larve migranti nel parenchima polmonare, oltre a causare danni diretti, stimola la liberazione di IgE, mastociti e basofili che rilasciano istamina e fattori chemiotattici. I granuli eosinofili citoplasmatici contengono perossidasi e specie reattive dell'ossigeno che danneggiano le cellule respiratorie provocando una polmonite interstiziale immuno-mediata con aree di necrosi. I segni clinici respiratori (tosse, intolleranza all'esercizio e scolo nasale mucopurulento causato da infezione batterica secondaria) compaiono 11-13 giorni dopo l'infezione e precedono le manifestazioni intestinali (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Le patologie respiratorie nei puledri in alcuni casi sono dovute a problemi di gestione. Ambienti chiusi e polverosi, fieno di cattiva qualità ed elevati livelli di ammoniaca possono causare irritazione e infiammazione delle vie aeree, e il puledro può presentare tosse e lesioni polmonari (vedi caso clinico 6).

Le fratture costali in alcuni casi sono associate a distress respiratorio e possono avere come complicanze una perforazione fatale del miocardio, emotorace e pneumotorace (Wilkins 2003). Le fratture in genere avvengono appena dorsalmente (3 cm) alla giunzione costocondrale delle coste, in

particolare dalla 3 alla 8. La diagnosi è possibile farla tramite palpazione del torace, radiografia ed ecografia. L'ecografia è un metodo più accurato rispetto alla radiografia per fare diagnosi di frattura costale in condizioni di emergenza e permette di evidenziare eventuale versamento pleurico, pericardico o contusione polmonare (vedi capitolo 3). Il trattamento in campo consiste in analgesia e restrizione al movimento per quattro settimane. Il trattamento chirurgico diventa necessario in caso di rischio di danno intratoracico. Il bendaggio è sconsigliato perché c'è il rischio di comprimere il torace causando danno polmonare e un peggioramento dell'insufficienza respiratoria (Boyle 2021).

In seguito a tracheostomia, trauma o ventilazione meccanica con eccessiva pressione positiva si può verificare pneumotorace. Un puledro che in seguito a ventilazione meccanica si presenta con distress respiratorio e ipossiemia deve essere valutato per pneumotorace (Wilkins 2003). La diagnosi è possibile tramite auscultazione, percussione, radiografia ed ecografia.

Se alla fattrice durante la gravidanza viene somministrata una dieta povera di vitamina E o selenio, il puledro una volta nato può sviluppare mio-degenerazione muscolare secondaria. In questo caso si ha un esordio più lento dei sintomi che comprendono debolezza muscolare, tremori, decubito e insufficienza respiratoria in seguito al coinvolgimento dei muscoli intercostali e del diaframma. L'insufficienza respiratoria può essere causata anche da problemi alle alte vie, a causa di debolezza della muscolatura faringea e laringea (Boyle 2021).

In particolari razze come il Clydesdale, il Purosangue e l'Arabo è stata osservata una tachipnea transitoria o idiopatica, osservabile in particolare quando i puledri sono tenuti in ambienti caldi e umidi, e probabilmente è dovuta a meccanismi di termoregolazione immaturi o mal funzionanti. Oltre all'aumento della frequenza respiratoria si osserva un aumento della temperatura rettale e i sintomi possono comparire pochi giorni dopo la nascita e durare diverse settimane (Wilkins 2003).

## CASO CLINICO 6

Puledro di 13 giorni, stabulato in box con fieno di cattiva qualità. Presenta tosse da 3gg; stato del sensorio vigile e puledro attivo (figura 2.16). Temperatura 38.5, all'auscultazione polmonare si sente il murmure rinforzato. All'ecografia toracica sono rilevate *comet tail* nella regione ventrale del polmone.



FIGURA 2.16: il puledro si presentava vigile e attivo. L'ecografia ha il vantaggio di richiedere un contenimento minimo. L'ecografia polmonare viene eseguita con una sonda lineare tra gli spazi intercostali, procedendo in direzione caudo-craniale e dorso-ventrale.

### **3. APPROCCIO DIAGNOSTICO E TERAPEUTICO ALLE PATOLOGIE POLMONARI DEL PULEDRO NEONATO**

#### **3.1 ANAMNESI ED ESAME FISICO**

La visita clinica del puledro con problemi respiratori dovrebbe iniziare, per quanto possibile, con la raccolta dell'anamnesi. In caso di emergenza questo può essere fatto mentre il puledro viene esaminato. Lo sviluppo di patologie respiratorie può essere dovuto a problemi alla nascita come distocie o separazione placentare prematura che possono causare traumi toracici, encefalopatia neonatale o fallimento del trasferimento dell'immunità passiva. Ci possono poi essere patologie congenite, ereditarie (come la paralisi periodica iperkaliemica) o tipiche di certe razze come la sindrome dell'immunodeficienza acquisita (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Bisogna raccogliere informazioni sull'ambiente in cui vive il puledro, su patologie endemiche o epidemiche presenti in scuderia ed eventuali spostamenti del puledro. È poi opportuno informarsi sulle vaccinazioni fatte dalla madre e su tutti i trattamenti somministrati al puledro e le sue risposte.

L'identificazione clinica precoce di patologie respiratorie può risultare difficile perché i puledri riescono a compensare bene la perdita di funzionalità polmonare finché la patologia non peggiora. Non è possibile quindi escludere la presenza di polmonite basandosi solo sui segni clinici e il sistema respiratorio del puledro deve essere valutato tramite una combinazione di esame fisico, auscultazione della trachea e dei campi polmonari, dati clinico-patologici (emocromo, biochimico, emogas-analisi) e tecniche di diagnostica per immagini.

Un puledro sano dovrebbe mettersi in posizione sternale entro secondi o minuti dalla nascita. In media i puledri si alzano entro 1-2h dalla nascita e cominciano ad allattare entro 2-3h. Le mucose e la sclera possono presentare ecchimosi causate dal passaggio attraverso il canale del parto, la presenza di petecchie nelle mucose o nelle orecchie può tuttavia essere indicatore di sepsi. Il tempo di riempimento capillare è uguale a quello dei cavalli adulti (Carr 2014). I puledri alla nascita possono essere bradicardici, ma la frequenza cardiaca dovrebbe aumentare entro poco tempo, fino a raggiungere i valori normali. Una bradicardia persistente potrebbe essere causata da ipossia, ipoglicemia e ipotermia e in questi casi dovrebbe essere istituito un supplemento di ossigeno in attesa di ulteriori esami (Carr 2014).

L'esame fisico inizia con l'osservazione del puledro da lontano perché la manipolazione e il contenimento possono alterare i pattern respiratori risultando in un aumento della frequenza e dello sforzo respiratorio, soprattutto in un puledro sano. Da fuori del box quindi bisogna valutare la frequenza, il pattern e lo sforzo respiratorio a riposo, l'atteggiamento generale del puledro, i suoi movimenti e l'attività spontanea (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). I puledri che presentano disturbi respiratori possono presentare tosse intermittente, frequenza e sforzo respiratorio leggermente elevati ed episodi febbrili intermittenti. I casi più avanzati possono mostrare segni evidenti di compromissione respiratoria (tachipnea, dispnea ed aumento visibile dello sforzo respiratorio), dilatazione delle narici, condizioni corporee scadenti e debolezza generalizzata.

La frequenza respiratoria a riposo di un neonato può arrivare a 80 battiti/ minuto e in genere scende a meno di 30 battiti/minuto in poche ore (Wilkins 2003)

I puledri neonati presentano fisiologicamente un maggiore sforzo respiratorio dovuto all'elevata *compliance* della parete toracica, alla necessità di eliminare i fluidi fetali dal polmone e alla ridotta *compliance* polmonare dovuta alla presenza di questi fluidi fetali negli spazi interstiziali. Se tuttavia questo sforzo non si riduce col tempo, deve essere visto come indicatore di una potenziale patologia respiratoria (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). I puledri malati, deboli, ipoglicemici o che presentano patologia respiratoria possono sviluppare esaurimento dei muscoli respiratori, condizione che peggiora l'atelettasia e la funzione polmonare (Carr 2014).

L'assenza di anomalie all'auscultazione toracica non esclude la presenza di patologie polmonari anche gravi, tuttavia l'auscultazione rimane un aspetto fondamentale della valutazione clinica (Reuss e Cohen 2015). All'auscultazione, durante le prime ore di vita si sente una vera e propria cacofonia di suoni considerata fisiologica perché dovuta alla presenza di fluido fetale nei polmoni e alla graduale apertura delle vie aeree (Wilkins 2003). In un puledro sano il fluido nelle vie aeree viene eliminato entro le prime 4 ore di vita e questo è osservabile tramite radiografia toracica, con le aree ventrali del polmone che vengono liberate per prime (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Anomalie comuni rilevate durante l'auscultazione comprendono aree di ottusità ventrale in caso di significativo versamento pleurico, aree di ottusità dorsale o iper-risonanza in caso di pneumotorace e suoni polmonari aspri dorsali. La variazione nei suoni polmonari fisiologici è ampia e il reperto auscultatorio non sempre è correlato col grado di anomalie polmonari, soprattutto nei puledri. I suoni polmonari occasionali chiamati crepitii sono brevi e discontinui, mentre i suoni continui più lunghi sono chiamati sibili. Crepitii e sibili sono

entrambi udibili nel polmone in posizione declive quando il puledro è stato recentemente in decubito, sempre a causa della parete toracica molto cedevole che provoca atelettasia transitoria. I crepitii si creano quando le vie aeree che sono collassate si riaprono e non implicano necessariamente secrezioni eccessive o edema. Patologie che causano crepitii nel puledro neonato, oltre alla risoluzione dell'atelettasia, comprendono polmonite, edema polmonare e sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS). I sibili rappresentano l'oscillazione delle pareti delle vie aeree prima della chiusura completa (espiratoria) o apertura (inspiratoria). La scomparsa di un sibilo dopo la tosse indica la presenza di secrezioni. Processi responsabili dei sibili includono stenosi delle vie aeree, compressione delle vie aeree esterne, compromissione del lume delle vie aeree da corpo estraneo, materiale purulento, cisti o neoplasia, ispessimento della parete delle vie aeree e broncocostrizione (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Tramite auscultazione e percussione del torace è possibile fare diagnosi di pneumotorace, che può poi essere confermata da radiografia, ecografia e agoaspirato (Wilkins 2003).

Tramite la valutazione delle mucose è possibile valutare se è presente cianosi. La cianosi diventa evidente solo quando è presente 5mg/100ml di deossi-emoglobina (circa 1/3 dell'emoglobina totale); riflette quindi una profonda diminuzione dell'emoglobina saturata con ossigeno ed è indicativa di una condizione di grave ipossiemia. Nel caso in cui l'animale sia anemico la cianosi non è visibile perché non c'è sufficiente emoglobina deossigenata per conferire il colore bluastro. Bisogna comunque tenere conto che i puledri neonati sono tutti cianotici per i primi atti respiratori e le mucose diventano rosee solo quando hanno iniziato la transizione dalla respirazione fetale a quella neonatale (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

La tosse se presente indica un'irritazione non specifica dei recettori delle vie aeree. Può essere dovuta ad un aumento della produzione di muco o altre secrezioni respiratorie o a una ridotta *clearance* mucociliare, ma nei puledri neonati è più spesso causata dall'aspirazione di latte, che può causare polmonite *ab ingestis*. L'aspirazione di latte, dovuta in genere ad anomalie del tratto respiratorio superiore, può essere verificata auscultando la trachea mentre il puledro viene allattato (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Se presente scolo nasale bisogna osservare se è unilaterale o bilaterale: nel primo caso suggerisce un problema localizzato cranialmente alla laringe, mentre se è bilaterale può essere dovuto a patologie sia delle vie superiori che inferiori. Anche se raro, puledri con grave polmonite possono presentare scolo nasale (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).



Bisogna poi palpare e osservare il torace per evidenziare eventuali asimmetrie, gonfiori o profili anomali delle coste che possono indicare traumi toracici e fratture costali. Nella maggior parte dei casi le fratture si trovano 1-3 cm dorsalmente alla giunzione costocondrale e sono più di una. L'ecografia toracica è il *gold standard* per la diagnosi di fratture costali, che se non sono dislocate possono essere difficili da evidenziare tramite solo ispezione e palpazione.

La percussione del torace non viene fatta spesso anche perché difficilmente i puledri tollerano la procedura. Se eseguita può comunque aiutare a identificare pleurodinia o a delineare eventuale versamento pleurico, masse intratoraciche o aree di consolidamento polmonare, ma non consente di distinguere tra questi processi (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). L'ecografia ha sostituito l'esame di percussione, essendo un esame che provoca meno stress al puledro e che consente di distinguere le diverse strutture e i processi patologici intratoracici.

Il pulsossimetro è una tecnica non invasiva che può essere utilizzato per monitorare la saturazione di ossigeno nel sangue, con l'obbiettivo di mantenere  $SaO_2 > 92\%$ , ma l'emogasanalisi arteriosa fornisce una valutazione più completa della funzionalità del sistema respiratorio (Reuss e Cohen 2015). L'emogasanalisi arteriosa è infatti l'indicatore più sensibile della funzionalità respiratoria del neonato a disposizione immediata del clinico. Le arterie più accessibili sono le metatarsali e le brachiali. Le anomalie più comuni riscontrabili all'emogasanalisi sono ipossiemia (riduzione di  $PaO_2$ ) con normo- o ipocapnia e ipossiemia con ipercapnia. L'ipossiemia è un ritrovamento comune nei puledri neonati, soprattutto in quelli con patologie respiratorie, e deve essere valutata in base all'età del puledro, alla difficoltà nel prelevare il campione e alla posizione del puledro (Wilkins 2003). I valori fisiologici dell'emogasanalisi arteriosa sono indicati nella tabella 4.

Postnatal age	pH	Paco <sub>2</sub> (mm Hg)	Pao <sub>2</sub> (mm Hg)
2 minutes	7.31 ± 0.02	54.1 ± 2.0	56.4 ± 2.3
15 minutes	7.32 ± 0.03	50.4 ± 2.7	57.5 ± 3.6
30 minutes	7.35 ± 0.01	51.5 ± 1.5	57.0 ± 1.8
60 minutes	7.36 ± 0.01	47.3 ± 2.2	60.9 ± 2.7
2 hours	7.36 ± 0.01	47.7 ± 1.7	66.5 ± 2.3
4 hours	7.35 ± 0.02	45.0 ± 1.9	75.7 ± 4.9
12 hours	7.36 ± 0.02	44.3 ± 1.2	73.5 ± 3.0
24 hours	7.39 ± 0.01	45.5 ± 1.5	67.6 ± 4.4
48 hours	7.37 ± 0.01	46.1 ± 1.1	74.9 ± 3.3
4 days	7.40 ± 0.01	45.8 ± 1.1	81.2 ± 3.1

TABELLA 4: valori fisiologici di emogasanalisi arteriosa in puledri fino a 4 giorni di vita (Wilkins 2003)

L'ipossiemia presente alla nascita si risolve gradualmente nella prima settimana, quando il polmone si adatta alla respirazione di aria e allo scambio di gas (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Il puledro in condizioni fisiologiche ha una piccola percentuale di *shunt* (10%) che persiste per i primi giorni di vita e contribuisce in parte a una ridotta risposta alla respirazione di 100% di O<sub>2</sub> rispetto al cavallo adulto. In caso di patologie polmonari come polmonite grave, danno polmonare acuto (ALI), o sindrome da insufficienza respiratoria acuta (ARDS), all'emogasanalisi arteriosa potrebbe essere visibile un aumento di PaCO<sub>2</sub>, che indica insufficienza respiratoria (Wilkins 2003).

La maggior parte dei puledri che vengono presentati con insufficienza respiratoria sono nella fase acuta; tuttavia, l'adattamento cronico inizia a manifestarsi dalle 6 alle 12 ore ed ha il picco in 3-5 giorni; in questo caso si osserva un aumento di bicarbonato, soprattutto se l'acidosi è primariamente respiratoria. Puledri che presentano ipercapnia da diversi giorni possono inoltre presentare un ridotto stimolo respiratorio all'aumento della CO<sub>2</sub>. In questi casi la somministrazione di O<sub>2</sub>, sebbene necessaria per trattare l'ipossiemia, potrebbe deprimere ulteriormente la respirazione e provocare un ulteriore abbassamento del pH. Se la PaCO<sub>2</sub> sale sopra i 70mmHg o se c'è una significativa diminuzione del pH bisogna considerare la ventilazione meccanica (Wilkins 2003).

Wong et al. (2015) hanno proposto dei criteri per la diagnosi di SIRS nei puledri (tabella 5) in modo da facilitare la diagnosi precoce in ambito clinico, anche se, al fine di implementare una terapia antibiotica mirata sarebbe necessaria la coltura batterica, che però richiede tempi maggiori. I criteri proposti da Wong et al. comprendono parametri vitali (temperatura rettale, frequenza cardiaca e frequenza respiratoria) e clinico-patologici (emocromo, emogasanalisi, lattati e glucosio). Viene proposta la divisione dei puledri in cinque gruppi di età basati sui cambiamenti fisiologici a cui il puledro va incontro col passare del tempo: neonati fino a 3 giorni di età, puledri dai 4 ai 14 giorni di età, giovani puledri dai 15 giorni ai 6 mesi di vita e puledri in svezzamento (dai 7 mesi a 1 anno). La diagnosi di SIRS richiede la presenza di almeno tre dei sei criteri diagnostici di seguito elencati (e presenti nella tabella 5), uno dei quali deve essere temperatura anomala o conta leucocitaria anomala:

- 1- Temperatura corporea superiore o inferiore a limiti prefissati.
- 2- Tachicardia, definita come una frequenza cardiaca superiore di due deviazioni standard da quella fisiologica per l'età.
- 3- Tachipnea, definita come una frequenza respiratoria superiore di due deviazioni standard da quella fisiologica per l'età.
- 4- Conta leucocitaria aumentata o diminuita rispetto alla normalità per un puledro di quell'età, oppure neutrofili banda (quindi immaturi) superiori al 5%.
- 5- Livello di lattati nel sangue venoso (mmol/L) superiori ad una determinata soglia.
- 6- Livello di glucosio nel sangue venoso (mg/dL) inferiore a una determinata soglia.

Per la valutazione dei parametri vitali, bisogna accertarsi che il puledro sia a riposo o comunque che si sia calmato mentre viene contenuto, altrimenti si rischia un aumento di frequenza cardiaca e respiratoria dovuto a stress e non correlabile con la patologia.

<b>Table 1</b> Proposed SIRS criteria for foals, which require the presence of at least 3 of the following criteria, 1 of which must be abnormal temperature or leukocyte count				
Parameter	Newborn Foal (Birth to 3 d of Age)	Neonatal Foal (4–14 d of Age)	Juvenile Foal (15 d to 6 mo)	Weanling Foal (7 mo to 1 y)
Fever or hypothermia (rectal temperature)	>102.6°F [39.2°C] or <99°F [37.2°C]	>102.6°F [39.2°C] or <99°F [37.2°C]	>102.6°F [39.2°C] or <99°F [37.2°C]	>102.6°F [39.2°C] or <99°F [37.2°C]
Tachycardia (beats/min)	>115	>120	>96	>60
Tachypnea (breaths/min)	>56	>56	>44	>20
Leukocytosis ( $\times 10^3$ ), leucopenia ( $\times 10^3$ ), or >5% band neutrophils <sup>a</sup>	>14.4 or <6.9	>12.5 or <4.0	>12.5 or <4.0	>12.5 or <4.0
Venous blood lactate level (mmol/L)	>5.0	>2.5	>2.5	>2.5
Venous blood glucose level (mg/dL)	<50	<50	<50	<50

<sup>a</sup> Varies with individual clinicopathology laboratories.

TABELLA 5: parametri per la diagnosi di SIRS nei puledri (Wong e Wilkins 2015)

## 3.2 DIAGNOSTICA COLLATERALE

### 3.2.1 ECOGRAFIA TORACICA

L'ecografia toracica ha diversi vantaggi rispetto alla radiografia: non ha rischi per il personale, è facilmente utilizzabile in campo, è necessario solo un minimo contenimento fisico, i risultati sono istantanei, permette una localizzazione più accurata di masse polmonari periferiche e permette di identificare masse che si trovano in sovrapposizione con tessuti molli come il fegato o il liquido pleurico (Ramirez, Lester, e Roberts 2004; Gross et al. 2004). L'ecografia ha inoltre caratteristiche utili in situazioni di emergenza: permette di vedere subito la lateralità di una lesione, non è necessario ottenere l'immagine al picco di inspirazione e permette di esplorare alcuni punti che non sono accessibili con la radiografia come il mediastino craniale e lo spazio pleurico (Sprayberry 2015).

L'ecografia va eseguita mettendo la sonda tra ogni spazio intercostale, tenendo la sonda perpendicolare alla pelle e procedendo in modo sistematico in direzione caudo-craniale e dorso-ventrale. Per consentire adeguato contatto tra la sonda e la pelle in genere è sufficiente l'applicazione topica di alcool, ma se l'immagine non è di qualità sufficiente è necessario rasare il pelo e applicare il gel da ecografia (Ramirez, Lester, e Roberts 2004). Quando l'arto viene

mantenuto in posizione neutrale la quinta costa in genere è la prima che può essere palpata, appena caudalmente al tricipite. I polmoni si trovano tra il terzo e il quindicesimo spazio intercostale; il polmone craniale occupa la regione ventrale, media e dorsale del torace ma procedendo caudalmente viene a trovarsi solo nella regione media e dorsale. La sonda lineare o *microconvex* con frequenza 7,5 MHz permette di arrivare a una profondità di 5-10 cm consentendo una visione ottimale del torace di un puledro. Le strutture evidenziabili tramite ecografia toracica sono lo spazio pleurico, i polmoni, il cuore (visibile ventralmente nello spazio tra la terza e la quinta costa circa), il timo, il diaframma e le coste. A causa della forza di gravità, il versamento pleurico e il consolidamento polmonare sono spesso visibili nell'area caudale al cuore e cranio-laterale al diaframma (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

La superficie pleurica di un polmone sano appare ecograficamente come una linea regolare iperecoica con artefatti di riverbero equidistanti che si ripetono in profondità (figura 3.1). La linea iperecoica si muove in modo sincrono con la respirazione (il cosiddetto *glide sign*). In un puledro sano non dovrebbe essere visibile fluido pleurico, con la possibile eccezione di una piccola quantità di fluido anecogeno appena caudale e ventrale al cuore. In caso di versamento pleurico, nella parte ventrale della cavità pleurica il *glide sign* non è più visibile; in caso di pneumotorace, al contrario, il *glide sign* non è più visibile nella parte dorsale (Sprayberry 2015).

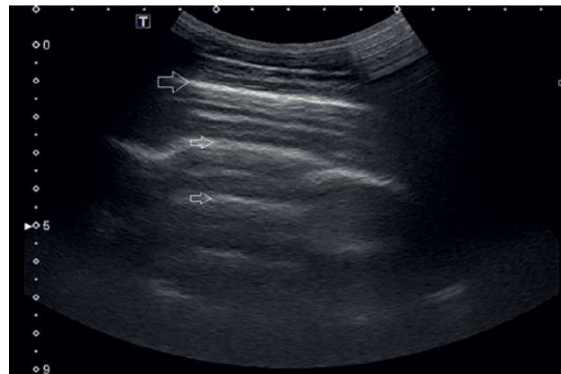


FIGURA 3.1: Ecografia toracica di un puledro di 3 settimane eseguita a livello dell'ottavo spazio intercostale. La freccia grande indica la superficie pleurica, mentre le frecce piccole evidenziano l'artefatto di riverbero visibile normalmente a causa della presenza di aria nel polmone (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Alterazioni della superficie pleurica appaiono come linee ecoiche verticali chiamate *comet tail* (figura 3.2). Le *comet tail* sono dovute alla presenza di una piccola quantità di fluido (essudato, sangue, muco o trasudato) o di infiltrato cellulare sulla superficie del polmone (Wong e Wilkins

«Equine neonatal medicine», 2024; Gross et al. 2004); questi artefatti indicano perciò delle irregolarità sulla superficie pleurica, ma non danno informazioni riguardo al parenchima sottostante. Le *comet tail* si formano come tipica risposta ad un'infezione nella fase iniziale, non complicata quindi da altre patologie (come ALI o ARDS). Un piccolo numero di *comet tail* può essere però visibile anche in un puledro sano; La loro presenza, quindi, va interpretata in base al numero, alle dimensioni e poi in base ai segni clinici, ai risultati dell'esame fisico e ad altri test diagnostici come la radiografia toracica (Sprayberry 2015).

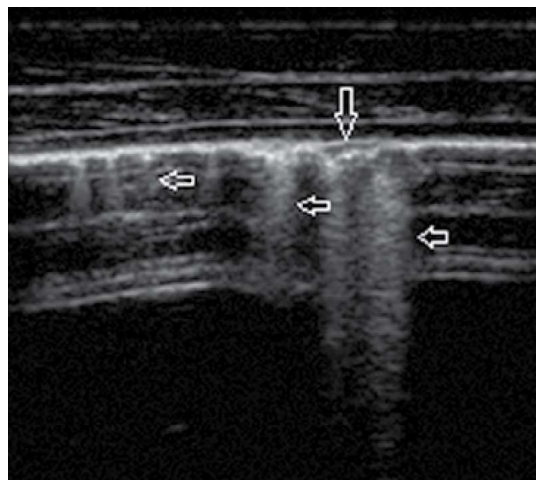


FIGURA 3.2: ecografia polmonare di puledro neonato con polmonite. Le frecce orizzontali indicano le *comet tail*, mentre la freccia verticale indica la presenza di una piccola quantità di fluido anecoico nello spazio pleurico (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Le condizioni patologiche che possono essere rilevate attraverso l'ecografia toracica includono polmonite/pleuropolmonite, edema polmonare, consolidamento polmonare, ascessi polmonari, fratture costali, emotorace e pneumotorace.

Sebbene il versamento pleurico sia relativamente raro nel puledro neonato, se presente, il liquido si trova tra la parete toracica e la superficie pleurica viscerale, il diaframma e/o il cuore. Il liquido pleurico può essere trasudato (fluido anecoico, con poche proteine e bassa cellularità) o essudato (fluido con più proteine quindi con maggiore ecogenicità). In caso di emotorace il fluido appare iper-ecoico e con movimento vorticoso. È possibile fare un prelievo eco-guidato di fluido in modo da poter valutare la presenza di cellule o fibrina (quest'ultima visibile come striature iper-ecoiche all'interno del fluido). La presenza di liquido pleurico nel puledro neonato può essere dovuta a polmoniti, emotorace, uro-peritoneo con diffusione di fluido peritoneale nello spazio pleurico, ferite

penetranti o anomalie congenite nel torace (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Tramite l'ecografia è possibile identificare aree di consolidamento polmonare dovute ad accumulo di fluido o infiltrato cellulare. Anche una piccola aera di consolidamento polmonare è importante clinicamente, soprattutto se il cavallo mostra altri segni di patologia respiratoria come tosse, suoni anomali all'auscultazione, ipertermia o se sono presenti segni di infiammazione nel fluido trans-tracheale, nel fluido di lavaggio bronco-alveolare o nella conta leucocitaria (Gross et al. 2004). Il polmone consolidato (figura 3.3 e 3.4) appare spesso come un'area ipo-ecogena di parenchima polmonare che può mantenere o meno l'anatomia del polmone (a seconda della gravità del processo), con perdita della linea iper-ecogena della pleura (Ramirez, Lester, e Roberts 2004). Possono essere visibili vasi polmonari, broncogrammi aerei e, se sono presenti broncogrammi fluidi all'interno di un polmone consolidato, l'organo può apparire ecograficamente simile al fegato (polmone "epatizzato"). Nel polmone consolidato i vasi polmonari possono essere visibili come strutture tubulari anecoiche che corrono vicino alle vie aeree; tuttavia, nel caso di affezione polmonare in genere si crea uno *shunt* e il sangue viene allontanato dalle aree patologiche quindi i vasi di solito non si vedono. I broncogrammi aerei (figura 3.3) appaiono come strutture iperecogene ramificate all'interno del polmone epatizzato (quindi anecogeno) e sono dovuti alla presenza di gas residui nei bronchi. I broncogrammi fluidi sono visibili in zone di polmone epatizzato dove non c'è più aria nelle vie aeree e appaiono come strutture bronchiali ipo-ecoiche piene di fluido, contornate dalla parete bronchiale iperecoica (Ramirez, Lester, e Roberts 2004). Il consolidamento polmonare può essere il risultato di una broncopolmonite, edema polmonare, necrosi polmonare o neoplasia. In puledri con polmonite è opportuno eseguire anche una radiografia in modo da avere una visione globale dei polmoni e della porzione di parenchima più profondo che non è accessibile tramite l'ecografia (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).



FIGURA 3.3: area di consolidamento polmonare (stella) intervallata da polmone areato (frecce) in un puledro neonato con polmonite. Da notare il broncogramma aereo (cerchio) caratterizzato da una struttura tubulare lineare iper-ecoica circondata da polmone consolidato ipo-ecoico (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

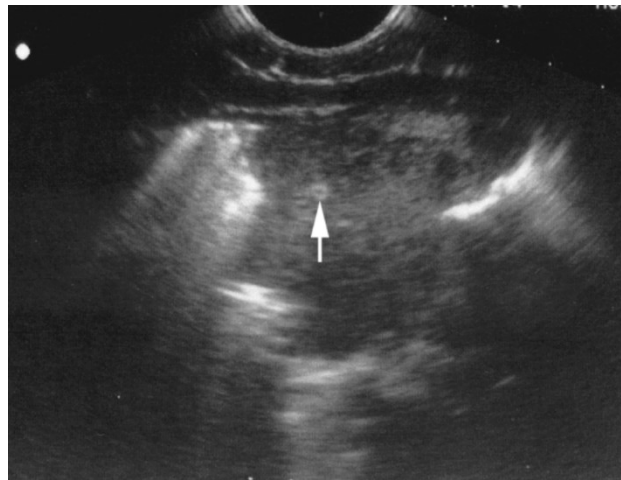


FIGURA 3.4: ecografia toracica di un purosangue di 4 mesi con consolidamento polmonare secondario a polmonite da *R. equi*. Notare, alla periferia del polmone, la regione ipo-ecoica poco definita con margine iper-ecoico indicativo della presenza di aria nel parenchima polmonare circostante. La freccia indica un bronco all'interno del parenchima polmonare (Ramirez, Lester, e Roberts 2004).

Uno studio ha dimostrato che la maggior parte dei cavalli con infezione da virus dell'Influenza A che mostravano segni clinici come tosse, scolo nasale e febbre, all'ecografia toracica presentavano consolidamento polmonare e irregolarità alla periferia del polmone, identificabili come *comet tail*. Queste alterazioni polmonari erano visibili principalmente nel torace cranio-ventrale, area in cui il consolidamento polmonare è più frequentemente riportato nei cavalli (Gross et al. 2004).

In caso di danno polmonare acuto (ALI) o sindrome da insufficienza respiratoria acuta (ARDS) si ha diffusione di fluido e detriti cellulari nello spazio alveolare e nell'interstizio. L'edema polmonare è visibile ecograficamente come un'uniforme infiltrazione ecogenica visibile soprattutto nelle aree dorso-caudali del polmone. Questo pattern è ben riconoscibile (figura 3.5) ma non permette la visualizzazione dei dettagli del tessuto (Sprayberry 2015).

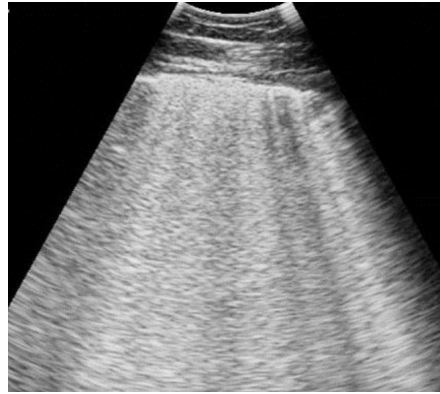


FIGURA 3.5: immagine ecografica di puledro con NARDS (*neonatal acute respiratory distress syndrome*). Le basse vie aeree e l'interstizio si riempiono di cellule e fluido secondari a danno epiteliale ed endoteliale causato da una grave risposta infiammatoria sistemica. Immagine ottenuta con una sonda microconvex da 5MHz con profondità di 10 cm (Sprayberry 2015).

Gli accessi polmonari non sono frequenti nei puledri neonati, con l'eccezione delle infezioni da *Rhodococcus equi* in puledri dalle 3 settimane ai 5 mesi di età. L'ecografia toracica è frequentemente usata come strumento di *screening* precoce (soprattutto negli allevamenti endemici) e per monitorare la progressione di puledri con infezione da *R. equi*, ed è stata utilizzata per identificare con successo i casi clinici e sub-clinici (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Bisogna ricordare tuttavia che l'ecografia permette un'identificazione precoce dell'infezione da *R. Equi* ma questo richiede al clinico di essere selettivo e di saper distinguere quali casi trattare e quali no. Gli accessi polmonari appaiono come lesioni cavitari nel parenchima polmonare, col centro anecogeno e capsula iper-ecogena (figura 3.6 e 3.7). Un ascesso si può distinguere da un'area di polmone consolidato perché, nonostante possano entrambi apparire come aree circolari ipo-ecoiche, nel caso di polmone consolidato sono visibili strutture bronchiali e vascolari, mentre nell'ascesso non ci sono. Nel caso dell'ascesso inoltre può essere visibile un aumento di ecogenicità nella parete posteriore (Ramirez, Lester, e Roberts 2004).





FIGURA 3.6: ecografia toracica di un purosangue di 6 settimane con segni di patologia respiratoria che in seguito a lavaggio trans-tracheale ed esame colturale è risultato positivo a *R. Equi*. Sono presenti ascessi ben definiti, con capsula iper-ecogena e contenuto anecogeno (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

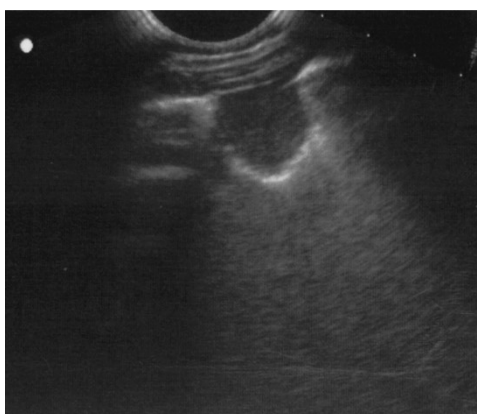


FIGURA 3.7: ecografia toracica di un purosangue di 3 mesi con ascesso polmonare secondario a polmonite da *R. Equi*. L'ascesso appare come un'area ipo-ecogena circolare ben definita. Non sono visibili vasi o bronchi (Ramirez, Lester, e Roberts 2004).

L'atelettasia polmonare è dovuta alla compressione del parenchima polmonare in seguito a condizioni patologiche come versamento pleurico o pneumotorace; un'atelettasia transitoria si osserva anche nel polmone declive dopo che il puledro è stato sdraiato per un po' di tempo (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). All'ecografia l'atelettasia dovuta a versamento pleurico si distingue dal consolidamento perché il polmone sembra fluttuare all'interno del fluido pleurico (figura 3.8).

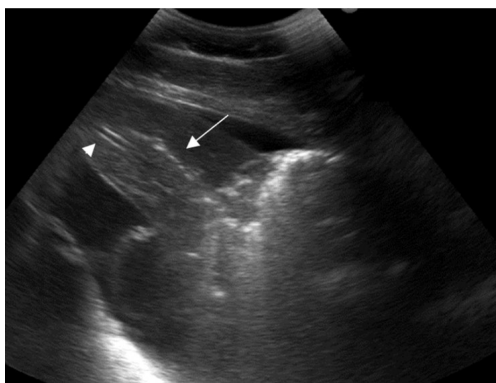


FIGURA 3.8: ecografia del polmone vicino al suo margine ventrale. È presente attelektasia polmonare, che potrebbe apparire simile al consolidamento. Si osserva la configurazione polmonare lobare ed è ben visibile il dettaglio del parenchima polmonare, cosa possibile grazie all'assenza di alveoli areati. Il polmone è circondato da fluido pleurico anecoico. È presente un broncogramma aereo (freccia) che scorre parallelamente ad un vaso (testa di freccia). Dorsale è alla destra dell'immagine (Sprayberry 2015).

Le fratture costali appaiono ecograficamente come un'interruzione nella superficie iper-ecoica dell'osso, con o senza dislocazione dei frammenti (figura 3.9). L'ecografia è più sensibile rispetto alla radiografia nell'identificare una frattura costale e permette anche di distinguere concomitanti anomalie toraciche come accumulo di fluido nello spazio pleurico, versamento pericardico o ematoma intorno al sito di frattura (Boyle 2021). Quando viene individuata una frattura è possibile utilizzare una sonda con più alte frequenze (8-12MHz) in modo da visualizzare il sito (che è superficiale) con il massimo dettaglio (Sprayberry 2015).



FIGURA 3.9: frattura costale in un puledro neonato. La regione dorsale è alla destra dell'immagine. Notare la dislocazione laterale della porzione distale della costa (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 2024).

Il pneumotorace nel puledro neonato è raro, ma può essere causato da un trauma toracico penetrante (pneumotorace aperto), da aria che deriva dal parenchima polmonare in seguito a polmonite o lacerazione del polmone causata da una frattura costale (pneumotorace chiuso), o può essere provocato da migrazione di aria da un sito di tracheostomia. Ecograficamente il gas libero tra le pleure appare simile al gas presente nei polmoni (si vede in entrambi i casi l'artefatto di riverbero), ma in caso di pneumotorace, nelle aree dove è presente aria nello spazio pleurico (ad esempio nella regione dorsale del torace) non si vede il *glide sign* perché il gas impedisce il normale scorrimento della pleura viscerale sulla pleura parietale (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024; Boyle 2021). Il pneumotorace comunque è più facilmente identificabile tramite radiografia.

La principale limitazione dell'ecografia polmonare è l'incapacità di identificare lesioni presenti in profondità nel polmone areato. La gran parte delle lesioni, tuttavia, coinvolgono anche le aree periferiche del polmone e quindi sono visibili con l'ecografia (Ramirez, Lester, e Roberts 2004). Il polmone reagisce con risposte simili alle varie infezioni. I cambiamenti sono visibili ecograficamente se si estendono fino alla superficie del polmone ma tramite l'ecografia non è possibile risalire alla causa, proprio perché le alterazioni visibili possono essere comuni a diverse patologie. L'esame ecografico, quindi, non può sostituire l'esame colturale o altri esami clinico-patologici nel percorso diagnostico. Può essere inoltre necessaria la radiografia per identificare cambiamenti patologici nelle aree più assiali del torace (Sprayberry 2015).

### 3.2.2 RADIOGRAFIA TORACICA

I puledri neonati presentano delle caratteristiche peculiari alla radiografia toracica, dovute a tre fattori (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024):

- 1) Presenza di residui di fluido fetale nelle vie aeree e nell'interstizio polmonare. Il fluido fetale polmonare appare radiograficamente con un pattern interstizio-alveolare ed è considerato fisiologico se presente nelle prime 4-12h dopo il parto. Nelle prime 12h di vita dovrebbe essere visibile anche un pattern vascolare. L'opacità polmonare dovrebbe ridursi gradualmente (figura 3.10) dalla porzione ventrale a quella dorsale dei polmoni.
- 2) Artefatti dovuti al movimento, in particolare quello respiratorio. Appaiono radiograficamente come una sfocatura diffusa e sono difficili da evitare, in particolare in puledri neonati con frequenza respiratoria aumentata. L'acquisizione dell'immagine al picco

di inspirazione permette di minimizzare gli artefatti da movimento e di aumentare il contrasto tra le aree di polmone ben areate e quelle patologiche.

- 3) Atelettasia dovuta al decubito. L'atelettasia si sviluppa rapidamente e i puledri più giovani (con meno di 7 giorni di vita) sono più predisposti a svilupparla a causa dei polmoni non ancora maturi e all'elevata *compliance* della parete toracica. In puledri malati o sedati questo aumenta l'affaticamento dei muscoli respiratori e l'ipoventilazione. Nei puledri posizionati in decubito laterale l'atelettasia nel polmone declive è spesso caratterizzata da un pattern interstiziale da lieve a moderato, distribuito nella regione polmonare caudo-dorsale. Nei puledri sottoposti a *imaging* in decubito sternale i reperti sono più evidenti nella regione polmonare caudo-ventrale, dove l'atelettasia è caratterizzata da un pattern alveolare con moderate alterazioni interstiziali. Se cambiando la posizione del puledro non si ha una risoluzione dell'atelettasia entro pochi minuti bisogna valutare la possibile presenza di patologie.

Un'ulteriore peculiarità del puledro neonato è che la porzione mediastinica craniale al cuore è occupata dal timo.

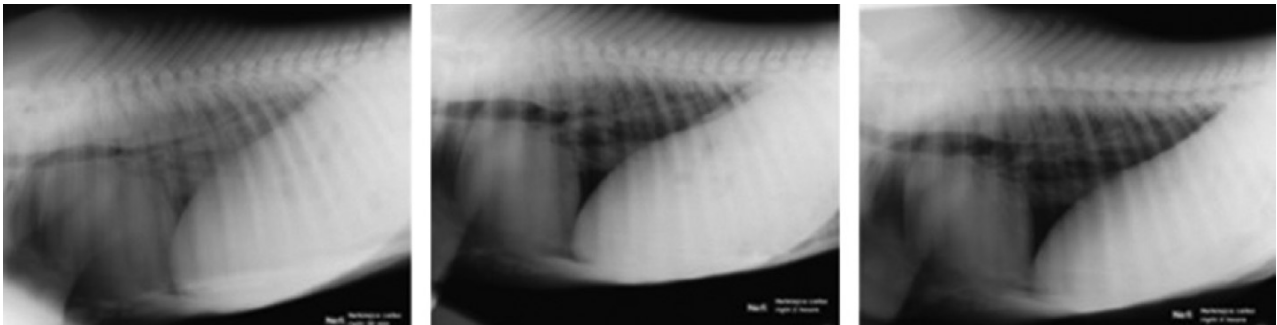


FIGURA 3.10: radiografie toraciche di un puledro sano eseguite a 30 minuti, 2 ore e 4 ore dalla nascita (da sinistra a destra). Notare la riduzione della radio-opacità man mano che avviene la clearance del fluido fetale polmonare (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

I pattern polmonari patologici osservabili radiograficamente sono gli stessi degli adulti e comprendono pattern interstiziale, alveolare, nodulare e bronchiale. Nei puledri neonati sono stati descritti cambiamenti radiografici per la polmonite (da aspirazione, virale o batterica), per la sindrome da distress respiratorio neonatale o patologia delle membrane ialine (NERDS), per la sindrome equina da insufficienza respiratoria acuta neonatale (EqNARDS) e per il pneumotorace (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Per identificare

le fratture costali la radiografia è considerata un mezzo diagnostico meno sensibile rispetto all'ecografia.

Le alterazioni radiografiche potrebbero non essere direttamente correlate con la gravità della patologia e in ogni caso è opportuno eseguire diverse radiografie a distanza di tempo per monitorare la progressione della patologia ed un'eventuale risposta alla terapia. Nella maggioranza dei casi la regione polmonare coinvolta è quella caudo-ventrale. In genere un pattern alveolare diffuso suggerisce una patologia respiratoria più grave (atelettasia, NERDS, polmonite), mentre un pattern interstiziale di solito viene correlato a patologie respiratorie più lievi o in forma iniziale. L'aumentata gravità delle alterazioni nella regione caudo-dorsale è stata correlata con una ridotta percentuale di sopravvivenza nei puledri. La risoluzione delle lesioni procede di solito in direzione dorso-ventrale e caudo-craniale (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

All'esame ecografico sia la NERDS che la EqNARDS appaiono simili, nonostante siano sindromi distinte (vedi cap. 2): in entrambi i casi è visibile un pattern interstiziale diffuso con in sovrapposizione un pattern alveolare multifocale-coalescente. Spesso sono presenti broncogrammi aerei (figura 3.11 e 3.12) e la *silhouette* cardiaca e i margini del diaframma possono essere oscurati, in particolare con la NERDS. Nei puledri con NERDS le alterazioni radiografiche sono tipicamente distribuite in tutti i campi polmonari (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024; Sprayberry 2015).

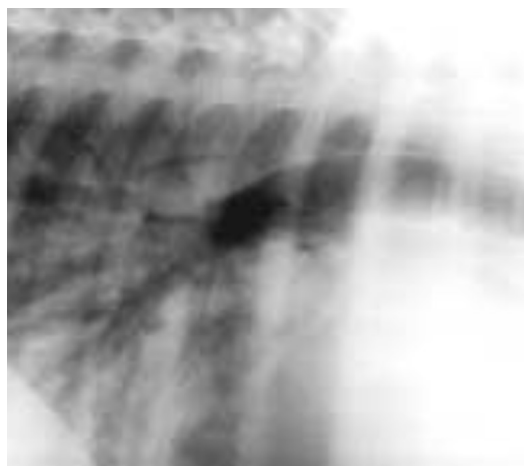


FIGURA 3.11: radiografia toracica di un puledro di 1,5 mesi eseguita in stazione. Il puledro presentava tachicardia e tachipnea e successivamente è stato diagnosticato con ALI. Alla radiografia è visibile un pattern alveolare diffuso con broncogrammi aerei (Dunkel, Dolente, e Boston 2005).



FIGURA 3.12: radiografia toracica di un puledro purosangue nato prematuro. Alla nascita presentava difficoltà respiratoria e scolo nasale verdastro. All'emogasanalisi venosa è stata evidenziata acidosi respiratoria ( $PCO_2$ : 132 mmHg, pH: 6.982). Nella radiografia si osserva un aumento diffuso della radio opacità che si estende in tutti i campi polmonari, con la presenza di broncogrammi aerei (freccia nera). La trachea è leggermente sollevata (freccia bianca) e la *silhouette* cardiaca appare aumentata. Questo pattern alveolare diffuso è compatibile con NERDS. Il giorno stesso è stata eseguita l'eutanasia (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

La polmonite da aspirazione nei puledri neonati è dovuta principalmente all'aspirazione di latte e solo raramente è causata dall'aspirazione di meconio nel periodo perinatale. Radiograficamente appare come un pattern alveolare localizzato nella regione caudo-ventrale (figura 3.13) e, nei casi più gravi, si osservano anche broncogrammi aerei. In caso di aspirazione di latte queste alterazioni si trovano in genere nella regione peri-ilare, mentre in caso di aspirazione di meconio sono più gravi e distribuite in modo più diffuso (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).



FIGURA 3.13: radiografia toracica in un puledro di 10 giorni di vita con polmonite da aspirazione e sepsi. È presente pattern alveolare nella porzione caudo-ventrale del polmone (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

In caso di polmonite batterica secondaria a sepsi o di polmonite virale le alterazioni radiografiche sono in genere localizzare caudo-dorsalmente o distribuite lungo tutto il polmone (figura 3.14), con pattern che può variare da interstiziale a alveolare-coalescente (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

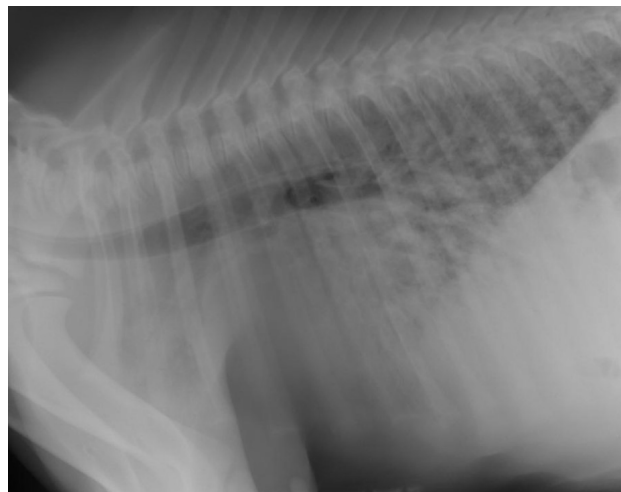


FIGURA 3.14: radiografia toracica di un puledro di 8 giorni. È presente un grave pattern interstizio-alveolare diffuso. All'esame culturale del sangue è stata isolata *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae*. Il puledro non è sopravvissuto (Reuss e Cohen 2015).

Altre alterazioni radiografiche visibili sono gli ascessi polmonari (visibili come noduli radio-opachi con margini non ben definiti, figura 3.15) e linfadenopatia ilare. In seguito a polmonite parassitaria i cambiamenti radiografici potrebbero essere non specifici ma si può osservare un pattern bronco-interstiziale diffuso o la presenza di ascessi. Una polmonite fungina invece può presentarsi radiograficamente con un pattern miliare (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

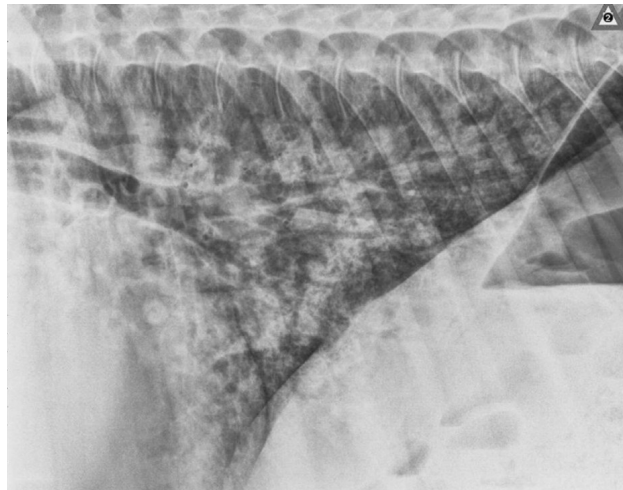


FIGURA 3.15: radiografia toracica di un puledro di 3 mesi con storia di letargia e ipertermia. È presente un pattern interstiziale moderato che ventralmente converge in un pattern alveolare multifocale coalescente. Sono presenti aree multifocali tondeggianti, ben definite, con diametro fino a 14 mm, di tessuto molle radio-opaco, coerenti con ascessi. Dalla coltura dell'aspirato trans-tracheale è stato identificato *R. equi* (Reuss e Cohen 2015).

### 3.2.3 ESAMI DI LABORATORIO

Gli esami del sangue completi (emocromo e biochimico) e la valutazione del fibrinogeno nel plasma possono aiutare nel valutare la durata e la gravità della patologia e permettono di monitorare la risposta alla terapia. La presenza di patologie sistemiche o alterazioni biochimiche (come azotemia) possono inoltre influenzare la scelta degli antibiotici selezionati per il trattamento (Reuss e Cohen 2015).

La diagnosi di polmonite batterica si ottiene tramite citologia ed esame colturale dell'aspirato trans-tracheale. All'emocromo i puledri con polmonite possono presentare leucocitosi e possono avere una condizione di iper-fibrinogenemia. La conta dei globuli bianchi può essere utilizzata anche per monitorare la progressione della polmonite e se fatta in serie, insieme alla determinazione del fibrinogeno nel plasma, può essere utile per valutare la risposta alla terapia. In caso di puledri con



segni sistemici di sepsi bisognerebbe inoltre prelevare un campione di sangue in modo da aiutare nella precoce identificazione degli organismi responsabili della polmonite e da permettere una terapia antimicrobica mirata (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Gli organismi più frequentemente isolati in puledri neonati con polmonite o sepsi sono *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Actinobacillus equuli*, ecc.

La coltura batterica permette anche di eseguire l'antibiogramma in modo da procedere con una terapia mirata ed efficace, mentre la citologia permette di avere rapidamente alcune informazioni come la presenza di batteri intracellulari e se si tratta di batteri Gram<sup>+</sup> o Gram<sup>-</sup> (Reuss e Cohen 2015). Se si tratta di polmonite parassitaria con la citologia è possibile osservare un elevato numero di eosinofili (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Se si sospetta una polmonite da *R. Equi* è possibile eseguire la PCR per la ricerca del VapA. *R. Equi* può essere trovato da solo in coltura o far parte di un'infezione polimicrobica (Reuss e Cohen 2015).

In caso di sospetto di infezione virale bisognerebbe prelevare un campione di sangue e uno di aspirato tracheale per fare l'identificazione e l'isolamento virale tramite tecniche molecolari. Sarebbe bene inoltre inviare campioni per la ricerca di eventuali infezioni batteriche secondarie (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). L'ematologico non sempre è utile nell'ottenere informazioni diagnostiche, ad esempio in caso di infezione da virus dell'arterite equina la leucopenia e la trombocitopenia possono essere variabili (Del Piero et al. 1997). In caso di presenza di scolo nasale è possibile prelevare un campione e sottoporlo a test antigenico per il virus dell'influenza A (Gross et al. 2004).

In caso di sospetto di polmonite parassitaria è possibile prelevare un campione fecale per la ricerca di uova o larve di parassiti. In genere le uova e le larve di *D. arnfieldi* non si trovano nei campioni fecali, mentre un'infestazione da *P. equorum* potrebbe essere identificata tramite esame di flottazione (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Bisogna comunque tenere presente che la presenza di parassiti non implica necessariamente una relazione causale con la polmonite. Nei puledri con polmonite parassitaria gli esami ematologici e biochimici possono risultare nella norma

La diagnosi di ARDS (vedi tabella 6) si basa sulla presenza di difficoltà respiratoria acuta (<72 ore) dopo l'esposizione a un noto fattore di rischio con aumento di permeabilità capillare polmonare visibile radiograficamente come infiltrati bilaterali/diffusi sulla zona toracica (figura 3.16) e un rapporto PaO<sub>2</sub>/F<sub>i</sub>O<sub>2</sub> <200 mmHg nei puledri di età superiore a 7 giorni (mentre per ALI ci si basa su

un rapporto  $<300$ ). Nei puledri più giovani c'è un'inferiore tensione di ossigeno rispetto agli adulti quindi i range di riferimento per la  $PaO_2$  sono diversi. Nei neonati si fa diagnosi di NALI (*neonatal acute lung injury*) quando il rapporto  $PaO_2/FiO_2$  è  $<175$ , mentre il cut off per NARDS (*neonatal acute respiratory distress syndrome*) è 115 (Sprayberry 2015). È importante tenere conto che l'ARDS è sempre secondaria a un altro processo patologico e spesso è possibile identificare una concomitante polmonite batterica o virale (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). L'emocromo nei puledri con ARDS è spesso rappresentativo del processo patologico primario e il WBC può essere basso o, più comunemente, normale o aumentato.

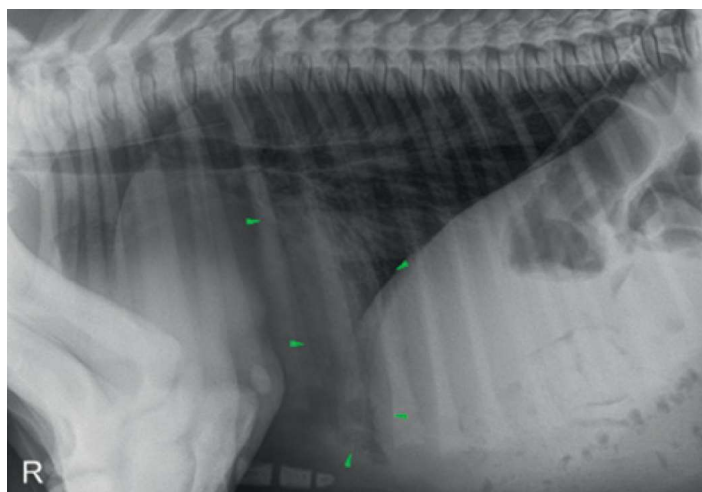


FIGURA 3.16: puledro con 7h di vita presentato per incapacità di raggiungere la stazione e di nutrirsi sin dalla nascita. Alla radiografia toracica si osserva un moderato aumento dell'opacità dei campi polmonari caudo-ventrali (pattern alveolare, frecce verdi) e broncogrammi aerei poco definiti. È presente un parziale distacco del margine caudale della silhouette cardiaca.

Diagnostic criteria for VetALI and VetARDS
<i>At least 1 of each of the first 4 criteria must be met; criterion 5 is optional but recommended</i>
1. Acute onset (<72 hours) of tachypnea and labored breathing at rest
2. Known risk factors
3. Evidence of noncardiogenic pulmonary edema (no clinical or diagnostic evidence of left heart failure) based on one of the following: <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Bilateral/diffuse infiltrates on thoracic radiographs (more than 1 quadrant/lobe)</li> <li>b. Bilateral dependent density gradient on CT (neonatal foals)</li> </ul>
4. Hypoxemia without PEEP (mechanical ventilation) and known $F_{iO_2}$ <ul style="list-style-type: none"> <li>a. <math>P_{aO_2}/F_{iO_2}</math> ratio <ul style="list-style-type: none"> <li>i. Less than or equal to 300 for VetALI</li> <li>ii. Less than or equal to 200 for VetARDS</li> </ul> </li> <li>b. Increased alveolar-arterial oxygen gradient</li> </ul>
5. Evidence of diffuse pulmonary inflammation <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Transtracheal wash/BAL sample neutrophilia</li> <li>b. Transtracheal wash/BAL biomarkers of inflammation</li> </ul>

TABELLA 6: criteri diagnostici per ALI e ARDS (Wilkins e Lascola 2015)

### 3.3 TERAPIA E PROGnosi

L'individuazione di insufficienza respiratoria tramite l'esame fisico indica la necessità di ulteriori esami (vedi capitolo 3.2) in modo da poter impostare la terapia corretta. Nel frattempo, tuttavia, è necessario sostenere il puledro tramite somministrazione di ossigeno. È possibile utilizzare un catetere di Foley e inserirlo nel meato ventrale per facilitare la somministrazione di  $O_2$ , utilizzando un flusso di 5l/minuto. In caso di puledri che presentano grave ipossiemia potrebbe essere necessaria l'insufflazione bilaterale (5l per ogni narice). In caso di insufflazione di ossigeno a lungo termine è raccomandata l'umidificazione (Carr 2014).

#### 3.3.1 TERAPIA INALATORIA

Il trattamento delle infezioni batteriche delle basse vie respiratorie è complicato dal fatto che l'epitelio respiratorio rappresenta una barriera alla diffusione dei farmaci dalla circolazione sistemica al comparto respiratorio; questo può richiedere dosi maggiori di farmaco e di conseguenza aumenta il rischio di reazioni avverse. La somministrazione di farmaci tramite aerosol può aiutare a risolvere questo problema. Questi vantaggi sono particolarmente utili con farmaci come i broncodilatatori, per i quali l'indice terapeutico per l'uso sistemico è ristretto, o per i farmaci con potenziale tossicità sistemica, come gli aminoglicosidi. Gli svantaggi della somministrazione tramite aerosol comprendono la potenziale difficoltà di somministrazione del farmaco, la possibile irritazione polmonare, il costo dell'apparecchiatura e il tempo necessario per la somministrazione (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

L'utilizzo di broncodilatatori può aiutare i puledri con polmonite in quanto riducono il lavoro della respirazione, aumentano il *comfort* del paziente e possono aiutare a prevenire il riflesso di broncocostrizione causato dalla somministrazione di altri farmaci (come gli aminoglicosidi) tramite aerosol. Tra i broncodilatatori i più utilizzati sono i  $\beta$ 2-agonisti con durata breve come il salbutamolo (fa effetto in 5 minuti ma l'azione dura solo per 1-3h, quindi è utile per trattare episodi di broncocostrizione acuta o per una terapia intermittente se necessaria). Visto che la broncocostrizione è mediata dal sistema nervoso autonomo è possibile utilizzare farmaci anticolinergici come l'ipratropio bromuro, un farmaco parasimpaticolitico sintetico usato efficacemente nei cavalli con asma e che può essere clinicamente efficace in puledri con grave infiammazione alle basse vie respiratorie. L'uso combinato di  $\beta$ 2-agonisti e anticolinergici può avere effetto additivo o sinergico in quanto agiscono su meccanismi diversi (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

I farmaci antinfiammatori utilizzabili per via inalatoria sono corticosteroidi (come il fluticasone o il desametasone), ma il loro uso non è particolarmente indicato nei puledri con polmonite a causa del loro effetto immunosoppressivo. Vengono comunque utilizzati con un certo successo in puledri che hanno grave polmonite interstiziale o ARDS (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

La somministrazione di antibiotici per via inalatoria permette di raggiungere un'alta concentrazione sulla mucosa respiratoria minimizzando gli effetti collaterali sistemici, diminuendo quindi la dose necessaria e consentendo un rapido effetto. È stato visto ad esempio che, in caso di somministrazione per via inalatoria, la concentrazione di gentamicina nel fluido di lavaggio bronchiale era significativamente maggiore rispetto alla somministrazione endovenosa (McKenzie e Murray 2000). Questo approccio ha però limitazioni che comprendono potenziali problemi di somministrazione del farmaco, l'impossibilità per il farmaco di raggiungere aree polmonari non ventilate, la possibile irritazione polmonare, il costo delle attrezzature e il tempo necessario per la somministrazione. Spesso, inoltre, le gravi infezioni batteriche del tratto respiratorio hanno anche una componente sistemica e richiedono perciò una terapia sistemica. Questa modalità di trattamento è efficace quindi come terapia ausiliaria a quella sistemica nel prevenire lo sviluppo, o nel ridurre la gravità o la durata delle infezioni batteriche delle basse vie respiratorie. Non è una via di somministrazione indicata in caso di evidente consolidamento polmonare. Gli aminoglicosidi e i  $\beta$ -lattamici possono essere inattivati dalle secrezioni bronchiali ma si può superare questo limite somministrando questi antibiotici con alte concentrazioni (McKenzie e Murray 2000). L'utilizzo di ceftiofur tramite aerosol può risultare più efficace rispetto agli aminoglicosidi nei puledri con

polmonite da batteri Gram<sup>+</sup> o da infezione batterica mista, grazie al suo ampio spettro antibatterico. In caso di infezione prevalentemente da Gram<sup>-</sup>, insieme al ceftiofur può essere utilizzato un aminoglicoside come la gentamicina o l'amikacina (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

### 3.3.2 TERAPIA VENTILATORIA

La ventilazione meccanica a pressione positiva ha diversi benefici: aumenta il volume polmonare, restituendo la normale capacità residua funzionale (FRC); diminuisce il lavoro della respirazione, consentendo alla muscolatura respiratoria di riposare; diminuisce l'uso di ossigeno ed energia e la perfusione che sarebbero necessarie per il lavoro di respirazione; aumenta la ventilazione; migliora il rapporto ventilazione/perfusione (V/Q) e riduce gli *shunt* intrapolmonari.

Le principali indicazioni cliniche per la ventilazione meccanica nel neonato sono (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024):

- l'ipertensione polmonare persistente. L'ossigeno è uno dei vasodilatatori polmonari più potenti e aumentare l'ossigenazione è l'approccio principale per ridurre la resistenza vascolare polmonare alla nascita. L'ipossia alveolare e l'ipossiemia, infatti, aumentano la resistenza vascolare e contribuiscono alla patofisiologia dell'ipertensione polmonare persistente. Bisogna inoltre evitare l'acidosi perché anche questa causa un'esagerata vasocostrizione polmonare ipossica (Singh e Lakshminrusimha 2021)
- l'insufficienza respiratoria acuta. Questa comprende la sindrome da insufficienza respiratoria acuta (ARDS), l'insufficienza d'organo secondaria a sepsi, la polmonite infettiva (virale, batterica o da aspirazione), la polmonite non infettiva (da aspirazione di meconio, polmonite interstiziale, o polmonite da aspirazione) e fratture costali
- l'encefalopatia neonatale (associata a debolezza o a patologie del centro respiratorio)
- debolezza associata alla prematurità o alla riduzione della crescita intrauterina (IUGR)
- affaticamento dovuto a debolezza generale o secondario a ostruzione delle vie aeree superiori (ad es. collasso faringeo, cisti delle vie aeree superiori)
- ipotensione centrale o indotta da sepsi
- shock settico
- disturbi neuromuscolari (ad es. botulismo)

L'obiettivo è quello di fornire supporto respiratorio mentre vengono somministrate terapie per la causa primaria; bisogna tuttavia fare attenzione perché un'eccessiva iperossia promuove lo sviluppo

di ROS (specie reattive dell'ossigeno) e potrebbe portare a danno polmonare (Singh e Lakshminrusimha 2021).

### 3.3.3 TRATTAMENTO POLMONITE INFETTIVA

In caso di polmonite batterica l'approccio iniziale si basa di solito su un trattamento empirico che consiste nell'uso di una combinazione di antibatterici ad ampio spettro, come penicillina e amikacina. Bisognerebbe poi utilizzare antimicrobici basandosi sull'antibiogramma fatto sull'aspirato trans-tracheale. La terapia di supporto consiste nella somministrazione di ossigeno intra-nasale, nel soddisfare i fabbisogni energetici e, se necessario, nel somministrare fluido terapia. Per contrastare la febbre e l'infiammazione è possibile utilizzare FANS come flunixin meglumine oppure antinfiammatori steroidei come desametasone o prednisolone (usati anche in caso di ALI, ARDS e polmonite interstiziale). È importante infine mantenere il puledro in un ambiente fresco e ben ventilato (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

In caso di infezione con EHV-1 in puledri neonati è stato utilizzato acyclovir con qualche prova di efficacia in puledri con infezione lieve o che hanno contratto l'infezione dopo la nascita. In alternativa l'*American Association of Equine Practitioners* indica l'utilizzo di valacyclovir a scopo profilattico. Ganciclovir è indicato in caso di cavalli con manifestazione clinica. La polmonite da influenza virus è auto-limitante quindi il trattamento antivirale deve essere fatto precocemente. L'uso orale di Oseltamivir fosfato è risultato efficace in cavalli infettati sperimentalmente col virus dell'influenza A, in quanto contribuisce a ridurre la quantità di escrezione virale, la piressia e le infezioni batteriche secondarie, di solito causate da *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* (Yamanaka et al. 2006). In caso di puledri nati da madri non vaccinate o il cui stato di vaccinazione è sconosciuto può essere utile l'utilizzo di plasma iperimmune o colostro da donatrici vaccinate (in quest'ultimo caso è prudente testare per il rischio di isoeritrolisi neonatale).

La polmonite da *P. equorum* può essere trattata con diversi antelmintici come l'ivermectina, la moxidectina, il fenbendazolo, il pirantel pamoato o il levamisolo. Alcuni puledri richiedono trattamenti multipli e contemporaneamente tutti gli altri cavalli dovrebbero essere sverminati. *D. arenfieldi* può essere trattato con tiabendazolo, fenbendazolo, ivermectina o moxidectina. Un modo per evitare l'infestazione di *D. arenfieldi* nei cavalli è quello di prevenire l'esposizione dei puledri e delle loro giumente ad asini o muli. La rimozione del letame dai pascoli riduce la carica parassitaria (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

### 3.3.4 TRATTAMENTO ARDS E NERDS

Il trattamento dell'ARDS è diretto contro la causa primaria e ha inoltre come obiettivo quello di fornire supporto al puledro, ad esempio fornendo ossigeno-terapia. Alcuni puledri con ARDS hanno un'elevata quantità di *shunt* polmonari e quindi mostrano poca o nessuna risposta all'ossigeno intranasale, a prescindere dalla velocità di flusso; in questi casi, al fine di minimizzare la probabilità di danni da tossicità di ossigeno, è raccomandato l'utilizzo della minore velocità di flusso col massimo aumento di PaO<sub>2</sub>. La ventilazione meccanica in pazienti con ARDS è complessa a causa della coesistenza di aree con alto rapporto V/Q, aree con basso rapporto V/Q e aree di polmone fisiologico e over disteso; questo infatti predispone il polmone a danni meccanici causati dalla ventilazione (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Il trattamento con corticosteroidi sistemici come prednisolone sodio succinato o metilprednisolone, può essere utile in puledri con ARDS (Dunkel, Dolente, e Boston 2005).

Può essere utile misurare la pressione venosa centrale in modo da poter valutare lo stato di idratazione del paziente. Uno stato di disidratazione riduce l'*output* cardiaco e quindi peggiora il trasporto di ossigeno ma bisogna fare attenzione anche all'iper-idratazione o a improvvisi cambi del volume di sangue circolante perché l'aumento della pressione idrostatica è la causa principale di edema polmonare. Il lavoro della respirazione infine aumenta significativamente la richiesta di energia, quindi se il puledro è troppo depresso per mangiare bisogna fornirgli supporto nutrizionale (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

La broncocostrizione non è una delle caratteristiche principali dell'ARDS quindi in questo caso i broncodilatatori vengono usati poco.

Per il trattamento di puledri con NERDS sono stati fatti tentativi di trattamento con surfactante in quanto la carenza di surfactante e l'elevata tensione superficiale, oltre a contribuire alla patofisiologia della sindrome da insufficienza respiratoria acuta (ARDS), hanno un ruolo principale nello sviluppo della sindrome da insufficienza respiratoria neonatale (NERDS). Non ci sono tuttavia studi clinici controllati che valutano l'efficacia della somministrazione di surfactante esogeno in puledri con NERDS. Il surfactante può essere raccolto da un cavallo adulto (vivo o deceduto da poco per cause non polmonari) dal fluido bronco alveolare (BALF) o in alternativa esistono preparazioni commerciali. In caso di emergenza clinica il surfactante può essere somministrato al puledro tramite un lungo catetere sterile fatto passare dentro un tubo naso-tracheale o usando un catetere sterile più sottile introdotto in trachea per via endoscopio-guidata. Durante la somministrazione viene fatta cambiare posizione al puledro e viene applicata la ventilazione a

pressione positiva in modo da distribuire il surfactante nelle vie aeree distali e per favorire il reclutamento alveolare. La somministrazione di surfactante per essere efficace richiederebbe dosi elevate che non si riescono a prelevare da un cavallo donatore e le preparazioni commerciali hanno un costo elevato; probabilmente questi sono i motivi per cui il trattamento non ha avuto successo nei puledri (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

### 3.3.5 TRATTAMENTO DELLA POLMONITE DA *R. EQUI*

Per i puledri con infezione clinica da *R. equi* il trattamento raccomandato consiste nell'utilizzo di un macrolide (eritromicina, azitromicina o claritromicina) con la rifampicina. L'uso dell'eritromicina per il trattamento della polmonite da *R. Equi* nei puledri è stato tuttavia associato a effetti collaterali come diarrea, ipertermia e insufficienza respiratoria (Giguère et al. 2004). L'azitromicina e la claritromicina somministrate per OS hanno maggiore biodisponibilità, hanno emivita lunga e raggiungono concentrazioni decisamente maggiori nelle cellule ottenute dal lavaggio bronco-alveolare e nel fluido dell'epitelio di rivestimento polmonare. Questi due antimicrobici, quindi, sono da preferire in quanto permettono l'utilizzo di dosaggi inferiori e di avere un intervallo maggiore tra le dosi (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024). Puledri trattati con la combinazione di claritromicina-rifampicina hanno mostrato maggiore probabilità di successo terapeutico, minore durata di ipertermia e una maggiore percentuale di miglioramento all'esame radiografico rispetto a quelli trattati con eritromicina-rifamicina e azitromicina-rifampicina (Giguère et al. 2004).

La rifampicina diminuisce la biodisponibilità del macrolide se utilizzati insieme; tuttavia, si è visto che la concentrazione della claritromicina nelle cellule prelevate con il BAL è decisamente superiore alla MIC contro *R. equi* (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Ci sono casi in cui dall'aspirato trans tracheale vengono isolati altri batteri oltre a *R. equi* (soprattutto *Streptococchi* beta-emolitici ed *E.coli*). In questi casi potrebbe essere indicato l'utilizzo di un terzo antimicrobico, soprattutto per le infezioni miste in cui sono presenti batteri Gram-negativi resistenti ai macrolidi e alla rifampicina, ma non ci sono evidenze sull'utilità dell'aggiunta di un terzo antimicrobico (Giguère et al. 2012).

La durata della terapia varia in genere dalle 3 alle 12 settimane e bisogna valutarla in base alla normalizzazione della concentrazione del fibrinogeno nel plasma, alla conta leucocitaria e alla risoluzione delle lesioni polmonari valutabile con radiografia ed ecografia.



In puledri con artrite settica e osteomielite dovute a *R. equi* è necessaria anche una terapia aggressiva locale come lavaggio articolare e perfusione regionale degli arti: RLP, *regional limb perfusion* (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

Bisogna poi ricordare che molti puledri presentano all'ecografia lievi lesioni polmonari ma non hanno segni clinici e guariscono senza la terapia.

In allevamenti endemici è possibile somministrare per via EV il plasma iperimmune di cavalli vaccinati contro *R. equi* in modo da ridurre l'incidenza e la gravità dell'infezione. (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

### **3.3.6 PROGNOSE DELLA POLMONITE NEI PULEDRI**

Nel caso di un puledro con polmonite il clinico può basare la prognosi sul grado di coinvolgimento del parenchima polmonare, sulla causa primaria, sul livello di cure veterinarie disponibili e sull'eventuale presenza di altre comorbidità (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

La percentuale di sopravvivenza in puledri con sepsi varia dal 60% all'80%. In puledri affetti da polmonite da *R. equi* la percentuale di sopravvivenza arriva anche all'88%, ma si abbassa nel caso dei puledri ospedalizzati in quanto questi in genere sono colpiti più gravemente. L'isolamento di altri batteri oltre a *R. equi* dal fluido di lavaggio trans-tracheale non ha impatto negativo sulla prognosi e questo potrebbe essere dovuto al fatto che molti batteri isolati tramite lavaggio trans tracheale sono solo contaminanti o sono batteri che colonizzano la trachea senza necessariamente contribuire alla patologia polmonare (Giguère et al. 2012). La prognosi di puledri che presentano grandi ascessi addominali è scarsa ma rari casi rispondono alla terapia antibiotica a lungo termine. In caso di infezione da ceppi di *R. equi* resistenti ai macrolidi la prognosi peggiora. Per quanto riguarda la futura performance atletica sembra che l'infezione da *R. equi* non abbia impatto significativo rispetto ai cavalli sani (Wong e Wilkins «Equine neonatal medicine», 1° ed. - John Wiley & Sons, 2024).

## 4. CONCLUSIONE

La decisione di trattare le patologie polmonari del puledro è maturata in seguito all'esperienza di tirocinio, durante la quale è stato possibile osservare la frequenza e l'importanza clinica di questa problematica. La maggior parte dei puledri che vengono ricoverati in terapia intensiva hanno anche un coinvolgimento polmonare: è importante quindi avere a disposizione strumenti che permettano di esaminare rapidamente le basse vie respiratorie.

Conoscere le diagnosi differenziali possibili è un primo passo per poter impostare un ragionamento diagnostico corretto. Spesso c'è il coinvolgimento di diversi agenti eziologici e la patologia è il risultato di diverse concause: una patologia virale, come abbiamo visto, può predisporre a successiva infezione batterica e bisogna tenerne conto sia nell'approccio diagnostico (eseguendo tamponi o BAL per l'esame colturale oltre che per la PCR) che terapeutico (sottoponendo il puledro a terapia antibiotica). In molti casi non c'è un agente eziologico alla base della patologia polmonare, anche se in un puledro debilitato l'insufficiente acquisizione di immunità passiva tramite il colostro porta ad un aumento esponenziale del rischio di sepsi. Se il puledro presenta segni di insufficienza respiratoria dalla nascita si possono sospettare patologie polmonari congenite ma abbiamo visto che alcune infezioni, come la polmonite da EHV, possono essere contratte in utero e per questo non possono essere escluse dalla lista delle diagnosi differenziali.

I puledri che vengono presentati per insufficienza respiratoria sono spesso pazienti critici e richiedono terapia intensiva. L'approccio di prima linea in questi casi è: somministrazione di ossigeno (ventilazione meccanica nei casi più gravi); somministrazione di plasma iperimmune se si sospetta fallimento del trasferimento dell'immunità passiva; eventuale correzione di ipoglicemia e acidosi e il mantenimento della temperatura. Un intervento tempestivo è fondamentale e non è possibile quindi pensare di potersi basare sui risultati dei test diagnostici di laboratorio per iniziare una terapia. La PCR da tamponi nasofaringei profondi, utile in caso di sospetto di *Adenovirus*, *Influenza virus*, *Herpesvirus* e virus dell'Arterite equina può richiedere infatti anche 4 giorni lavorativi per ottenere i risultati. L'esame sierologico per *S. Equi* subsp. *Zooepidemicus* può richiedere fino a 5 giorni lavorativi. In caso di sospetta infezione da *R. Equi*, è possibile eseguire la PCR dal fluido di lavaggio tracheo-bronchiale per la ricerca del plasmide VapA. La PCR è più rapida e sensibile della coltura batterica (che in caso sia già stata iniziata la terapia antibiotica può non dare risultati) e permette di identificare i ceppi virulenti; sono tuttavia comunque necessarie almeno 48h per avere il risultato. Sono purtroppo frequenti i casi in cui il risultato del test di laboratorio arriva dopo che il puledro è deceduto: accade infatti che i quadri polmonari si

complichino a tal punto da non lasciare il tempo di intervenire; in questi casi la patologia polmonare, che spesso è insorta come complicazione di un'altra patologia primaria, può essere essa stessa la causa di morte.

Oltre all'esame fisico e all'emogasanalisi, lo strumento ad uso più immediato e che permette di avere il maggior numero di informazioni in tempo reale è l'ecografia polmonare. Come abbiamo visto l'*imaging* a ultrasuoni non consente di arrivare ad una diagnosi in quanto molte alterazioni ecografiche sono comuni a diverse patologie, è tuttavia un'ottima base per poter decidere l'approccio terapeutico e soprattutto per monitorare il puledro in modo non invasivo e valutare la sua risposta alla terapia nei giorni successivi.

Uno degli aspetti che preoccupa i proprietari è la prognosi sportiva ed eventuali effetti negativi sulla performance. Diversi studi hanno portato risultati contrastanti e finora non ci sono evidenze riguardo effetti a lungo termine sulla funzionalità polmonare: i polmoni dei puledri, dopo la guarigione, sembrano avere un'ottima capacità di recupero.

Un ulteriore aspetto di cui il clinico deve tenere conto è la disponibilità economica del proprietario. I test di laboratorio, così come l'esame ecografico, hanno un costo contenuto. Un puledro ricoverato in terapia intensiva, tuttavia, comporta una spesa non indifferente; il veterinario deve quindi costruire un dialogo col proprietario, metterlo al corrente dei potenziali costi dei tempi necessari per i test di laboratorio e, per i pazienti più critici, del rischio di insuccesso della terapia. L'esame ecografico, inserito nel contesto dell'esame fisico ed ematologico, fornisce al clinico un quadro d'insieme su cui potersi basare anche per dare le informazioni iniziali al proprietario. L'ecografo è inoltre uno strumento economico e di rapido apprendimento, che può quindi essere utilizzato anche da un veterinario del primo giorno.

## BIBLIOGRAFIA

Agerholm, Jørgen Steen, Eva-Maria Klas, Peter Damborg, Nicole Borel, Hanne Gervi Pedersen, e Mette Christoffersen. 2021. «A Diagnostic Survey of Aborted Equine Fetuses and Stillborn Premature Foals in Denmark». *Frontiers in Veterinary Science* 8 (novembre): 740621.

Balasuriya, U. B. R., M. Carossino, e P. J. Timoney. 2018. «Equine Viral Arteritis: A Respiratory and Reproductive Disease of Significant Economic Importance to the Equine Industry». *Equine Veterinary Education* 30 (9): 497–512.

Begg, A. P., R. L. Reece, S. Hum, W. Townsend, A. Gordon, e J. Carrick. 2011. «Pathological changes in horses dying with equine influenza in Australia, 2007». *Australian Veterinary Journal*, Special Issue: Equine influenza in Australia in 2007., 89 (s1): 19–22.

Bell, S. A., M. Leclere, I. A. Gardner, e N. J. Maclachlan. 2006. «Equine Adenovirus 1 Infection of Hospitalised and Healthy Foals and Horses». *Equine Veterinary Journal* 38 (4): 379–81.

Bocking, Tara, Laura Johnson, Amitoj Singh, Atul Desai, Gurpreet Kaur Aulakh, e Baljit Singh. 2021. «Research article expression of surfactant protein-A and D, and CD9 in lungs of 1 and 30 day old foals». *BMC Veterinary Research* 17 (1): 236.

Boyle, Ashley G. 2021. «Respiratory Distress in the Adult and Foal». *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Management of Emergency Cases in the Field, 37 (2): 311–25.

Caldeira, Inês, Hugo Fernandes-Silva, Daniela Machado-Costa, Jorge Correia-Pinto, e Rute Silva Moura. 2021. «Developmental Pathways Underlying Lung Development and Congenital Lung Disorders». *Cells* 10 (11): 2987.

Carossino, Mariano, Pouya Dini, Theodore S. Kalbfleisch, Alan T. Loynachan, Igor F. Canisso, R. Frank Cook, Peter J. Timoney, e Udeni B. R. Balasuriya. 2019. «Equine Arteritis Virus Long-Term Persistence Is Orchestrated by CD8<sup>+</sup> T Lymphocyte Transcription Factors, Inhibitory Receptors, and the CXCL16/CXCR6 Axis». *PLOS Pathogens* 15 (7): e1007950.

Carr, Elizabeth A. 2014. «Field Triage of the Neonatal Foal». *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Emergency and Critical Care, 30 (2): 283–300.

Chaffin, M. Keith, Noah D. Cohen, Ronald J. Martens, Ronnie F. Edwards, Mark Nevill, e Roger Smith. 2004. «Hematologic and immunophenotypic factors associated with development of

Rhodococcus equi pneumonia of foals at equine breeding farms with endemic infection». *Veterinary Immunology and Immunopathology* 100 (1): 33–48.

Chambers, Thomas M. 2014. «A Brief Introduction to Equine Influenza and Equine Influenza Viruses». In *Animal Influenza Virus*, a cura di Erica Spackman, 365–70. *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer.

Christmann, Undine, Leanda C. Livesey, Jennifer S. Taintor, Bryan M. Waldrige, John Schumacher, Bonnie L. Grier, e R. Duncan Hite. 2006. «Lung Surfactant Function and Composition in Neonatal Foals and Adult Horses». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20 (6): 1402–7.

Cohen, Noah D. 2014. «Rhodococcus equi Foal Pneumonia». *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, New Perspectives in Infectious Diseases, 30 (3): 609–22.

Del Piero, F., Pamela A. Wilkins, J. W. Lopez, Amy L. Glaser, E. J. Dubovi, D. H. Schlafer, e D. H. Lein. 1997. «Equine Viral Arteritis in Newborn Foals: Clinical, Pathological, Serological, Microbiological and Immunohistochemical Observations». *Equine Veterinary Journal* 29 (3): 178–85.

Dukarm, Robert C., Robin H. Steinhorn, e Frederick C. Morin. 1996. «The Normal Pulmonary Vascular Transition at Birth». *Clinics in Perinatology*, New Insights into the Pathophysiology of Congenital Diaphragmatic Hernia, 23 (4): 711–26.

Dunkel, B., B. Dolente, e R. C. Boston. 2005. «Acute Lung Injury/Acute Respiratory Distress Syndrome in 15 Foals». *Equine Veterinary Journal* 37 (5): 435–40.

Dunowska, M., L. Howe, D. Hanlon, e M. Stevenson. 2011. «Kinetics of Equid Herpesvirus Type 2 Infections in a Group of Thoroughbred Foals». *Veterinary Microbiology* 152 (1–2): 176–80.

Dyce, «Testo di Anatomia Veterinaria Parte Prima: Anatomia Sistemica, 4<sup>a</sup> ed. – Antonio Delfino Editore». 2020. 21 gennaio 2020.

Galvin, Noreen, e Donald Collins. 2004. «Perinatal asphyxia syndrome in the foal: review and a case report». *Irish Veterinary Journal* 57 (12): 707–14.

Giguère, S., L. M. I. Jordan, K. Glass, e N. D. Cohen. 2012. «Relationship of mixed bacterial infection to prognosis in foals with pneumonia caused by *Rhodococcus equi*». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26 (6): 1443–48.

Giguère, Steeve, Stephanie Jacks, Gregory D. Roberts, Jorge Hernandez, Maureen T. Long, e Christina Ellis. 2004. «Retrospective Comparison of Azithromycin, Clarithromycin, and

- Erythromycin for the Treatment of Foals with *Rhodococcus Equi* Pneumonia». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18 (4): 568–73.
- Giles, C., H. M. A. Cavanagh, G. Noble, e T. Vanniasinkam. 2010. «Prevalence of equine adenovirus antibodies in horses in New South Wales, Australia». *Veterinary Microbiology* 143 (2): 401–4.
- Gross, Diane K., Paul S. Morley, Kenneth W. Hinchcliff, Jean K. Reichle, e Richard D. Slemons. 2004. «Pulmonary Ultrasonographic Abnormalities Associated with Naturally Occurring Equine Influenza Virus Infection in Standardbred Racehorses». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18 (5): 718–27.
- Harding, R., e S. B. Hooper. 1996. «Regulation of Lung Expansion and Lung Growth before Birth». *Journal of Applied Physiology* 81 (1): 209–24.
- Herriges, Michael, e Edward E. Morrisey. 2014. «Lung development: orchestrating the generation and regeneration of a complex organ». *Development* 141 (3): 502–13.
- Hillman, Noah, Suhas G. Kallapur, e Alan Jobe. 2012. «Physiology of Transition from intrauterine to Extrauterine Life». *Clinics in perinatology* 39 (4): 769–83.
- Jain, Lucky. 1999. «Alveolar Fluid Clearance in Developing Lungs and Its Role in Neonatal Transition». *Clinics in Perinatology, Resuscitation of the Fetus and Newborn*, 26 (3): 585–99.
- Jiao, Jing, Yanran Du, Xiaokang Li, Yi Guo, Yunyun Ren, e Yuanyuan Wang. 2022. «Prenatal prediction of neonatal respiratory morbidity: a radiomics method based on imbalanced few-shot fetal lung ultrasound images». *BMC Medical Imaging* 22 (1): 2.
- Johnson, Laura, Julia B. Montgomery, Jan Philipp Schneider, Hugh G.G. Townsend, Matthias Ochs, e Baljit Singh. 2014. «Morphometric Examination of the Equine Adult and Foal Lung». *The Anatomical Record* 297 (10): 1950–62.
- Kaps, Martim, Jörn Wenderoth, e Christine Aurich. 2023. «Monitoring for Equine Viral Arteritis has decreased its prevalence in European breeding sires». *Journal of Equine Veterinary Science, XIIIth International Symposium on Equine Reproduction – Updated*, 125 (giugno): 104594.
- Katz, Lisa. 2006. «Perinatal Asphyxia Syndrome in a Quarter Horse Foal». *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, Medical Case Management*, 22 (1): 193–208.
- Knudsen, Lars, e Matthias Ochs. 2018. «The Micromechanics of Lung Alveoli: Structure and Function of Surfactant and Tissue Components». *Histochemistry and Cell Biology* 150 (6): 661.

- Lakritz, Jeffery, W. David Wilson, Clifford R. Berry, Mark D. Schrenzel, Gary P. Carlson, e John E. Madigan. 1993. «Bronchointerstitial Pneumonia and Respiratory Distress in Young Horses: Clinical, Clinicopathologic, Radiographic, and Pathological Findings in 23 Cases (1984-1989)». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7 (5): 277–88.
- Lascola, Kara M., Robert T. O'Brien, Pamela A. Wilkins, Stuart C. Clark-Price Dvm, Susan K. Hartman, e Mark A. Mitchell. 2013. «Qualitative and Quantitative Interpretation of Computed Tomography of the Lungs in Healthy Neonatal Foals». *American Journal of Veterinary Research* 74 (9): 1239–46.
- Lee, Sang-Kyu, Jeechan Choi, Jungho Yoon, Jaemin Jung, Joon-Young Park, Jongyoung Park, Yeonjong Kim, Ji-Young Park, e Dongsun Park. 2022. «Molecular Detection of Equine Adenovirus 1 in Nasal Swabs from Horses in the Republic of Korea». *Veterinary Sciences* 9 (4): 187.
- M. Wong, David e Pamela A. Wilkins «Equine neonatal medicine» Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2024
- Maeda, Kazuo, Masaji Utsu, Nobuhiro Yamamoto, e Mariko Serizawa. 1999. «Echogenicity of fetal lung and liver quantified by the grey-level histogram width». *Ultrasound in Medicine & Biology* 25 (2): 201–8.
- Mahmoud, Hassan Y. A. H., Samer S. Fouad, e Yahia A. Amin. 2023. «Review of Two Viral Agents of Economic Importance to the Equine Industry (Equine Herpesvirus-1, and Equine Arteritis Virus)». *Equine Veterinary Education* 35 (2): 92–102.
- Marenzoni, M. L., F. Passamonti, K. Cappelli, F. Veronesi, S. Capomaccio, A. V. Supplizi, C. Valente, G. Autorino, e M. Coletti. 2008. «Clinical, serological and molecular investigations of EHV-1 and EHV-4 in 15 unweaned thoroughbred foals». *Veterinary Record: Journal of the British Veterinary Association* 162 (11): 337–41.
- McKenzie, H. C., e M. J. Murray. 2000. «Concentrations of Gentamicin in Serum and Bronchial Lavage Fluid after Intravenous and Aerosol Administration of Gentamicin to Horses». *American Journal of Veterinary Research* 61 (10): 1185–90.
- Mota-Rojas, Daniel, Dina Villanueva-García, Andrea Mota-Reyes, Agustín Orihuela, Ismael Hernández-Ávalos, Adriana Domínguez-Oliva, Alejandro Casas-Alvarado, Karla Flores-Padilla, Joseline Jacome-Romero, e Julio Martínez-Burnes. 2022. «Meconium Aspiration Syndrome in Animal Models: Inflammatory Process, Apoptosis, and Surfactant Inactivation». *Animals : an Open Access Journal from MDPI* 12 (23): 3310.

- Muscatello, Gary. 2012. «Rhodococcus Equi Pneumonia in the Foal – Part 1: Pathogenesis and Epidemiology». *The Veterinary Journal* 192 (1): 20–26.
- Muscatello, Gary. 2012. «Rhodococcus Equi Pneumonia in the Foal – Part 2: Diagnostics, Treatment and Disease Management». *The Veterinary Journal* 192 (1): 27–33.
- Nordengrahn, A., M. Rusvai, M. Merza, J. Ekström, B. Morein, e S. Belák. 1996. «Equine Herpesvirus Type 2 (EHV-2) as a Predisposing Factor for Rhodococcus Equi Pneumonia in Foals: Prevention of the Bifactorial Disease with EHV-2 Immunostimulating Complexes». *Veterinary Microbiology* 51 (1–2): 55–68.
- Oladunni, Fatai S., David W. Horohov, e Thomas M. Chambers. 2019. «EHV-1: A Constant Threat to the Horse Industry». *Frontiers in Microbiology* 10 (dicembre): 2668.
- Patel, J. R., e J. Heldens. 2005. «Equine Herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – Epidemiology, Disease and Immunoprophylaxis: A Brief Review». *The Veterinary Journal* 170 (1): 14–23.
- Patterson-Kane, J. C., J. B. Carrick, J. E. Axon, I. Wilkie, e A. P. Begg. 2008. «The Pathology of Bronchointerstitial Pneumonia in Young Foals Associated with the First Outbreak of Equine Influenza in Australia». *Equine Veterinary Journal* 40 (3): 199–203.
- Peek, Simon F., Gabrielle Landolt, Alexander I. Karasin, Jo Ann Slack, Howard Steinberg, Susan D. Semrad, e Christopher W. Olsen. 2004. «Acute Respiratory Distress Syndrome and Fatal Interstitial Pneumonia Associated with Equine Influenza in a Neonatal Foal». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18 (1): 132–34.
- Punsmann, S., J. Hoppe, R. Klopfleisch, e M. Venner. 2020. «Acute interstitial pneumonia in foals: a severe, multifactorial syndrome with lung tissue recovery in surviving foals». *Equine Veterinary Journal* 53 (4): 718–26.
- Ramirez, Sammy, Guy D. Lester, e Greg R. Roberts. 2004. «Diagnostic Contribution of Thoracic Ultrasonography in 17 Foals with Rhodococcus Equi Pneumonia». *Veterinary Radiology & Ultrasound* 45 (2): 172–76.
- Reuss, Sarah M., e Noah D. Cohen. 2015. «Update on Bacterial Pneumonia in the Foal and Weanling». *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 31 (1): 121–35.
- Singh, Yogen, e Satyan Lakshminrusimha. 2021. «Pathophysiology and Management of Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn». *Clinics in Perinatology, Care for the Term Newborn*, 48 (3): 595–618.



- Sprayberry, Kim A. 2015. «Ultrasonographic Examination of the Equine Neonate». *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 31 (3): 515–43.
- Stokol, Tracy, e Gisela Soboll Hussey. 2020. «Editorial: Current Research in Equid Herpesvirus Type-1 (EHV-1)». *Frontiers in Veterinary Science* 6 (gennaio): 492.
- Suddert M.J. 2003. «Equine Adenoviruses». In *Equine Respiratory Disease*, a cura di Lekeux P.
- Taylor, S. 2015. «A review of equine sepsis». *Equine Veterinary Education* 27 (2): 99–109.
- Vaala, Wendy. 1999. «Peripartum Asphyxia Syndrome in Foals». *Proc Am. Ass. Equine Practnrs.* 45 (gennaio).
- Virmani, Nitin, S. Pavulraj, B. C. Bera, Taruna Anand, R. K. Singh, e B. N. Tripathi. 2020. «Equine Influenza Virus». In *Emerging and Transboundary Animal Viruses*, a cura di Yashpal Singh Malik, Raj Kumar Singh, e Mahendra Pal Yadav, 215–38. *Livestock Diseases and Management*. Singapore: Springer.
- Vitale, Valentina, Micaela Sgorbini, Vincenzo Cuteri, Silvia Preziuso, Anna Rita Attili, e Francesca Bonelli. 2019. «Cytological Findings in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Foals With Pneumonia Caused by *Rhodococcus Equi* and Other Bacteria». *Journal of Equine Veterinary Science* 79 (agosto): 9–12.
- Wilkins, Pamela A. 2003. «Lower Respiratory Problems of the Neonate». *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 19 (1): 19–33, v.
- Wilkins, Pamela A., e Kara M. Lascola. 2015. «Update on Interstitial Pneumonia». *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 31 (1): 137–57.
- Wong, David M., e Pamela A. Wilkins. 2015. «Defining the Systemic Inflammatory Response Syndrome in Equine Neonates». *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, Equine Neonatology*, 31 (3): 463–81.
- Yamanaka, Takashi, Koji Tsujimura, Takashi Kondo, Seiji Hobo, e Tomio Matsumura. 2006. «Efficacy of Oseltamivir Phosphate to Horses Inoculated with Equine Influenza A Virus». *Journal of Veterinary Medical Science* 68 (9): 923–28.

