

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

Scienze Mediche Veterinarie

Ciclo XXXI

**Settore Concorsuale: 07-H4**

**Settore Scientifico Disciplinare: VET/08**

**EFFICACIA E SICUREZZA DEL TRATTAMENTO CON  
EMULSIONI LIPIDICHE ENDOVENOSE A BASSE  
DOSI NELLE INTOSSICAZIONI  
DEL CANE E DEL GATTO**

**Presentata da:** Dr Marco Pelizzola

**Coordinatore Dottorato**

**Prof. Arcangelo Gentile**

**Supervisore**

**Prof. Massimo Giunti**

**Esame finale anno 2019**



## Riassunto – Abstract

**Background:** Gli avvelenamenti rappresentano una delle patologie più frequenti nella pratica clinica ambulatoriale e ospedaliera veterinaria. Lo studio dei dati epidemiologici, dei quadri clinici correlati ai principali avvelenamenti e delle complicazioni ad essi annesse è fondamentale per il medico veterinario. Tuttavia, solo una ristrettissima parte di tossici possiede antidoti facilmente reperibili nella pratica clinica per contrastare in maniera rapida e precoce la sintomatologia correlata. Le emulsioni lipidiche endovenose (*Intravenous Lipid Emulsion*, ILE) sono un antidoto emergente, sia in medicina umana che in medicina veterinaria. Durante l'infusione di emulsioni lipidiche si crea un compartimento intravascolare in grado di assorbire gli agenti tossici dagli organi target, determinando una ridistribuzione in organi in cui la tossina viene conservata, metabolizzata ed eliminata.

**Obiettivi:** Con il presente studio si vuole valutare la tipologia e la prevalenza delle intossicazioni pervenute presso un Pronto Soccorso Veterinario Universitario, tramite uno studio di tipo epidemiologico. Una volta identificate le intossicazioni più frequenti determinate da agenti lipofili, si vuole valutare l'efficacia clinica e la sicurezza del trattamento con emulsione lipidica endovenosa a basse dosi nei cani e nei gatti. Infine, si vuole capire se la presenza di un protocollo di studio delle intossicazioni, avviato ad Agosto 2015, ha apportato miglioramenti nel trattamento e nell'*exitus* dei pazienti intossicati.

**Materiali e Metodi:** Sono stati inclusi nello studio cani e gatti presentati presso un Pronto Soccorso Veterinario Universitario, con una anamnesi confermata o un sospetto di intossicazione, nel periodo tra Dicembre 2001 e Agosto 2017. I pazienti sono stati suddivisi in base: alla conferma di intossicazione; alla sintomatologia e agli agenti tossici specifici. I pazienti con segni di neurotossicità sono stati suddivisi secondo una stadiazione standardizzata e validata. Successivamente sono stati trattati tramite un protocollo per le intossicazioni che prevedeva la

decontaminazione (qualora necessaria), l'utilizzo di farmaci sedativi, anestetici e l'utilizzo dell'ILE con un infusione a basse dosi.

**Risultati:** Sono stati selezionati 373 soggetti, di cui realmente intossicati 303 cani e gatti (rispettivamente il 77% e 23%). I sintomi prevalenti sono stati quelli neurologici, legati a disordini emostatici e di tipo gastroenterico. Gli agenti tossici identificati più frequentemente sono stati i rodenticidi (31.6%), le permetrine (7.2%) e la metaldeide (5.6%). L'analisi statistica ha evidenziato una correlazione tra i versamenti cavitari e le intossicazioni da rodenticidi ( $P<0.001$ ), tra le crisi convulsive e i tremori e le intossicazioni da metaldeide ( $P<0.05$ ) e tra i tremori neuromuscolari e le intossicazioni da permetrina ( $P<0.01$ ). L'*exitus*, se viene impostato un trattamento tempestivo, è risultato essere generalmente buono (96.7% di sopravvivenza) e i tempi di degenza ridotti. I giorni di ricovero sono inferiori nel periodo di studio 2015-2017.

Il trattamento con ILE a basse dosi è stato effettuato su 18 animali (11 cani e 6 gatti) tra il 2015 e il 2018. I tossici noti più frequenti sono stati le permetrine nel gatto (3/6 casi) e la metaldeide nel cane (3/5 casi). I gatti trattati hanno mostrato in generale dei rapidi miglioramenti della sintomatologia neurologica, rispetto a quanto riportato in letteratura (media 4.6 ore e 16 ore, rispettivamente). I cani trattati con metaldeide hanno mostrato una riduzione delle crisi convulsive e dei tremori più rapidi rispetto a quanto riportato nella letteratura veterinaria (media 10 ore e 36 ore, rispettivamente). Non sono stati riportati effetti avversi direttamente associabili alla somministrazione di emulsioni lipidiche né nell'immediato, né nel *follow-up*.

**Conclusioni:** Il trattamento con emulsioni lipidiche endovenose a basse dosi, se associato ad altre terapie di supporto, risulta essere sicuro ed efficace nel migliorare la sintomatologia neurologica. Servono maggiori studi per valutare il dosaggio, l'efficacia, la sicurezza, la capacità di interazione dell'ILE con diversi agenti tossici e in diverse situazioni cliniche.



## Indice

### ***PARTE COMPILATIVA***

<b>Introduzione</b>	<b>pag. 1</b>
<b>Capitolo 1: Epidemiologia delle intossicazioni</b>	<b>pag. 2</b>
<b>Capitolo 2: Emulsioni lipidiche endovenose</b>	<b>pag. 10</b>
<b>2.1: Introduzione</b>	<b>pag. 10</b>
<b>2.2: Principale Utilizzo e Cenni Storici</b>	<b>pag. 11</b>
<b>2.3 Caratteristiche Chimico-Fisiche</b>	<b>pag. 14</b>
<b>2.3: Meccanismo D'azione</b>	<b>pag. 16</b>
<b>2.5 Reazioni Avverse, Linee Guida e Dosaggi</b>	<b>pag. 24</b>
<b>2.6 Utilizzo in Medicina Umana e Veterinaria</b>	<b>pag. 34</b>
<b>2.6.1 Utilizzo dell'emulsione lipidica nelle intossicazioni da anestetici locali</b>	<b>pag. 36</b>
<b>2.6.2 Utilizzo dell'emulsione lipidica nelle intossicazioni da altri agenti tossici (non anestetici locali)</b>	<b>pag. 40</b>

### ***PARTE SPERIMENTALE***

<b>Capitolo 1: Obiettivi</b>	<b>pag. 53</b>
<b>Capitolo 2: Materiali e Metodi</b>	<b>pag. 53</b>
<b>2.1 Selezione dei soggetti, criteri di inclusione ed esclusione dello studio epidemiologico</b>	<b>pag. 54</b>
<b>2.1.2 Elaborazione dei dati e categorie</b>	<b>pag. 54</b>
<b>2.2 Design dello studio sulla terapia con ILE e selezione dei soggetti</b>	<b>pag. 57</b>
<b>Capitolo 3: Analisi statistica</b>	<b>pag.63</b>
<b>3.1 Analisi Statistica dello studio epidemiologico</b>	<b>pag.63</b>
<b>3.2 Analisi Statistica dello studio sul trattamento con ILE</b>	<b>pag.63</b>
<b>Capitolo 4: Risultati</b>	<b>pag.64</b>
<b>4.1 Risultati dello studio epidemiologico</b>	<b>pag.64</b>
<b>4.1.1 Popolazione e Sintomi</b>	<b>pag.64</b>

*ABSTRACT E INDICE*

<b>4.1.2 Agenti Tossici</b>	<b>pag.70</b>
<b>4.1.3 Giorni di Degenza</b>	<b>pag.72</b>
<b>4.2 Risultati dello studio sul trattamento con ILE</b>	<b>pag.74</b>
<b>4.2.1 Risultati trattamento con ILE nel cane</b>	<b>pag.75</b>
<b>4.2.2 Risultati trattamento con ILE nel gatto</b>	<b>pag.78</b>
<b>Capitolo 5: Discussioni e Conclusioni</b>	<b>pag.82</b>
<b><i>BIBLIOGRAFIA</i></b>	<b>pag.95</b>





# PARTE COMPILATIVA



## Introduzione

Gli avvelenamenti rappresentano una delle patologie più frequenti nella pratica clinica ambulatoriale e ospedaliera veterinaria. Negli animali da compagnia le intossicazioni sono spesso frequenti a causa dell'ampia disponibilità di molteplici agenti tossici presenti in casa, nell'ambiente, nei giardini, nei parchi e a causa dei numerosi farmaci per l'uomo e per gli animali normalmente prescritti e presenti nell'ambiente familiare (Lee 2015; Lee 2013). Lo studio dei quadri clinici correlati ai principali avvelenamenti e delle complicazioni ad essi annesse è fondamentale per il medico veterinario. Tuttavia, solo una ristrettissima parte di tossici possiede antidoti facilmente reperibili nella pratica clinica per contrastare in maniera rapida e precoce la sintomatologia correlata (Hovda 2011).

Le emulsioni lipidiche endovenose (*Intravenous Lipid Emulsion*, ILE) sono un antidoto emergente, sia in medicina umana che in medicina veterinaria. Il meccanismo d'azione non è ancora stato completamente chiarito, ma sembra possa essere multimodale, coinvolgendo effetti sia *scavenging* che *non-scavenging*. Durante l'infusione di emulsioni lipidiche si crea un compartimento intravascolare in grado di assorbire gli agenti tossici dagli organi target, determinando una ridistribuzione in organi in cui la tossina viene conservata, metabolizzata ed eliminata (Fettiplace & Weinberg 2018; Fernandez et al. 2011; Gwaltney-Brant & Meadows 2018).

In questo studio si vuole valutare l'utilizzo dell'ILE in corso di intossicazioni da agenti tossici di diversa natura, sia lipofili, che non lipofili. A questo fine è stata analizzata in maniera retrospettiva la popolazione di pazienti, pervenuti con un forte sospetto clinico di intossicazione, presso un Pronto Soccorso Veterinario di referenza.

Una volta identificate le classi di intossicazioni più frequenti è stato impostato un protocollo di studio "pilota", utilizzando un basso dosaggio di ILE come già segnalato in letteratura in medicina umana (M. R. Fettiplace et al. 2015), al fine di identificare in maniera osservazionale in quali tipi di intossicazione il farmaco potesse risultare efficace e sicuro per il paziente.

# CAPITOLO 1

## 1 Epidemiologia delle Intossicazioni

Gli animali domestici sono spesso in contatto con composti potenzialmente nocivi, sia nell'ambiente domestico, sia nell'ambiente esterno (Lee 2013).

Inoltre, i proprietari di animali spesso non sono a conoscenza della possibile presenza di sostanze potenzialmente tossiche (ad esempio cioccolato, caramelle contenenti xilitolo, farmaci) con le quali l'animale può venire in contatto, sottovalutandone, così, l'effetto tossico. Molte manifestazioni cliniche legate a una sintomatologia da intossicazione possono essere sovrapponibili a quelle di molteplici patologie normalmente riscontrate in medicina veterinaria (Khan 2012; McNally et al. 2012). Infatti per il clinico non sempre è semplice discriminare tra queste due classi eziologiche, dal momento che nell'ambito della Tossicologia Veterinaria spesso manca un supporto clinico-patologico utile per la diagnosi. Per questo motivo, questo tipo di casi richiedono un approccio multifattoriale che prenda in considerazione una dettagliata anamnesi, l'analisi dei segni clinici, gli esiti degli esami laboratoristici e quando possibile l'effettuazione di test specifici (Puschner & Brutlag 2012).

Quindi, per il medico veterinario, risulta di fondamentale importanza, la capacità di riconoscere i possibili agenti tossici con i quali un paziente può essere venuto in contatto.

A tal proposito, considerando la crescita esponenziale delle informazioni tossicologiche e gli strumenti attualmente a disposizione per la loro diffusione, il professionista si può ritrovare sopraffatto e confuso. La sfida è quella di riuscire a riconoscere le risorse più appropriate per poter ottenere più informazioni possibili (McNally et al. 2012).

Le informazioni si dividono in base alla letteratura scientifica in primarie, secondarie e terziarie. La letteratura primaria è quella proveniente da circa 30.000 giornali biomedici pubblicati ogni anno, in grado di riportare i dati dettagliati delle ricerche in specifiche aree. La letteratura secondaria cerca di raggruppare la letteratura primaria tramite servizi di indicizzazione o tramite servizi di raccolta di *abstract*. I

servizi di indicizzazione sono limitati alle informazioni bibliografiche, invece, la raccolta di *abstract* permette di avere una breve descrizione della fonte citata. In entrambi i casi, questo tipo di letteratura, non può essere ritenuta definitiva, ma ha il significato di poter supportare la ricerca di informazioni. La letteratura terziaria è riferita ai libri o ai database di testi completi (McNally et al. 2012). Questo tipo di letteratura è quella preferita dai medici veterinari, ma presenta alcune limitazioni, legate, ad esempio, alla quantità di informazioni dipendenti dallo spazio disponibile, all'impossibilità di avere una tempistica di aggiornamento ridotta e all'incapacità di rispecchiare la realtà regionale del Paese in cui si pratica la professione.

A tal proposito, lo studio dei dati epidemiologici risulta particolarmente importante per poter conoscere le intossicazioni più frequenti negli animali da compagnia.

In tre studi, a cura di Caloni *et al.* (Caloni et al. 2014; Caloni et al. 2013; Caloni et al. 2012), sono state condotte diverse analisi retrospettive sulla banca dati del Centro Antiveneni di Milano, in collaborazione con la Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Milano, al fine di identificare i dati epidemiologici delle intossicazioni segnalate presso il suddetto centro. Lo studio epidemiologico riguarda il decennio 2000-2010 e raccoglie i dati delle intossicazioni segnalate telefonicamente al Centro Antiveneni. Sono stati segnalati gli avvelenamenti di 1928 animali, di cui 1545 cani e 320 gatti (Figura 1). Circa l'80% delle segnalazioni è avvenuta tramite veterinari, invece circa il 20% direttamente da proprietari (Caloni et al. 2012).

I dati mostrano che circa l'84% dei casi di intossicazione è avvenuta tramite la via orale, seguita dalla via cutanea (7%). L'analisi dei dati evidenzia che la prima causa di avvelenamento sono i pesticidi (48%), seguita dai farmaci (21%), prodotti casalinghi (20%), piante (5.5 %), zootossine (2.5 %) e metalli (0.8 %) (Figura 2) (Caloni et al. 2012).

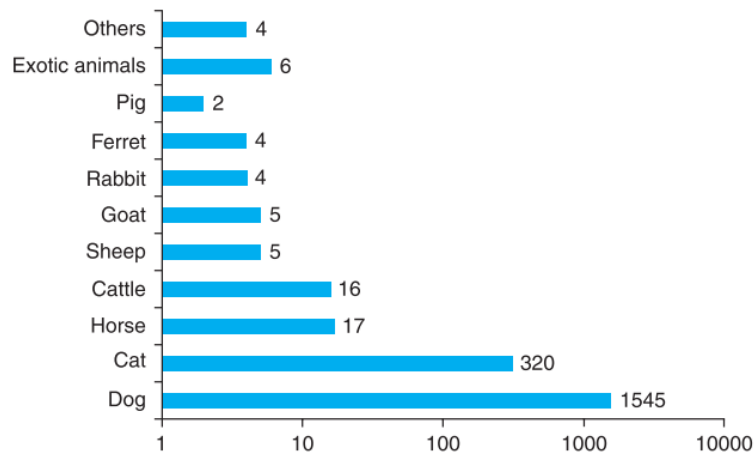


Figura 1: distribuzione di specie nei cani segnalati di avvelenamento tra il 2000 e il 2010 (Caloni et al. 2012)

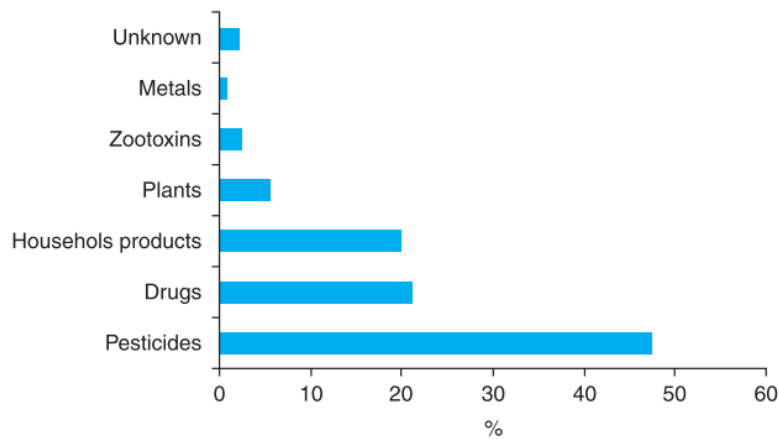


Figura 2: distribuzione di tipologia di avvelenamenti segnalati tra il 2000 e il 2010 (Caloni et al. 2012)

Tra i pesticidi gli insetticidi sono stati i più frequenti (35.8%), seguiti dai rodenticidi (32%) e da lumachicidi (18%), erbicidi (7.5%) e fungicidi (6%). Tra gli insetticidi i cani hanno presentato una maggiore frequenza di ingestione di organofosfati/carbamati (47%), invece tra i gatti le intossicazioni da permetrina erano una delle principali cause riferite al Centro Antiveneni (19.6%). L'esposizione a rodenticidi invece è stata rilevata per il 15% dei casi di intossicazione nel cane, invece i casi nel gatto sono prevalentemente legati al Chloralose, un rodenticida utilizzato per il controllo della popolazione aviaria. I molluschicidi, ed in particolare la metaldeide, sono tossici assunti prevalentemente dai cani (>90%). Tra gli erbicidi i

più segnalati sono il glifosato e il paraquat. I fungicidi sono riportati per circa il 6% e sono riferibili prevalentemente alle intossicazioni da rame, invece per i metalli l'ingestione prevalentemente segnalata nel cane è quella da mercurio a causa dell'ingestione di termometri. Per quanto riguarda le zootossine sono segnalati tre tipi di animali agenti di avvelenamento: la vipera aspis, il cui morso è correlato ad un alta mortalità (25%), le processionarie e il rospo comune (bufo bufo), che se ingerito, può determinare un'intossicazione simile a quella da digitalici (Caloni et al. 2012).

I dati raccolti in questa analisi retrospettiva sono pressoché equivalenti a quanto precedentemente evidenziato in studi epidemiologici in Europa (Berny et al. 2010).

Una delle principali cause di intossicazione nel cane e nel gatto è l'ingestione di farmaci, spesso legata ad errori del proprietario, ad utilizzi off-label e ad ingestioni accidentali. Tra tutti i differenti farmaci segnalati, quelli più frequentemente riportati nei piccoli animali presso il Centro Antiveneni di Milano (CAV) sono i farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), le benzodiazepine e i barbiturici (Caloni et al. 2014). In uno studio retrospettivo sono state selezionate dalla banca dati del CAV le segnalazioni di intossicazione da farmaci raccolte tra il 2006 e il 2012 (Caloni et al. 2014). In questo frangente sono stati registrati 335 casi, di cui il 70% che coinvolgevano cani e il 30% gatti. I cani sono stati intossicati per più del 70% da farmaci ad uso umano, invece i gatti per più del 70% da farmaci ad uso veterinario. La via di esposizione più frequente è stata quella orale (75%), seguita da quella cutanea per il 19%.

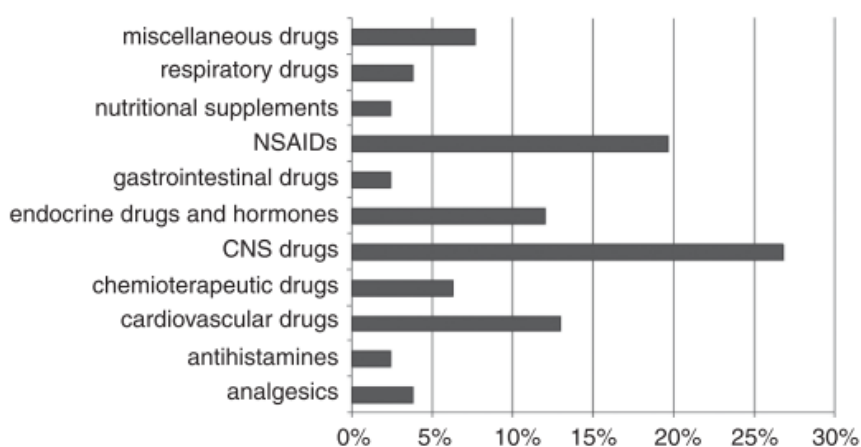


Figura 3: distribuzione di tipologia di avvelenamenti da farmaci segnalati tra il 2006 e il 2012 (Caloni et al. 2014; Caloni et al. 2012)

Come è possibile vedere nella Figura 3, tra le intossicazioni da farmaco, la più frequente risulta quella da farmaci che agiscono sul sistema nervoso centrale (SNC), seguita dai FANS, dai farmaci che agiscono sul sistema cardiovascolare e infine, i farmaci per il sistema endocrino.

Tra i farmaci che agiscono sul SNC (Figura 5) i più riportati dal Centro Antiveleini di Milano sono: i sedativi-ipnotici (28%), sia benzodiazepine, che non-benzodiazepine; i farmaci antidepressivi (24%). L'ingestione risulta solitamente accidentale e riguarda farmaci ad uso umano, utilizzati prevalentemente nell'aiuto all'insonnia.

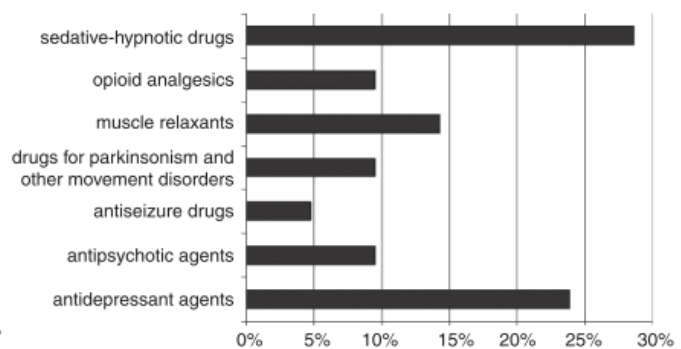
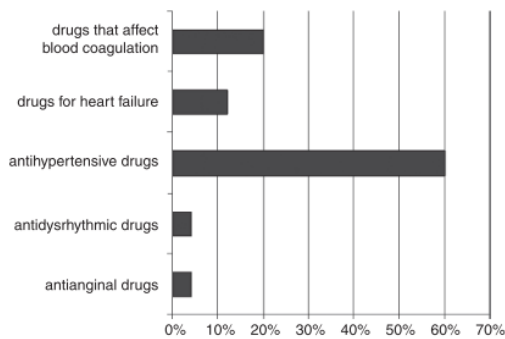


Figura 4: farmaci che agiscono sul sistema cardiovascolare segnalati tra il 2006 e il 2012 (Caloni et al. 2014)

Figura 5: farmaci che agiscono sul SNC segnalati nelle intossicazioni tra il 2006 e il 2012 (Caloni et al. 2014)

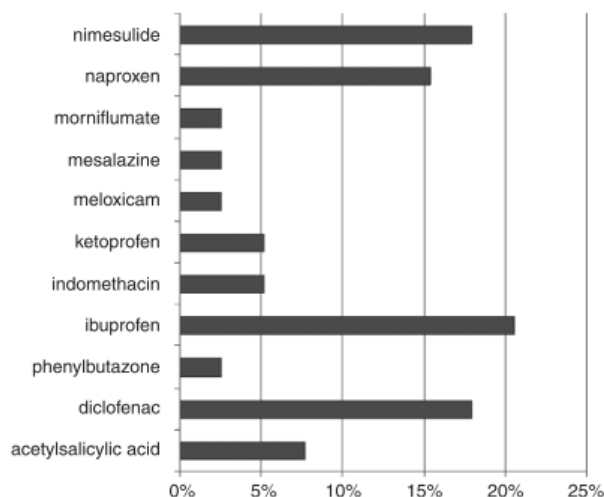


Figura 6: FANS segnalati nelle intossicazioni tra il 2006 e il 2012 (Caloni et al. 2014)



I farmaci che agiscono sul sistema cardiovascolare, invece, sono riportati in Figura 4 e riconoscono una maggiore frequenza negli anti-ipertensivi.

Un terzo studio epidemiologico tossicologico, di tipo retrospettivo, è stato condotto dal Centro Antiveneni di Milano. Sono state analizzate le segnalazioni di esposizione a piante tossiche tra il 2000 e il 2011 (Caloni et al. 2013).

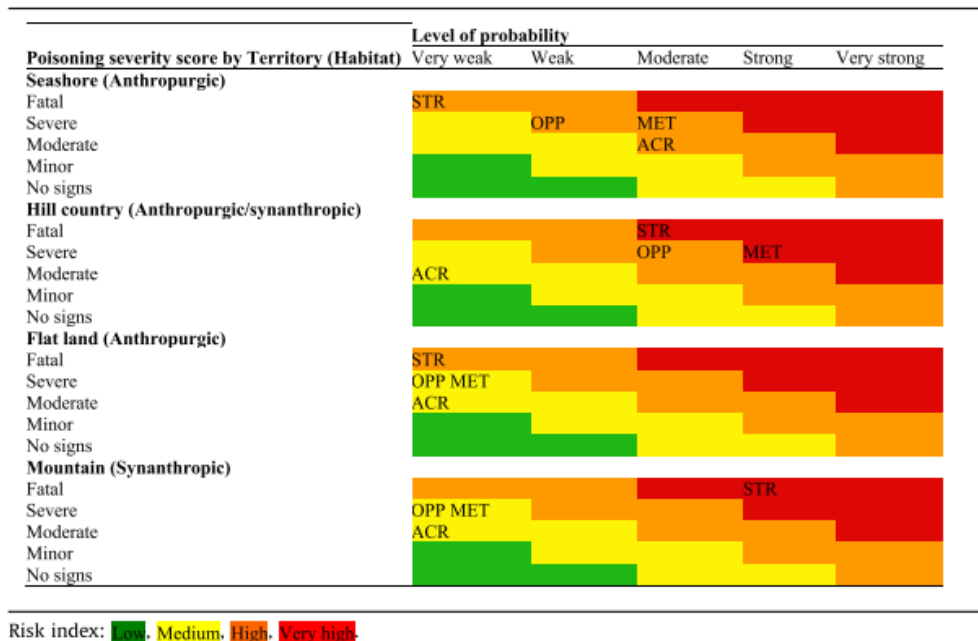
Le segnalazioni di intossicazioni da piante rappresentano il 5.7 % delle segnalazioni totali. Di queste, la maggior parte riguardano i cani (circa 62%) e i gatti (26%). Sono state registrati 123 casi di esposizione a piante tossiche. I segni riportati vanno da lievi a moderati ed è segnalata una mortalità, correlata all'esposizione a piante tossiche del 10%. Le piante maggiormente coinvolte sono: *Cycas revoluta*, *Euphorbia pulcherrima*, *Hydrangea macrophylla*, *Nerium oleander*, *Rhododendron* e *Prunus*. In questo studio i casi segnalati in cui l'*exitus* è risultato infausto sono da riferire all'ingestione di oleandro o tasso europeo (*Taxus baccata*) nel cane e di *Hydrangea macrophylla* nel gatto (Caloni et al. 2013).

In uno studio epidemiologico effettuato nel centro Italia nel 2018 da parte di Calzetta e colleghi sono state analizzate le incidenze di intossicazioni tra il 2015 e il 2017 (Calzetta et al. 2018). L'analisi dei dati proviene da due studi preliminari condotti su cani, rispettivamente in 72 e 12 cliniche veterinarie. Questa valutazione ha permesso di identificare i gradi di prevalenza delle intossicazioni nella popolazione analizzata: L'agente tossico più frequente sono stati i rodenticidi anticoagulanti (3.4/1000 cani/anno; 453 eventi), seguiti dai pesticidi organofosfati (3.0/1000 cani/anno; 394 eventi), metaldeide (1.5/1000 cani/anno; 202 eventi) e la stricnina (1.3/1000 cani/anno; 178 eventi).

Questo studio epidemiologico ha permesso di effettuare una valutazione dell'incidenza delle intossicazioni rispetto alle caratteristiche del territorio (Calzetta et al. 2018).

L'area marittima è stata associata maggiormente alle intossicazioni da rodenticidi (*odds ratio*, OR, 1.81, 95% intervallo di confidenza, CI, 1.54–2.13) e la metaldeide (OR 1.61, 95% CI 1.16–2.28). L'area collinare è stata associata alle intossicazioni da

pesticidi organofosfati (OR 1.73, 95% CI 1.38–2.15), metaldeide (OR 2.26, 95% CI 1.53–3.25) e stricnina (OR 1.86, 95% CI,1.34–2.57). L’area montana è stata associata alle intossicazioni da stricnina (OR 3.79, 95% CI 2.84–5.06). Per le specifiche si rimanda al grafico 1 (Calzetta et al. 2018).



*Grafico 1: Valutazione del rischio semi-quantitativa in relazione alla frequenza di esposizione a un tossico, rispetto alle caratteristiche del territorio in centro Italia (Calzetta et al. 2018)*

I dati rilevati dagli studi del Centro Antiveleni di Milano e dall’Università di Torino (Berny et al. 2010) riportano prevalenze compatibili con altri studi epidemiologici riportati nel resto dell’Europa tra il 1998 e il 2007 (Berny et al. 2010). Gli agenti tossici che presentano una maggiore esposizione cambiano da stato a stato. L’Italia, a differenza di altri stati europei, presenta come tossico più frequentemente assunto dagli animali da compagnia, i rodenticidi (Calzetta et al. 2018; Caloni et al. 2012). Invece, altri stati europei riportano più frequentemente gli insetticidi. Tra gli insetticidi, i tossici più coinvolti in territorio europeo ed italiano sono i carbamati. Per quanto riguarda i rodenticidi, questi risultano confermati nel 2.1% dei casi di intossicazione da stricnina e il 3.6% nei casi di intossicazione da anticoagulanti. Le intossicazioni legate all’ingestione di piante si presentano fortemente variegata in

tutto il territorio europeo e questo è probabilmente riferibile alla diversità di specie presenti naturalmente nelle rispettive aree. Ad ogni modo, nei gatti le piante che più frequentemente determinano intossicazione sono le Liliacee. Tra i farmaci ad uso umano gli avvelenamenti da FANS sono i più frequenti, così come lo sono quelli da permetrina per quanto concerne i farmaci ad uso veterinario (Berny et al. 2010). Negli Stati Uniti d'America, l'*Animal Poison Control Center* (APCC) ha raccolto i dati relativi alle intossicazioni negli animali da compagnia tra il 2002 e il 2010 (McLean & Hansen 2012). I cani (76%), seguiti dai gatti (13%), rimangono gli animali che sono esposti a queste patologie più frequentemente. Tra i farmaci ad uso umano/veterinario ingeriti accidentalmente i più frequenti rimangono i FANS, anche se la maggior frequenza, in questo caso, è attribuibile all'acetaminofene. Le maggiori esposizioni ai pesticidi riguardano invece le permetrine. Si riconferma, invece, il dato che le *Liliacee* sono la pianta con cui maggiormente gli animali da compagnia si avvelenano (McLean & Hansen 2012).

# CAPITOLO 2

## Emulsioni Lipidiche Endovenose

### 2.1 Introduzione

Le emulsioni lipidiche endovenose (*Intravenous Lipid Emulsion* – ILE) sono state considerate, nell'ultimo decennio, come possibili e validi antidoti rivolti verso agenti tossici con caratteristiche lipofile. Fin dal primo *case report* pubblicato nel 2006 (Rosenblatt et al. 2006) l'utilizzo dell'ILE ha mostrato un notevole interesse da parte della comunità scientifica, sia in medicina umana (Fettiplace & McCabe 2017), sia in medicina veterinaria (Fernandez et al. 2011; Gwaltney-Brant & Meadows 2018). Infatti, diverse società di anesthesiologia e tossicologia hanno pubblicato raccomandazioni sull'utilizzo delle emulsioni lipidiche in corso di intossicazioni iatrogene da anestetici locali (American College of Medical Toxicology 2017; Cave et al. 2010). Nonostante l'ampio interesse e le molteplici pubblicazioni, l'evidenza medica in medicina umana sull'utilizzo delle emulsioni lipidiche rimane ancora scarsa e il suo utilizzo permane controverso (Forsberg et al. 2016; Levine, Robert S Hoffman, et al. 2016). Ad oggi, in medicina veterinaria, sono stati pubblicati molteplici *case report* e *case series* (Robben & Dijkman 2017), e sfortunatamente un solo *trial* clinico randomizzato e controllato che ha coinvolto 36 gatti intossicati da permetrina in 12 strutture veterinarie australiane (Peacock et al. 2015). Inoltre, in medicina umana, a differenza di quanto riportato in medicina veterinaria (Gwaltney-Brant & Meadows 2012), sono state evidenziate molteplici reazioni avverse e complicazioni, quali: pancreatiti, tromboflebiti, tromboembolismo polmonare, *Fat Overload Syndrome* (FOS), ipertensione polmonare e *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) (Forsberg et al. 2017). A tal proposito, esistono infatti molteplici aspetti controversi riguardo alle dosi di emulsioni lipidiche necessarie per ottenere un effetto di decontaminazione, in quanto potenzialmente, i dosaggi attualmente in

uso potrebbero favorire gli eventi avversi precedentemente riportati (M. R. Fettiplace et al. 2015; American College of Medical Toxicology 2017). A tal proposito, in questa revisione della letteratura si vuole analizzare lo stato dell'arte attualmente presente in medicina umana e in medicina veterinaria, al fine di identificare le migliori condizioni cliniche necessarie per valutare l'efficacia dell'ILE in corso di intossicazioni dei piccoli animali.

## 2.2 Principale Utilizzo e Cenni Storici

Nel 1961 ha inizio l'utilizzo delle emulsioni lipidiche somministrate per via parenterale, come mezzo di nutrizione, sia nei pazienti adulti che in quelli pediatrici. Inizialmente vennero utilizzate le emulsioni a base di latte di soia e solamente più tardi, si affiancarono altre emulsioni a base di olio di pesce, olio di oliva, olio di cartamo, olio di cocco, olii con trigliceridi a media catena (Waitzberg et al. 2006).

La nutrizione parenterale (PN, *parenteral nutrition*) è fornita per via endovenosa quando il paziente necessita di un supporto nutritivo, ma la via enterale non è utilizzabile a causa di una patologia sottostante. La soluzione nutritiva normalmente fornisce: energia, mediante una emulsione lipidica e una soluzione glucosata, proteine, dalla soluzione amminoacidica, e vitamine idrosolubili, con la possibile aggiunta anche di elettroliti. La soluzione per la PN deve essere ricostituita nell'ordine appropriato, in modo da non far precipitare gli elementi, e l'intero processo deve essere effettuato con la massima sterilità, per evitare la contaminazione microbica. Le emulsioni lipidiche disponibili in commercio sono a concentrazioni del 10% (1,1 Kcal/ml), 20% (2 Kcal, ml), 30% (3 Kcal/ml) e hanno dimensioni di particella corrispondenti a quelle dei chilomicroni endogeni (Michel & Eirmann 2015).

L'emulsione lipidica endovenosa nella PN svolge 3 attività essenziali:

1. i lipidi sono convertiti in maniera efficiente in risorsa energetica per il metabolismo cellulare e aiutano a raggiungere i requisiti calorici minimi giornalieri;

2. l'emulsione lipidica copre il fabbisogno di acidi grassi essenziali tramite gli acidi linoleico e  $\alpha$ -linolenico;
3. gli acidi grassi polinsaturi forniti con la PN sono utili come precursori degli eicosanoidi (prostaglandine, leucotrieni, trombossani, prostaciline e lipossine), che intervengono nell'aggregazione piastrinica, nel rilascio di neurotrasmettitori, hanno attività vasomotoria e intervengono nella risposta immunitaria e infiammatoria (Mirtallo et al. 2010)

Le complicazioni legate alla PN sono dovute principalmente ad alterazioni a livello di catetere endovenoso, dove possono instaurarsi trombosi, tromboflebiti o infezioni; altre complicazioni sono conseguenti alla soluzione nutritiva che può subire una contaminazione batterica, formare precipitati o interazioni tra gli elementi al suo interno. Più raramente possono essere presenti anche delle complicazioni metaboliche, ma queste si possono facilmente evitare con il corretto calcolo dell'energia da somministrare al paziente e del tempo necessario per l'infusione (Michel & Eirmann 2015). Gli effetti avversi sul metabolismo più comunemente associati alla somministrazione di ILE sono: l'interferenza con la funzionalità del sistema immunitario, respiratorio, epatico e un aumento della concentrazione di trigliceridi. Tuttavia, questi effetti sono più spesso associati a una somministrazione a lungo termine e sono minimizzati se l'infusione di ILE viene mantenuta continuativamente (non ad intermittenza) e senza eccedere la dose massima consigliata di 2,5 g/Kg/giorno o la velocità di infusione di 0,11 g/Kg/ora. Inoltre, l'utilizzo di un'emulsione al 20% piuttosto che al 10%, riduce ulteriormente il rischio di ipertrigliceridemia (Mirtallo et al. 2010). Successivamente le emulsioni lipidiche sono state utilizzate anche come veicolo per principi attivi farmacologici. Questo uso ha numerosi vantaggi: diminuisce l'assorbimento dei farmaci lipofili nei sistemi di infusione in plastica, diminuisce l'idrolisi o l'ossidazione dei farmaci instabili e riduce la farmaco-tossicità.

I principi attivi per cui viene utilizzata l'ILE come veicolo sono soprattutto: agenti anestetici e sedativi, analgesici ed antiinfiammatori, prostaglandine e antiipertensivi. Il propofol, farmaco in emulsione lipidica tra i più comuni ed utilizzati, viene usato dal 1989 per anestesie o sedazioni durante procedure mediche e chirurgiche e dal 1993 come farmaco di prima scelta per la sedazione nei pazienti ventilati meccanicamente (Mirtallo et al. 2010).

Successivamente alla commercializzazione dell'Intralipid® nel 1962, ricercatori e clinici iniziarono a proporre l'utilizzo di emulsioni lipidiche endovenose come mezzo per legare i farmaci o come fluido per la dialisi extracorporea. Infatti, nello stesso anno, venne pubblicato uno studio che affermava che l'infusione lipidica a base di olio di semi di cotone e di mais poteva ridurre la durata dell'anestesia con tiopentale (Russel RL 1962). Nel 1968 è stato pubblicato un *case report* in cui l'uso dell'emodialisi lipidica extracorporea in un paziente si è mostrata efficace nella detossificazione dalla camfora (Ginn et al. 1968), aprendo le porte al nuovo tipo di dialisi (Fettiplace & Weinberg 2015).

La prima segnalazione dell'utilizzo delle emulsioni lipidiche endovenose come possibile antidoto in corso di intossicazioni è avvenuta nel 1974. Questo studio ha dimostrato l'efficacia di un'emulsione lipidica di cambiare la distribuzione di clorpromazina nell'organismo di un coniglio. Lo studio si suddivide in due fasi: nella prima fase viene valutata *in vitro* la capacità dei lipidi di ridurre la concentrazione di clorpromazina libera nel sangue di coniglio; nella seconda fase viene valutata *in vivo* la capacità dell'emulsione lipidica di ridurre i sintomi legati alla somministrazione di una dose superiore alla DL50 (Krieglstein et al. 1975).

Dieci anni dopo viene pubblicato un nuovo studio, in questo caso il modello di riferimento è il ratto e il farmaco valutato è la fenitoina. I risultati della fase *in vitro* confermano il sequestro del farmaco nella porzione lipidica del siero (favorita dall'infusione dell'emulsione lipidica), *in vivo* l'emivita della fenitoina è aumentata ma i segni clinici notevolmente migliorati grazie all'infusione di ILE (Straathof et al. 1984).

Nel 1991, uno studio ha dimostrato la capacità dell'emulsione lipidica di ridurre l'emivita della ciclosporina del coniglio, valutando, in maniera seriale, nel plasma dei soggetti coinvolti, la concentrazione del farmaco libero (Shah & Sawchuk 1991).

Solo nel 1998, il Dr Guy Weinberg, fondatore del programma *Lipid Rescue* e attualmente ritenuto uno dei ricercatori maggiormente coinvolti nello studio delle emulsioni lipidiche nelle intossicazioni, pubblica il suo primo articolo sull'argomento. Questo risulta essere il primo studio in cui dimostra che la somministrazione endovenosa di un'emulsione lipidica aumenta la dose di bupivacaina necessaria per indurre asistolia nel ratto (Weinberg et al. 1998).

### 2.3 Caratteristiche Chimico-Fisiche

Le emulsioni più utilizzate per la somministrazione nella comune pratica clinica sono mini-emulsioni a base di olio di soia. Gli acidi grassi contenuti in queste emulsioni sono principalmente: linoleico, oleico, palmitico, linolenico e stearico, in concentrazioni variabili.

Gli acidi grassi sono classificati sulla base della lunghezza della catena carbonilica (corta, media e lunga catena), grado di saturazione (saturi, monoinsaturi o polinsaturi) e posizione del primo doppio legame a partire dall'estremità metilenica ( $\omega$ -3,  $\omega$ -6,  $\omega$ -9, ecc). Le formulazioni farmaceutiche di emulsioni lipidiche endovenose sono classificate in tre gruppi sulla base della dimensione media delle gocce di grasso (MDS, *mean droplet size*): macro (MDS > 1,0  $\mu$ m), mini (MDS < 1,0  $\mu$ m) e micro (MDS < 0,1  $\mu$ m). Le emulsioni macro e mini richiedono energia per la loro formulazione e hanno un aspetto torbido, che non è presente nelle micro-emulsioni. Queste ultime sono termodinamicamente stabili e la loro formazione avviene spontaneamente. Le emulsioni vengono prodotte forzando il passaggio di una miscela di acqua, emulsionante e lipidi, attraverso piccole aperture. Ripetendo questo processo più volte, si crea un'emulsione lipidica a gocce submicrometriche (Fernandez et al. 2011).



È importante considerare la dimensione delle gocce lipidiche per valutare gli effetti collaterali dell'emulsione lipidica sulla salute dell'organismo. Infatti gocce più grandi di 1  $\mu\text{m}$  sono fagocitate dal sistema reticolare attivante e più facilmente causano ostruzioni del microcircolo provocando una risposta infiammatoria secondaria.

Una dose elevata di ILE facilita la coalescenza delle gocce lipidiche ed aumenta quindi la loro dimensione, favorendo la formazione di grossi globuli che si separano dalla fase acquosa. Di conseguenza, esiste l'eventualità della formazione di trombi lipidici a livello del macrocircolo (Cave & Harvey 2014)

I prodotti disponibili per l'emulsione lipidica endovenosa contengono un eccesso di emulsionante; il rapporto emulsionante/olio è maggiore nelle sospensioni a concentrazione inferiore. L'emulsionante favorisce la formazione di aggregati che sono chiamati liposomi, i quali hanno solitamente un diametro inferiore agli 80 nm. Questi inglobano il colesterolo endogeno, stimolandone la sintesi a livello dei tessuti, e diventano particelle con caratteristiche ultrastrutturali e chimico-fisiche di lipoproteine anormali, portano infatti alla formazione della lipoproteina-X, che risulta resistente alla lipolisi e permane quindi nel circolo; portando potenzialmente all'ipercolesterolemia. La concentrazione dei liposomi varia anche in base alla velocità di infusione e alla durata della terapia con emulsione lipidica: l'ideale sarebbe di utilizzare una velocità di infusione inferiore con un prodotto maggiormente concentrato per ridurre il rischio di ipercolesterolemia (Waitzberg et al. 2006).

L'emulsione lipidica attualmente più utilizzata per il trattamento delle intossicazioni è l'Intralipid® 20% (Figura 7) (Fernandez et al. 2011), un'emulsione a base di trigliceridi a lunga catena derivati dall'olio di soia. I trigliceridi (200 g/L) sono emulsionati in 1 L di acqua distillata, usando 12 g/L di un emulsionante fosfolipidico derivato dal tuorlo d'uovo, composto principalmente da fosfatidilcolina. La soluzione contiene anche 25 g/L di glicerolo, che la rendono isotonica. I trigliceridi a lunga catena includono cinque differenti acidi grassi a lunga catena: acido linoleico,

acido linolenico, acido oleico, acido palmitico e acido stearico. (Van De Velde et al. 2000)



Figura 7: [www.fresenius-kabi.it](http://www.fresenius-kabi.it) [Accesso 01/10/2018]

Specifiche indicazioni per la conservazione delle emulsioni lipidiche endovenose vengono descritte direttamente dal fornitore, a seconda dei diversi tipi di prodotto. Se non si utilizza completamente una confezione di ILE, questa andrebbe conservata protetta e refrigerata (2-8 °C) ed eliminata dopo 24 ore. Le preparazioni disponibili sul commercio sono isotoniche, quindi possono essere somministrate tramite una via periferica (Fernandez et al. 2011; Fresenius Kabi 2016).

## 2.4 Meccanismo d'Azione

Ancora oggi l'esatto meccanismo d'azione della terapia con ILE non è stato chiarito. Si pensa che sia la farmacocinetica che la farmacodinamica dell'emulsione influenzino la sua efficacia d'azione durante la rianimazione nella tossicità da anestetici locali, detta resuscitazione lipidica (*lipid rescue*).

La prima ipotesi sul funzionamento dell'ILE venne formulata da Weinberg nel 1998: il *lipid sink*, ovvero la capacità dell'infusione di lipidi di creare un nuovo comparto apolare all'interno del plasma, che attrae ed intrappola le molecole lipofile (causanti

l'intossicazione), riducendone la disponibilità per la distribuzione ai tessuti *target* e favorendone un più un più rapido metabolismo ed eliminazione (Figura 8) (Weinberg et al. 1998). Questa teoria farmacocinetica confermerebbe l'efficacia dell'ILE verso tutte le molecole lipofile.

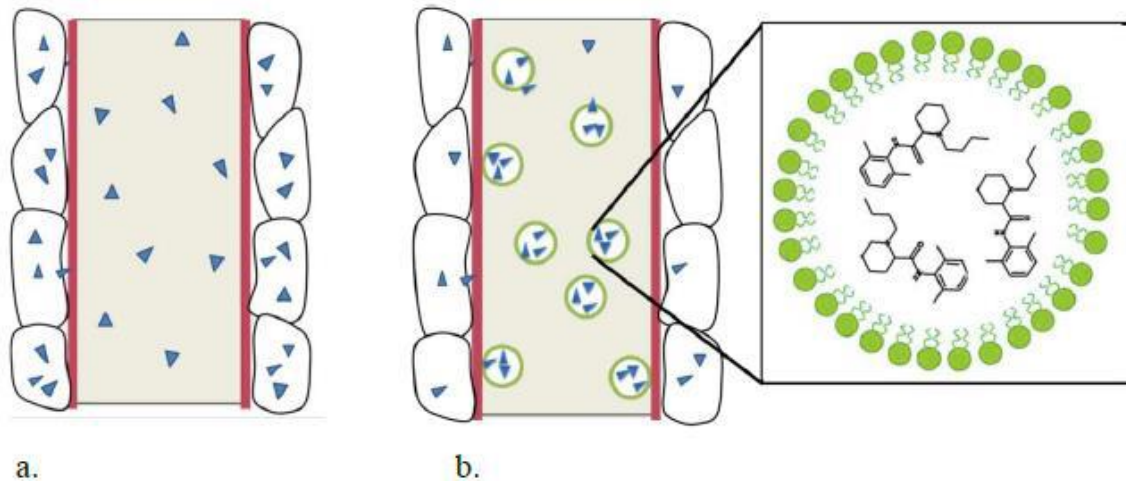


Figura 8: Schema del meccanismo d'azione lipid sink: a) la concentrazione del principio attivo nei tessuti è in equilibrio con la quota di sostanza libera nel plasma sanguigno b) le gocce lipidiche agiscono come spugne, intrappolando le molecole di principio attivo; la quota libera di tossico nel plasma diminuisce e, di conseguenza, anche il contenuto a livello tissutale è ridotto. Da: *Exploring the 'Lipid Sink' as a mechanism for Reversal of Local Anesthetic Toxicity: A PBPK Modeling Study*, di Ilin Kuo, University of Illinois at Chicago, 2012

Molti casi clinici dimostrano l'effetto dell'ILE non solo nelle intossicazioni da agenti anestetici lipofili (come la bupivacaina), ma anche per bloccanti del canale del calcio,  $\beta$ -bloccanti, antidepressanti triciclici, antipsicotici, antiaritmici, ecc.; sebbene il meccanismo da cui scaturisce la loro tossicità sia diverso, questi farmaci hanno in comune la lipofilia, dimostrata dal coefficiente di distribuzione  $\log D$  maggiore di 2 (Cave & Harvey 2014). Uno studio *in vitro* del 2011 ha provato che, utilizzando come dati di base il  $\log P$  e il volume di distribuzione di diversi farmaci, era possibile prevedere l'efficacia del *lipid sink* nei loro confronti con un'esattezza dell'88%; ulteriori proprietà chimico-fisiche che non sembrano invece essere rilevanti in questo senso sono: il legame con le proteine, il peso molecolare e la percentuale di principio attivo in forma ionizzata ad un pH di 7,4 (French et al. 2011).

Recenti studi hanno rivalutato la definizione di *Lipid Sink*, convertendolo a quella che oggi viene definito *Lipid Shuttle* (Fettiplace & Weinberg 2018). Questo termine identifica un meccanismo maggiormente dinamico, composto da due fasi:

1. Le capacità di legame con l'agente tossico
2. Gli effetti ridistribuitivi nell'organismo.

La capacità di legame è garantita da molteplici fattori: la lipofilia del tossico, la capacità di ionizzazione di una sostanza debolmente acida o basica ed in particolare le cariche elettrostatiche degli agenti tossici a pH fisiologico (vedi figura 9).

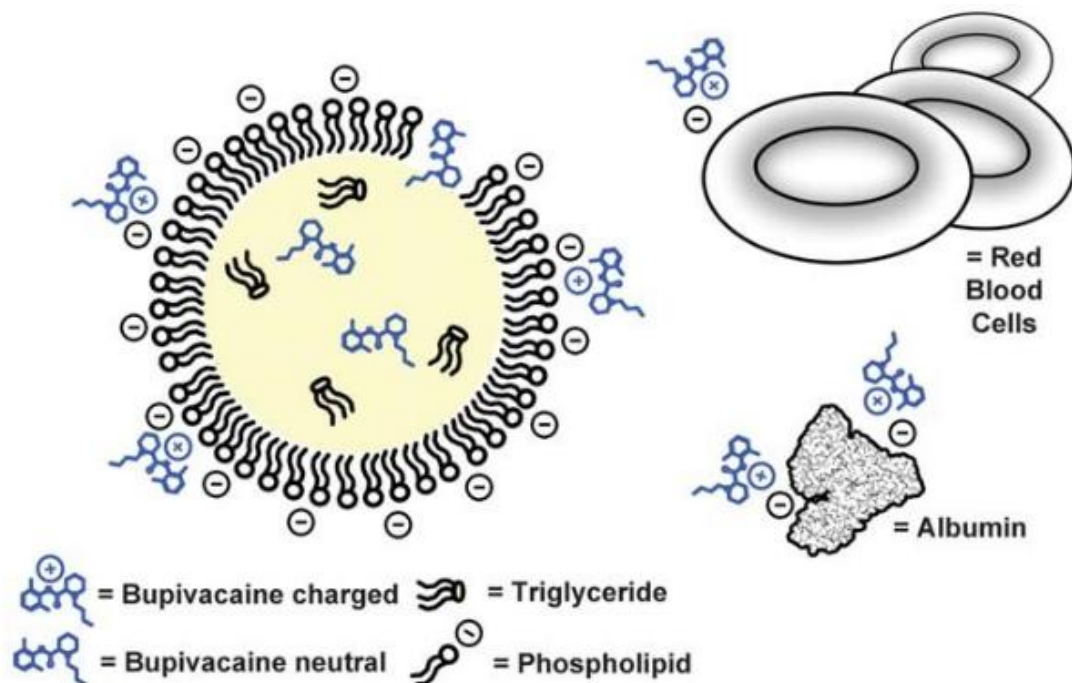


Figura 9: Legame intravascolare della bupivacaina da parte dell'ILE. Al pH fisiologico (7.4), la bupivacaina si presenta come una specie neutrale e cationica (caricata positivamente). Le specie caricate positivamente si associano, grazie a interazioni elettrostatiche, alle plasmaproteine (es., albumine) e ai globuli rossi, legandosi alla loro superficie caricata negativamente. L'aggiunta dei lipidi forma un terzo compartimento per il legame della bupivacaina al suo interno. Le "gocce" lipidiche sono composte da uno strato esterno di fosfolipidi unilamellari e uno strato interno di trigliceridi idrofobici. In base alla partizione lipofila che si crea, la bupivacaina entra all'interno della membrana e si sposta internamente. Inoltre, le molecole caricate positivamente si associano ai fosfolipidi caricati negativamente in base a principi elettrostatici. (Fettiplace & Weinberg 2018)

La redistribuzione avviene a partire dagli organi target come il cervello, il cuore e i muscoli per essere distribuito a livello ematico ed eliminato. Uno studio del 2015 prodotto da Fettiplace et al. ha dimostrato che in modelli animali sottoposti a sovradosaggi di bupivacaina, in cui sono stati valutati i livelli di agente tossico dopo somministrazione di ILE a livello plasmatico, di partizioni lipidiche e di organi target a tempi predefiniti, si è assistito a un calo di concentrazione a livello plasmatico e tissutale a favore del compartimento dato dalle emulsioni lipidiche (M. Fettiplace et al. 2015a; Fettiplace & Weinberg 2018).

Esistono differenti tipologie di emulsioni lipidiche per uso endovenoso, che possiedono differenti concentrazioni e tipi di acidi grassi, tuttavia ad oggi la preparazione più utilizzata per il trattamento delle intossicazioni è l'Intralipid® 20% (Ozcan & Weinberg 2012), probabilmente solo per la sua elevata diffusione nelle unità di terapia intensiva per la nutrizione parenterale. Uno studio *in vitro* del 2009 mette a confronto l'Intralipid® (composta da trigliceridi a lunga catena) con il Medialipid™ (al suo interno sono presenti sia trigliceridi a lunga che a media catena), valutandone la capacità di legare bupivacaina racemica, levo-bupivacaina e ropivacaina a diverse concentrazioni. Il risultato è che l'Intralipid® è 2,5 volte più efficace del Medialipid™ nel sequestrare i suddetti principi attivi; la solubilità degli anestetici locali (LA, *Local Anesthetic*) nell'emulsione lipidica e l'elevata capacità di legame spiegano in parte l'efficacia clinica dell'ILE nei casi di intossicazioni da LA (Mazoit et al. 2009).

Recenti studi, tuttavia, mettono in luce un serio problema che sembra essere collegato all'attività del *lipid sink*: l'iniezione di ILE, nelle intossicazioni per via enterale, potrebbe aumentare l'assorbimento del tossico a livello dei villi intestinali se somministrato precocemente, aggravando la situazione del paziente (Perichon et al. 2013; Harvey et al. 2013).

L'infusione lipidica fornisce nutrimento alle cellule di tutti i tessuti, favorendone una più rapida ripresa funzionale e quindi un giovamento per l'intero organismo. Gli acidi grassi liberi (FFA, *free fatty acid*), infatti, sono metabolizzati dai mitocondri cellulari

per formare ATP (adenosin-trifosfato), la materia prima energetica in biologia. Gli FFA hanno anche un effetto diretto sui canali di sodio e calcio, bersaglio del meccanismo d'azione degli anestetici locali e bloccanti del canale del calcio (Damitz & Chauhan 2015). Entrando più nel dettaglio, l'ILE sembra avere un effetto diretto soprattutto sul muscolo cardiaco, presumibilmente attribuibile sia all'aumento della concentrazione di calcio nei miocardiociti, sia all'aumento dell'apporto energetico dato dai lipidi (fonte energetica primaria del tessuto cardiaco) (Kaplan & Whelan 2012; Fettiplace & Weinberg 2018). Infatti i lipidi, una volta entrati in circolo, si legano alle apolipoproteine per essere trasportati in ambiente idrofilo, successivamente vengono metabolizzati dalla lipoprotein-lipasi in FFA e glicerolo, che possono facilmente attraversare le membrane cellulari. Una volta all'interno delle cellule il glicerolo entra nel ciclo glicolitico e gli FFA vengono trasportati nei mitocondri. Gli acidi grassi, legati all'acetil-coenzima A, attraversano la membrana esterna dei mitocondri e, grazie al legame con la carnitina, oltrepassano anche la membrana più interna, per poi essere utilizzati nella sintesi di energia tramite  $\beta$ -ossidazione (Fernandez et al. 2011; Fettiplace & Weinberg 2018). L'80-90% dell'ATP utilizzato dal miocardio deriva dalla fosforilazione ossidativa degli acidi grassi. La bupivacaina, e altri anestetici locali, riducono il trasporto dei FFA attraverso le membrane mitocondriali, causando la diminuzione della disponibilità di ATP dovuta alla soppressione della funzionalità mitocondriale, portando quindi all'insufficienza cardiaca.

Aumentando la quota complessiva di acidi grassi, l'infusione lipidica consentirebbe di annullare tramite l'effetto massa l'inibizione mitocondriale dovuta ai tossici (Gwaltney-Brant & Meadows 2012; M. Fettiplace et al. 2015a).

Questa ipotesi viene contraddetta però dal fatto che in alcuni studi l'*output* cardiaco aumenta solo quando diminuisce la concentrazione di tossico a livello cardiaco, ovvero quando ha effetto il *lipid sink*. Tuttavia, l'approfondimento di questo meccanismo d'azione mediante esperimenti è molto complesso, in quanto richiederebbe l'utilizzo di sostanze inibitorie del meccanismo specifico, oltre al

tossico, che però spesso sono lipofile (o corrispondono con il tossico stesso) e che quindi potrebbero essere sequestrate dalla fase lipidica compromettendo l'analisi (Fettiplace & Weinberg 2015; Fettiplace & Weinberg 2018).

Uno studio sulla funzionalità e la bioenergetica cardiaca del 2007, utilizzando come modelli in vitro dei cuori isolati di ratto, dimostra l'effetto inotropo diretto dell'ILE nella tossicità da levo-bupivacaina; infatti l'emulsione lipidica infusa durante l'esperimento aumenta significativamente la contrattilità cardiaca e la pressione sistolica (Stehr et al. 2007), ma, in questo studio, la concentrazione del tossico a livello tissutale non viene valutata.

Inoltre, come abbiamo già detto, il miglioramento della funzionalità miocardica può essere dovuto all'aumento degli ioni calcio all'interno delle cellule cardiache. Nell'organo cardiaco isolato, gli FFA attivano direttamente i canali del calcio voltaggio-dipendenti; questa attivazione è stata dimostrata per gli acidi grassi a lunga catena insaturi (linoleico, linolenico, oleico) e saturi (palmitico e stearico). Questi acidi grassi sono i maggiori costituenti delle emulsioni lipidiche. Mentre l'accumulo di calcio intracellulare potrebbe essere deleterio nell'ischemia miocardica, in questo caso invece, dove abbiamo una depressione della funzionalità indotta da farmaci (es. Calcio Antagonisti) e non da fenomeni ischemici, l'aumento del calcio citosolico potrebbe apportare un beneficio (Turner-Lawrence & Kerns II 2008; Fettiplace & Weinberg 2018).

In letteratura, però, sono presenti pubblicazioni che dimostrano che gli FFA inibiscono i flussi di ioni attraverso i canali cardiaci di calcio. L'efficacia dell'emulsione lipidica nella sua azione contro i tossici sembra dover essere attribuita, quindi, a un approccio multimodale (Figura 10), di cui non sono ancora chiare tutte le componenti. Considerando tutti i principi attivi per cui è stato proposto il trattamento con ILE, che presentano diverse proprietà chimico-fisiche e farmacocinetiche, è difficile che esista un meccanismo d'azione predominante o che tutti i meccanismi proposti siano efficaci allo stesso modo in tutti i casi (Damitz & Chauhan 2015).

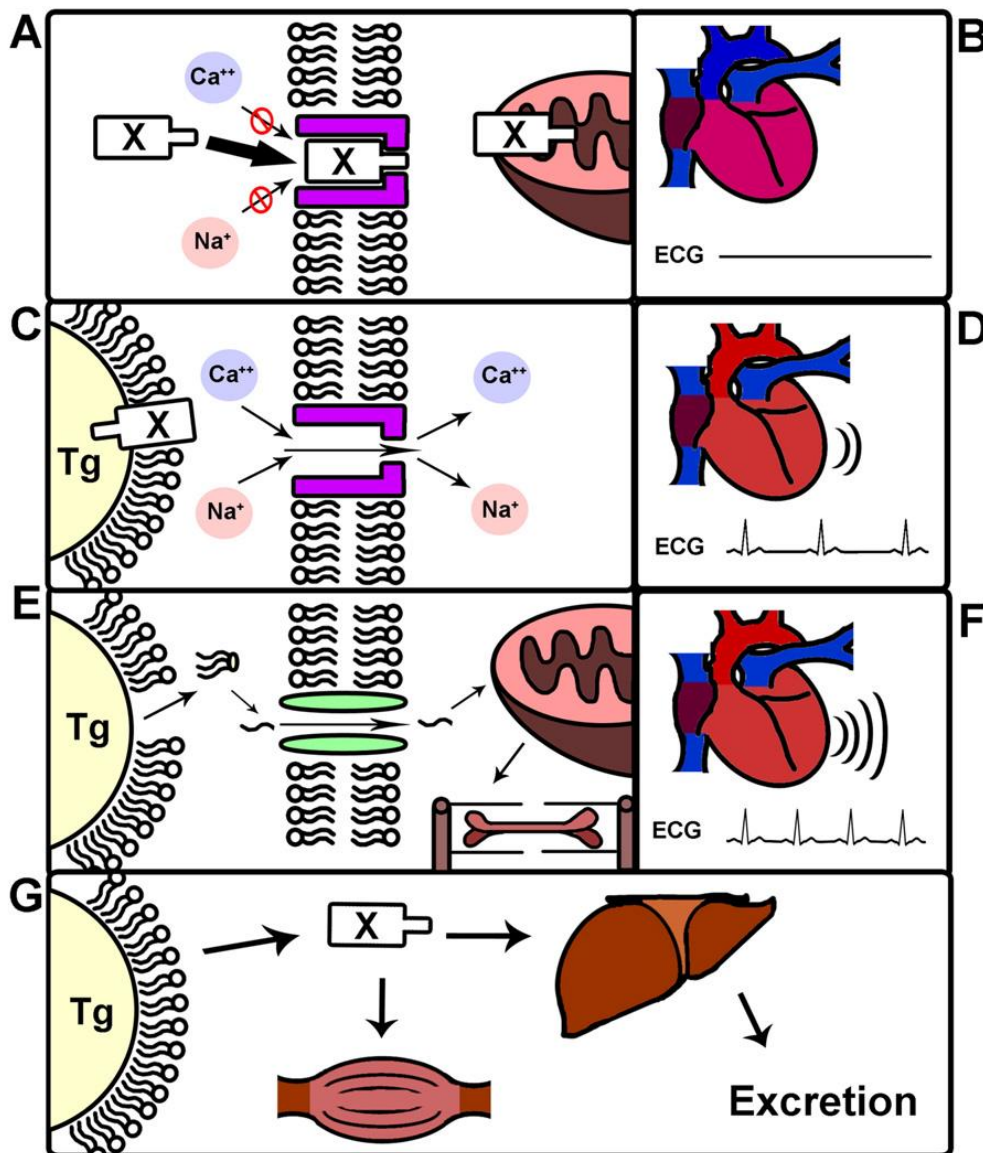


Figura 10: Rappresentazione schematica di come l'emulsione lipidica può contrastare gli effetti di un'intossicazione acuta. A) Un principio attivo X può causare tossicità in vari modi, ad esempio può bloccare i canali ionici cellulari impedendo la depolarizzazione e quindi la funzionalità dei tessuti cardiaci e nervosi, oppure può interferire con la produzione di energia da parte dei mitocondri. B) La tossicità acuta può rapidamente portare ad asistole e a un collasso cardio-circolatorio. C) La miniemulsione di trigliceridi (Tg) può richiamare il tossico fuori dal tessuto, riducendo (o annullando) il suo effetto. D) Sotto un livello soglia di concentrazione della tossina, la funzionalità cardiaca si ripristina. E) Inoltre, i trigliceridi dell'emulsione possono essere metabolizzati e fornire un substrato energetico per la produzione di ATP, migliorando le prestazioni cardiache. F) In questo modo la funzionalità cardiovascolare viene aumentata ulteriormente rispetto al solo effetto del "lipid sink". G) Il tossico viene quindi redistribuito a muscolo scheletrico e fegato, dove è coniugato per permetterne l'escrezione dall'organismo. (M. Fettiplace et al. 2015b).



Recenti studi che hanno utilizzato esperimenti in vivo, in vitro e con modelli elaborati al computer dimostrano che il solo effetto del lipid sink non è sufficiente per supportare il notevole ed immediato miglioramento clinico ottenuto nei pazienti intossicati. Si suppone, infatti, che l'effetto cardiotonico dato dagli acidi grassi sarebbe essenziale per ottenere il recupero del paziente (M. Fettiplace et al. 2015b; Fettiplace et al. 2014; Kuo & Akpa 2013)

Un recente studio dimostra la capacità cardioprotettiva dell'ILE in relazione al danno da riperfusione post-ischemico; sembra infatti che l'emulsione lipidica riduca la permeabilità dei pori mitocondriali, e quindi l'apoptosi delle cellule miocardiche, in conseguenza a un danno ischemico (Rahman et al. 2011). Sempre nel 2011 è stato pubblicato uno studio in vitro che dimostra la capacità dell'emulsione lipidica di contrastare la vasodilatazione indotta da levo-bupivacaina; i meccanismi d'azione principali ipotizzati sono l'attenuazione dell'effetto della l-bupivacaina sui canali di tipo L calcio-dipendenti e l'inibizione del rilascio di ossido nitrico indotto dalla l-bupivacaina (Ok et al. 2011).

Teorie alternative a quelle principali vengono costantemente proposte, ma ancora nessuno ha definito l'esatto meccanismo d'azione dell'ILE e gli studi pubblicati, spesso, presentano pareri contrastanti tra di loro. Nel 2017 sono state pubblicate due revisioni sistematiche che analizzano l'evidenza scientifica sull'utilizzo dell'ILE sia in corso di intossicazioni da anestetici locali, sia da agenti tossici non riferibili ad anestetici locali. L'ILE sembra apportare dei benefici, soprattutto dal punto di vista cardiovascolare e neurologico, nelle intossicazioni da anestetici locali (Hoegberg, Bania, Lavergne, Bailey, Turgeon, Thomas, Morris, Miller-nesbitt, et al. 2016). Viceversa, non sono ancora soddisfacenti le evidenze scientifiche per quanto riguarda l'utilizzo dell'ILE in corso di intossicazioni da agenti di altra natura rispetto agli anestetici locali (Levine, Robert S Hoffman, et al. 2016; Robben & Dijkman 2017). Una recente meta-analisi ha evidenziato ulteriormente l'efficacia delle emulsioni lipidiche nel trattamento dei sovradosaggi da anestetici locali (Fettiplace & McCabe 2017).

## 2.5 Reazioni Avverse, Linee Guida e Dosaggi

Come già esposto in precedenza, le emulsioni lipidiche sono state usate per lungo tempo come mezzo per la nutrizione parenterale, ci sono quindi molti studi sui loro effetti collaterali, i quali però risultano molto rari nell'utilizzo a breve termine. Le complicazioni principali riportate in letteratura si limitano ad errori analitici sui test ematici (dovuti alla lipemia sierica), reazioni anafilattiche, iperlipidemia, patologie respiratorie (ad esempio ARDS, *acute respiratory distress syndrome*), pancreatiti acute e la sindrome da sovraccarico lipidico (FOS, *fat overload syndrome*), che induce epatosplenomegalia, sindrome itterica, crisi convulsive, emboli lipidici e coagulopatie (Sebe et al. 2015).

Valutando gli effetti indesiderati si deve considerare che la somministrazione di emulsioni lipidiche può interferire con i test di laboratorio. L'emoglobina totale e la metaemoglobina risulteranno falsamente aumentate per l'interferenza dell'ILE con la misurazione spettrofotometrica. Allo stesso modo, ad esempio, la misurazione di elettroliti, eccesso di basi (BE, *base excess*) ed emoglobina non sono state possibili in un recente *case report* di intossicazione da bupivacaina (Wong et al. 2010). Di conseguenza, l'impossibilità di ottenere risultati di laboratorio (anche per diverse ore) inficia la capacità del medico di fornire un adeguato livello di assistenza e di cure al paziente (Ozcan & Weinberg 2012; Levine et al. 2014; Petersen et al. 2018). L'interferenza con le analisi di laboratorio è legata alla lipemia dei pazienti. Le lipoproteine all'interno del plasma possono alterare le misurazioni mediante interazioni chimico-fisiche, questo avviene soprattutto nel metodo elettroforetico, dove, in campioni lipemici, si è notata un'anormale morfologia della frazione  $\alpha_2$ -globulina. Inoltre, bisogna considerare che le lipoproteine possono interferire con la reazione antigene-anticorpo, mediante il legame con i siti sugli anticorpi. Le particelle di lipoproteine nel campione possono assorbire la luce, causando interferenze con i metodi spettrofotometrici, come abbiamo già detto per

emoglobina e metaemoglobina, ma questo vale anche per ALT (alanina-aminotransferasi), AST (aspartato-aminotransferasi), glucosio, ecc. La stratificazione delle molecole all'interno del campione avviene per densità, i lipidi si troveranno quindi nella parte più alta della provetta. Molti analizzatori prelevano il campione dalla porzione superiore della provetta e questo può portare a una falsa ridotta concentrazione degli analiti idrosolubili (elettroliti e molti metaboliti), viceversa per quelli apolari. Infine la lipemia provoca un'alterazione dei rapporti volumetrici nel sangue, ovvero, il plasma normalmente è costituito dal 92% di acqua e dall'8% di lipidi, in un campione lipemico la quota della fase lipidica può raggiungere livelli pari al 25%. Quindi, i metodi che misurano la concentrazione degli elettroliti nel volume totale plasmatico (includendo quindi anche la fase lipidica), daranno come risultato una falsa ridotta concentrazione di elettroliti (Nikolac 2014; Petersen et al. 2018; Johnson-Arbor et al. 2015). L'entità dell'interferenza della lipemia con i risultati di laboratorio dipende dal tipo di reagenti, di metodi e dal tipo di strumenti analizzatori utilizzati. È importante che il clinico sia a conoscenza di queste alterazioni di laboratorio, in quanto potrebbero condurlo ad errori nella valutazione del paziente e quindi a una terapia non adeguata. L'ideale sarebbe, se possibile, prelevare i campioni per le analisi prima di somministrare la terapia con ILE nei pazienti intossicati e, altrimenti, valutare i risultati di laboratorio alla luce di queste considerazioni sulle alterazioni analitiche (Grunbaum et al. 2015; Petersen et al. 2018).

Un altro effetto indesiderato è l'impatto dell'ILE sul sistema immunitario mediante diversi meccanismi, quali l'alterazione della fluidità delle membrane cellulari, la produzione di mediatori bioattivi e segnali cellulari, la modificazione dell'espressione dei geni e la modulazione della via apoptotica (Wanten & Calder 2007). Uno studio del 2006, su 11 volontari, dimostra che l'infusione di 500 ml di un'emulsione lipidica a base di soia diminuisce la proliferazione linfocitaria e provoca necrosi e apoptosi delle popolazioni neutrofiliche e linfocitiche della linea

bianca, aumentando la suscettibilità dei pazienti alle infezioni (Cury-Boaventura et al. 2006).

Il rischio di formazione di tromboflebiti durante la somministrazione di emulsioni lipidiche con accessi periferici è spesso riportato nei casi di nutrizione parenterale. Tuttavia l'utilizzo nei casi di intossicazione, richiede una durata di infusione nettamente inferiore e, quindi, un pericolo fortemente ridotto. Inoltre, uno studio dimostra che l'infusione di emulsioni di trigliceridi a lunga catena, rispetto a quelli misti a lunga e media catena, comporta un'incidenza molto inferiore (17,5% rispetto che al 44,4%) di tromboflebiti, valutando un periodo di infusione di 10 giorni (Smirniotis et al. 1999).

In uno studio sulla DL<sub>50</sub> dell'ILE nei ratti, le analisi di laboratorio dei soggetti hanno evidenziano un'ipetrigliceridemia subito dopo l'infusione, che è rientrata nei limiti della norma entro 48 ore. Ulteriori anomalie agli esami ematici erano un aumento di amilasi, AST (aspartato-aminotransferasi) e dell'azotemia, a tutti i dosaggi di ILE utilizzati (20, 40, 60 e 80 ml/Kg). La valutazione istologica di miocardio, encefalo, pancreas e reni risultava nella norma; anomalie microscopiche sono state invece riscontrate in polmoni e fegato, ma solo ai dosaggi più elevati (60 e 80 ml/Kg) (Hiller et al. 2010). Rari sono i casi clinici riportati di effetti collaterali conseguenti al trattamento con emulsioni lipidiche contro le intossicazioni. Ad esempio, Marwick *et al.* descrivono, dopo l'utilizzo di ILE per il trattamento di un'asistolia dovuta a un'iniezione di bupivacaina per un'anestesia locale, l'aumento di amilasi sieriche ricollegabile ad un danno pancreatico acuto, ma senza ulteriori segni clinici; la pancreatite infatti può conseguire a una forte iperlipidemia, presente, seppur temporanea, nel trattamento con ILE (Marwick et al. 2009). In veterinaria solo tre episodi di effetti collaterali sono riportati in letteratura: in uno studio randomizzato sull'efficacia dell'emulsione lipidica nel trattamento dell'intossicazione da permetrina, uno dei 20 gatti trattati con ILE ha mostrato segni di prurito sul lato destro della faccia 10 ore dopo il termine dell'infusione lipidica, trattato con clorfeniramina il sintomo è regredito dopo 8 ore (Peacock et al. 2015); in una serie

di 6 casi del 2015, un cane intossicato da ivermectina e trattato con emulsione lipidica, pur avendo risposto bene alla terapia, ha presentato un rigonfiamento caldo e doloroso a livello di catetere venoso, a causa dello stravasamento di emulsione lipidica, risolto in un giorno con bendaggi e cure conservative (Bates et al. 2013); un recente caso clinico di un gatto intossicato da permetrina ed efficacemente trattato con emulsione lipidica ad alti dosaggi (per un totale di 31,5 ml/Kg in due ore), ha presentato una severa lipemia per 48 dopo il trattamento e la presenza di una lesione corneale centrale, simmetrica, bilaterale, bianca ed opaca, identificata come lipidosi corneale, dopo 48 dall'infusione lipidica, risoltasi in una settimana senza conseguenze (Seitz & Burkitt-Creedon 2016).

Comunque, gli effetti collaterali dell'ILE riportati per la somministrazione a lungo termine nella nutrizione parenterale sono molto più improbabili in una somministrazione come quella richiesta per le intossicazioni, cioè con piccoli boli e una breve infusione (Ozcan & Weinberg 2012).

Come abbiamo già precedentemente visto, il trattamento con ILE nelle intossicazioni per via enterica potrebbe essere controproducente; infatti, se consideriamo che il suo meccanismo d'azione agisce principalmente mediante la redistribuzione dei tossici dai tessuti *target* ai tessuti escretori (effetto recentemente denominato *lipid shuttle*), in questi casi questo effetto potrebbe, teoricamente, aumentare l'assorbimento del tossico lipofilo dal tratto gastroenterico e provocare un aumento di concentrazione del principio attivo prima a livello di organi *target* rispetto che ai siti di stoccaggio o detossificazione (Fettiplace & Weinberg 2015; Forsberg et al. 2016). Questo effetto collaterale della terapia con emulsione lipidica è stato riscontrato sia in uno studio pilota, in cui veniva somministrato del tiopentone per via rettale a dei ratti (Harvey et al. 2013), sia in uno studio in vivo, prendendo come modello i ratti, dove veniva somministrata amitriptilina, in questo caso per via orale (Perichon et al. 2013). In entrambi gli studi, il trattamento con ILE ha provocato un tasso di mortalità nettamente superiore rispetto a quello nei soggetti di controllo.

Recentemente è stata pubblicata una *review* sugli effetti avversi registrati dopo la rapida somministrazione di ILE (Hayes et al. 2016). È fondamentale che il clinico abbia un panorama completo della tipologia e della frequenza di questi, per valutare adeguatamente il rapporto rischio/beneficio quando decide di instaurare una terapia con emulsione lipidica. Non è chiaro se gli effetti collaterali registrati sono associabili a determinati tipi di emulsioni lipidiche o se siano indipendenti dalla loro composizione. La *review* ha mostrato come la maggior parte delle pubblicazioni riguardanti gli effetti collaterali dell'ILE provenga dai primi anni di utilizzo della stessa per la nutrizione parenterale (Hayes et al. 2016). Gli effetti collaterali sono invece notevolmente diminuiti da quando i clinici seguono le attuali linee guida per l'infusione di emulsioni lipidiche. Le linee guida definiscono un limite generale di 2 g/Kg/giorno (10 ml/kg/giorno di ILE al 20%) e un massimo di 3 g/Kg/giorno (15 ml/Kg/giorno di ILE al 20%), senza particolari precauzioni, negli adulti. La velocità di infusione non deve quindi superare gli 0,11 g/Kg/h (0,55 ml/Kg/h di ILE al 20%) con un massimo di 0,125 g/Kg/h (0,625 ml/Kg/h di ILE al 20%) (Fresenius Kabi 2013; Fresenius Kabi 2016). Nel 2010 Hiller e colleghi hanno valutato la DL<sub>50</sub> dell'ILE al 20% nei ratti, il valore approssimativo risultato dallo studio è stato di  $67,72 \pm 10,69$  ml/Kg, con una somministrazione dell'emulsione lipidica ad alta velocità e ad alti volumi (Hiller et al. 2010). Comunque, pochi effetti collaterali associati al trattamento con emulsione lipidica per le intossicazioni sono riportati nella letteratura scientifica; ma considerando che le velocità di infusione consigliate per la terapia con ILE sono superiori a quelle per la PN, la scarsità di effetti collaterali riportati può essere dovuta a un *bias* o a un inadeguato aggiornamento dei dati.

Possiamo considerare due categorie di effetti collaterali principali: quelli immediati, a breve termine, che avvengono da pochi minuti a qualche ora dalla terapia, e gli effetti ritardati, di solito associati a una terapia prolungata nel tempo, come per la nutrizione parenterale. Eccetto le reazioni allergiche, gli effetti a breve termine sembrano essere maggiormente dipendenti da dose e velocità di infusione dell'ILE. Alcuni effetti collaterali che sembrano essere evidenti nella somministrazione della

PN, ma che non sono riportati nella terapia per le intossicazioni, sono: colestasi, problemi legati al catetere endovenoso (infezioni, flebiti e trombosi), predisposizione alla sepsi e all'immunodeficienza, catatonia. Effetti collaterali che invece sono riportati nell'uso di ILE sia per la PN che per i tossici sono: ipossia, ARDS, priapismo, FOS ed emboli lipidici. Le complicazioni respiratorie, nelle loro diverse gravità e sfumature, sono ripetutamente descritte in entrambi i casi. Tuttavia i pazienti critici intossicati, specialmente quelli che vanno incontro ad arresto cardiaco, spesso sviluppano ARDS. La causa dell'ipossia dovuta alla somministrazione di ILE può essere l'aumento delle resistenze vascolari, dose e tempo dipendenti, in risposta all'aumentata sintesi di prostaglandine per l'elevata concentrazione di acidi grassi liberi, piuttosto che all'ipertrigliceridemia stessa. È impossibile stabilire quali di questi effetti siano davvero dovuti al trattamento con ILE e quali siano la naturale evoluzione della patologia primaria. Ad esempio, anche l'insufficienza renale acuta (AKI, *acute kidney injury*) nel paziente intossicato può svilupparsi per svariati motivi, come la diminuita perfusione renale conseguente allo stato di shock. Anche le complicazioni legate al tromboembolismo lipidico sono molto più frequenti associate alla PN rispetto che al trattamento per le intossicazioni. La reale incidenza di effetti avversi dovuti all'utilizzo di emulsioni lipidiche nelle intossicazioni rimane sconosciuta; gli effetti collaterali fino ad ora indagati sembrano essere prevalentemente associati alle elevate dosi e velocità di infusione (Hayes et al. 2016).

Il College Americano di Tossicologia Medica (ACMT, *American College of Medical Toxicology*) ha pubblicato nel 2016 delle linee guida per l'utilizzo dell'ILE nelle intossicazioni. Considerando che i dati pubblicati sull'argomento, al momento, sono solo aneddotici e non esistono dosaggi sostenuti da evidenza scientifica, l'ACMT considera accettabile l'utilizzo della terapia con ILE in situazioni di instabilità emodinamica, non responsiva alle misure di rianimazione standard, dovuta ad un'intossicazione da xenobiotici ad elevato grado di lipofilia. Infatti afferma che, ad oggi, non esistono requisiti di base utili per valutare l'utilizzo o meno dell'emulsione

lipidica in queste situazioni; solo il medico, sulla base del suo giudizio clinico, può scegliere se, quando e come utilizzare questa innovativa misura terapeutica. Le linee guida di base per l'utilizzo dell'ILE secondo l'ACMT sono: la somministrazione di un bolo di ILE al 20% da 1,5 ml/Kg in 2-3 minuti, se non vi è una risposta clinica si può somministrare un secondo bolo; a seguire un'infusione di ILE al 20% alla velocità di 0,25 ml/Kg/min; dopo 3 minuti di infusione continua bisogna rivalutare le condizioni cliniche del paziente e, qualora sia presente una risposta significativa alla terapia, la velocità di infusione può essere abbassata a 0,025 ml/Kg/min, mantenendo monitorato il paziente ogni 15 minuti (pressione arteriosa, frequenza cardiaca e tutti gli altri parametri emodinamici valutabili clinicamente); se le condizioni del paziente peggiorano nuovamente si può tornare alla velocità iniziale di infusione oppure, in casi di grave peggioramento, si può ripetere il bolo iniziale, senza superare la dose massima suggerita di 10 ml/Kg (American College of Medical Toxicology 2016).

I bassi dosaggi in infusione continua segnalati dall' American College of Medical Toxicology fanno riferimento ad un studio effettuato nel 2015 da Fettiplace e colleghi (M. R. Fettiplace et al. 2015). Lo studio ha come obiettivo quello di valutare un dosaggio ideale per mantenere delle concentrazioni plasmatiche di lipidi dell'1% durante le intossicazioni per via enterale. Tramite un programma matematico che permette di utilizzare un modello farmacocinetico-farmacodinamico sono stati testati i dosaggi in diversi scenari fisiologici.

Come è possibile vedere nel Grafico 1 sono stati individuati 4 diversi scenari:

- A. Viene utilizzata un velocità di metabolismo lipidico concentrazione-indipendente e un emivita di 10 minuti per i trigliceridi. Un bolo da 1.5 ml/kg, seguito da una CRI di 0.25 m/kg/min per 60 minuti determina un picco di volume durante l'infusione, per poi crollare a 0 a 30 minuti dopo l'interruzione. Questo scenario non è in grado di mantere la concentrazione plasmatica di lipidi preposta.
- B. Viene utilizzata una velocità secondo l'espressio di Michaelis-Menten associata a una costante di saturazione di 1,222 mmol/L, corrispondete a una



frazione di volume di trigliceridi dello 0.1% e una velocità di processazione di 110 mmol/L per minuto. Nel caso della somministrazione di un bolo da 1.5 ml/kg, seguito da una CRI di 0.25 m/kg/min per 60 minuti i lipidi si accumulano nel plasma durante l'infusione perché la velocità di distribuzione eccede rispetto alla clearance metabolica. Al termine dell'infusione i lipidi si riducono con un emivita di 3 ore.

- C. Si rappresenta uno scenario riconducibile a un'infusione estesa di emulsioni lipidiche. Un bolo da 1.5 ml/kg, seguito da una CRI di 0.25 m/kg/min per 300 minuti determina un aumento di concentrazione continuo.
- D. Per produrre una concentrazione dell'1% di trigliceridi è necessario somministrare un bolo da 1.5 ml/kg, seguito da un bolo da 0.25 ml/kg/min per 3 minuti e un'infusione continua per 0.025 ml/kg/min. E' possibile mantenere l'infusione fino a un massimo di 7 ore, se non si vuole superare il dosaggio massimo consigliato dal FDA di 12.5 ml/kg (M. R. Fettiplace et al. 2015).

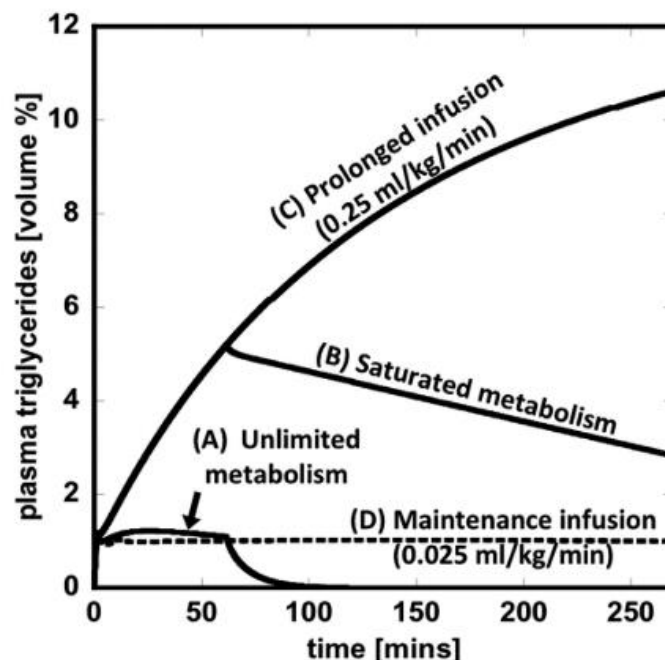


Grafico 1: Differenti tipi di scenario secondo un modello farmacocinetico-farmacodinamico (M. R. Fettiplace et al. 2015)

Gli autori concludono consigliando di utilizzare il dosaggio dello scenario D in quanto sembra quello ideale per mantenere le concentrazioni preposte, inoltre si esprimono sconsigliando la somministrazione dello scenario C. Infine, aggiungono che ulteriori studi sono richiesti per determinare quale sia il dosaggio corretto per contrastare le intossicazioni enterali da farmaci lipofili (M. R. Fettiplace et al. 2015).

Altre associazioni hanno pubblicato linee guida a riguardo, indicando dosaggi e velocità di somministrazione nettamente maggiori. Ad esempio, l'Associazione degli Anestesisti di Gran Bretagna e Irlanda (AAGBI, *Association of Anaesthetists of Great Britain & Ireland*) consiglia la somministrazione della terapia con emulsione lipidica immediatamente, insieme alle altre terapie di supporto, se il paziente è in arresto cardiocircolatorio conseguentemente alla somministrazione di farmaci anestetici locali; se il paziente invece non è in arresto, la terapia con ILE deve essere tenuta in considerazione qualora gli interventi terapeutici tradizionali non abbiano efficacia per contrastare i sintomi dell'intossicazione. I dosaggi raccomandati in questo caso sono: un bolo iniziale di ILE al 20% di 1,5 ml/Kg in 1 minuto e iniziare in contemporanea un'infusione continua (CRI, *constant rate infusion*) di ILE al 20% ad una velocità di 15 ml/Kg/h; dopo 5 minuti rivalutare il paziente e, se la situazione cardiocircolatoria non è ancora stata stabilizzata, si possono effettuare 2 ulteriori boli a distanza di 5 minuti l'uno dall'altro ed è consigliato l'aumento della velocità della infusione continua a 30 ml/Kg/h; l'infusione può essere continuata fino a quando si ottiene la stabilizzazione del paziente oppure fino alla dose massima consigliata di ILE (12 ml/Kg) (Cave et al. 2010).

Anche la Società Americana di Anestesia Loco-regionale e Medicina del Dolore (ASRA, *American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine*) ha pubblicato nel 2010 delle avvertenze pratiche per la tossicità da anestesia locale, poi aggiornate con alcune correzioni nel 2012 e nel 2017. In questo documento gli esperti affermano che l'utilizzo di ILE dovrebbe essere effettuato solo successivamente alla messa in atto di tutte le terapie di sostegno tradizionali, tuttavia, dati i recenti *case report* di medicina umana, la somministrazione di emulsione lipidica in caso di LAST

può essere presa in considerazione precocemente, subito dopo aver messo in sicurezza le vie aeree del paziente. In questo caso, i dosaggi raccomandati per la terapia con ILE al 20% sono: un bolo iniziale di 1,5 ml/Kg in un minuto seguito da una CRI di 0,25 ml/Kg/min, l'infusione deve essere portata avanti per 10 minuti dopo il raggiungimento della stabilità emodinamica del paziente; se il paziente non si stabilizza si può effettuare uno o due boli aggiuntivi e aumentare l'infusione di 0,5 ml/Kg/min. Il dosaggio massimo per la somministrazione è definito come 10 ml/Kg di emulsione lipidica nei primi 30 minuti. L'approccio più conservativo nella terapia dell'ILE, cioè aspettare fino a che tutte le altre procedure di rianimazione siano risultate inefficaci, non può essere preso in considerazione, in quanto un intervento tempestivo può evitare l'insorgere del collasso cardiovascolare. L'infusione di lipidi al primo segno di LAST può portare a un trattamento inutile poiché non tutti i pazienti sviluppano una grave tossicità. L'approccio migliore è di modulare la terapia lipidica sulla base dei sintomi clinici e della progressione della LAST (Neal et al. 2010; Neal et al. 2012).

In medicina veterinaria nel 2017 è stata pubblicata una revisione della letteratura che riconosce l'ILE come un trattamento promettente per le intossicazioni determinate da agenti tossici lipofili (Robben & Dijkman 2017). Nonostante molteplici opinioni positive, secondo gli autori risulta necessario un atteggiamento critico riguardo al suo utilizzo, in quanto al momento l'efficacia del trattamento non è garantita. Essi non escludono che in futuro il trattamento con ILE possa diventare uno standard nella pratica clinica veterinaria (Robben & Dijkman 2017).

Ad ogni modo, oggi, nonostante l'elevato numero di pubblicazioni, *review*, casi clinici riportati e studi su modelli animali, non sono ancora state pubblicate in medicina veterinaria delle linee guida ufficiali per l'utilizzo delle emulsioni lipidiche in caso di LAST o intossicazioni da altri principi attivi lipofili (Robben & Dijkman 2017; Gwaltney-Brant & Meadows 2018).

## 2.6 Utilizzo in Medicina Umana e Veterinaria

L'efficacia dell'ILE nell'utilizzo contro le intossicazioni da anestetici locali o da altre sostanze lipofile è stata ampiamente valutata in diversi studi; tuttavia vi è un'elevata eterogeneità nei diversi articoli dovuta alle diverse specie utilizzate (ratti, conigli, cani e suini), il metodo di arresto cardiaco (iniezione endovenosa di bupivacaina con o senza apnea), il tipo e il dosaggio del vasopressore (epinefrina o vasopressina), così come il dosaggio e il tempo di somministrazione dell'emulsione lipidica. Nonostante i loro limiti, questi studi hanno fatto sì che i clinici utilizzino l'ILE nei loro pazienti intossicati, quando ogni altro mezzo non ha avuto effetto sia in medicina umana (Ozcan & Weinberg 2012; Forsberg et al. 2016; Fettiplace & McCabe 2017) che in medicina veterinaria (Gwaltney-Brant & Meadows 2018).

Dopo la pubblicazione del 1998 di Weinberg, in cui la dose letale media di bupivacaina nei ratti veniva notevolmente aumentata dalla somministrazione di ILE (Weinberg et al. 1998), lo stesso autore nel 2003 pubblica un lavoro in cui dimostra l'efficacia del trattamento con ILE contro la cardiotoxicità della bupivacaina anche nel cane (Weinberg et al. 2003). Sebbene questi modelli sperimentali fossero molto interessanti per la comunità scientifica, tuttavia, non costituivano il passo in avanti fondamentale nella clinica tossicologica. La prima applicazione clinica della *lipid rescue* viene riportata in due *case report* sulla LAST nel 2006. Rosenblatt e colleghi descrivono l'insorgere di crisi epilettiche e di asistolia conseguentemente alla somministrazione di un'anestesia locale per il blocco del plesso brachiale con bupivacaina e mepivacaina. Quando il paziente non ha risposto alle procedure di rianimazione tradizionali (ACLS, *advanced cardiac life support*), sono stati somministrati 100 ml di Intralipid® 20% e si è così ottenuto il ritorno della circolazione spontanea (Rosenblatt et al. 2006). Allo stesso modo Litz e colleghi hanno riportato che dopo un'anestesia locale con ropivacaina in una donna, sono insorte crisi epilettiche e asistolia. La somministrazione di ILE, dopo il fallimento dell'ACLS tradizionale, sia come bolo, sia come infusione continua in 10 minuti, ha

portato a una formidabile ripresa emodinamica della paziente (Litz et al. 2006). Dopo questi primi casi clinici riportati, molti altri casi in cui la terapia con ILE ha avuto effetto nella rianimazione conseguente a LAST, per vari tipi di anestetici, sono stati pubblicati. Un altro passo fondamentale nel trattamento con ILE è stato fatto nel 2008, quando un paziente intossicato da bupropion e lamotrigine è stato salvato grazie all'emulsione lipidica (Sirianni et al. 2008). Da quel momento l'emulsione lipidica ha iniziato il suo percorso come antidoto e il suo utilizzo è stato esteso a un maggior numero di agenti tossici. Tuttavia, bisogna considerare che l'intossicazione da anestetici locali e quella da altre sostanze lipofile è nettamente differente; ad esempio, negli anestetici locali la somministrazione è per via parenterale (endovenosa o tramite assorbimento tissutale), viceversa l'intossicazione data dagli altri agenti lipofili avviene più spesso per via enterica, tramite un'ingestione intenzionale, o non, delle sostanze. Questo richiede differenti strategie di trattamento, per ora non ancora ben definite (Fettiplace & Weinberg 2015; Forsberg et al. 2017).

Dal 2015 l'Accademia Americana di Tossicologia Clinica (AACT, *American Academy of Clinical Toxicology*) ha formato un gruppo di lavoro in collaborazione con:

1. l'Associazione Europea dei Centri per gli Avvelenamenti e dei Tossicologi Clinici (EAPCCT, *European Association of Poison Centres and Clinical Toxicologists*),
2. l'Associazione Asiatica del Pacifico di Tossicologia Medica (APAMT, *Asia Pacific Association of Medical Toxicology*),
3. l'Associazione Canadese dei Centri di Controllo degli Avvelenamenti (CAPCC, *Canadian Association of Poison Control Centres*),
4. Il College Americano di Tossicologia Medica (ACMT, *American College of Medical Toxicology*),
5. l'Associazione Americana dei Centri di Controllo degli Avvelenamenti (AAPCC, *American Association of Poison Control Centers*),

al fine di creare delle linee guida complete, basate sull'evidenza scientifica e ufficiali per l'uso di emulsioni lipidiche nel trattamento degli intossicati (Gosselin et al. 2015). Ad oggi, da questo gruppo di lavoro, sono state pubblicate *review* in merito a: l'effetto della terapia con ILE nella LAST (Hoegberg, Bania, Lavergne, Bailey, Turgeon, Thomas, Morris, Miller-nesbitt, et al. 2016), l'effetto della terapia con ILE in intossicazioni non dovute ad anestetici locali (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016), gli effetti collaterali riportati dopo la rapida somministrazione di ILE (Hayes et al. 2016), le alterazioni di laboratorio conseguenti alla somministrazione di emulsioni lipidiche (Grunbaum et al. 2015).

### **2.6.1 Utilizzo dell'emulsione lipidica nelle intossicazioni da anestetici locali**

L'utilizzo dell'ILE nelle intossicazioni da anestetici locali (LAST), come detto in precedenza, si è sviluppato negli ultimi 10 anni in base a studi sugli animali, a *case reports* e dati meccanicistici.

Dal momento in cui le LAST sono eventi pressoché rari, dei trial clinici randomizzati sull'efficacia dell'ILE sono praticamente irrealizzabili. Nonostante la revisione della letteratura dell'AACT evidenzi una sopravvivenza del 98% con l'utilizzo dell'ILE, le conclusioni riportano che non esistono al momento abbastanza evidenze scientifiche per dimostrare una superiorità dell'ILE rispetto ai vasopressori (Hoegberg, Bania, Lavergne, Bailey, Turgeon, Thomas, Morris, Miller-nesbitt, et al. 2016).

Hoegberg e colleghi hanno valutato la presenza di casi per un totale di 83 pazienti, tra casi singoli e serie di casi riportati in letteratura, intossicati da LA (tra cui: lidocaina, bupivacaina e levo-bupivacaina, ropivacaina, mepivacaina e prilocaina), di cui solo 2 di questi hanno avuto esito negativo con il decesso dei soggetti. La terapia con ILE è molto eterogenea in questi casi, sia nella concentrazione dell'emulsione lipidica (ILE al 20% nell'86% dei casi), sia nella modalità (bolo e/o infusione continua) e nella dose di somministrazione, sia nel tipo di emulsione lipidica. Più

frequentemente la tossicità era conseguente all'uso di anestetico locale per effettuare il blocco di un nervo (83% dei casi) e sintomi di tossicità maggiori erano collegati al sistema nervoso centrale (depressione/coma, agitazione o crisi convulsive) e, in secondo luogo, vi erano i sintomi cardiocircolatori (ipotensione, ipertensione, variazioni dell'ECG, aritmie, arresto cardiaco). Nel 72% dei casi la terapia con emulsione lipidica veniva utilizzata insieme ai trattamenti tradizionali, in particolar modo dopo il fallimento di questi (42% dei casi). Frequentemente (71% dei casi) gli autori dichiarano che la terapia con ILE ha avuto un effetto positivo o è stata la causa della risoluzione dei sintomi dell'intossicazione; solo nel 5% dei casi è dichiarato espressamente che l'ILE non ha avuto alcun effetto (Hoegberg, Bania, Lavergne, Bailey, Turgeon, Thomas, Morris, Miller-Nesbitt, et al. 2016).

Infatti, la maggior parte degli studi randomizzati è stata effettuata su modelli animali, con pochi test riportati dopo il trattamento, uno scarso numero di autopsie post trattamento e in alcuni casi non è stata valutata la concentrazione dei principi attivi, prima e dopo il trattamento. Le pubblicazioni in medicina umana sono quasi esclusivamente singoli casi clinici riportati, dove spesso, l'emulsione lipidica è stata utilizzata insieme ad altri trattamenti, ed è quindi difficile, se non impossibile, valutarne l'effettiva efficacia. Un possibile beneficio dovuto al trattamento con ILE è riportato nel 71% dei *case report* umani, ma la valutazione di questo effetto positivo è spesso un'opinione estremamente soggettiva degli autori delle pubblicazioni. Tuttavia, la valutazione principale che la *review* si proponeva come obiettivo primario, era la valutazione del livello di sopravvivenza, che corrisponde al 98% dei casi; ma anche questo dato è da interpretare con cautela, in quanto il sospetto principale è che molti casi in cui l'ILE ha dato esito negativo non siano stati pubblicati. Attualmente è possibile dire che: l'emulsione lipidica potrebbe essere efficace nel trattamento delle intossicazioni da LA, ma non ci sono le basi per dichiarare che questa terapia innovativa sia più efficace di quelle tradizionali (Hoegberg, Bania, Lavergne, Bailey, Turgeon, Thomas, Morris, Miller-Nesbitt, et al. 2016).

Nonostante ciò, una recente meta analisi e una revisione sistematica della letteratura, si esprime a supporto dell'utilizzo dell'ILE nelle LAST, in combinazione con le altre manovre di rianimazione già comprovate (Fettiplace & McCabe 2017).

In questa meta analisi Fettiplace e colleghi hanno valutato 13 studi originali effettuati su modelli animali (maiali, ratti, conigli e cani) in cui veniva valutata l'efficacia dell'ILE in confronto alle manovre di rianimazione classiche.

Come è possibile vedere nel grafico 1 la meta analisi ha confrontato il rischio inteso come *odds ratio*, tra i due diversi tipi di trattamenti evidenziando che la maggior parte degli studi attualmente presenti in letteratura si pone a favore dell'utilizzo dell'ILE in corso di intossicazioni da anestetici locali (Fettiplace & McCabe 2017).

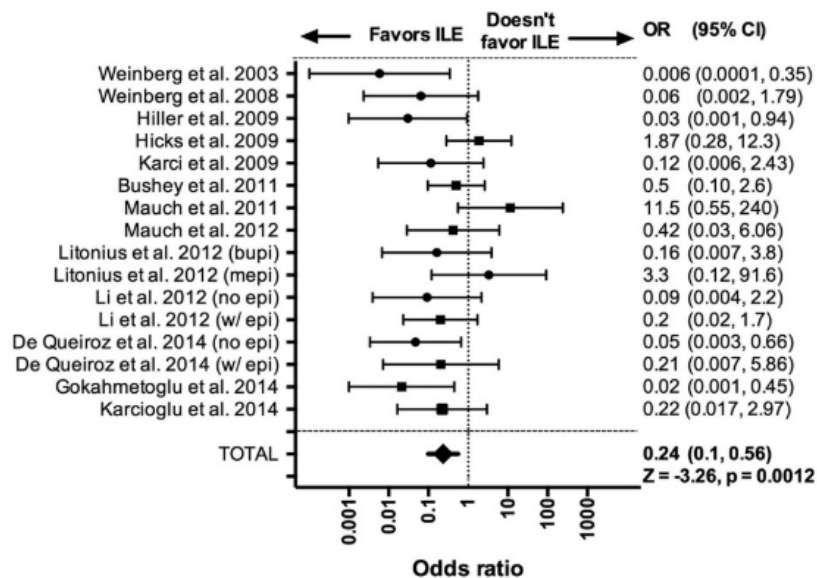


Grafico 1: Forest plot che valuta la sopravvivenza, con aggiunta dell'ILE al trattamento standard. I valori di odds ratio < 1 indicano un rischio a favore dell'ILE, invece > 1 indicano che è controindicato l'utilizzo dell'ILE. bupi: trattato con bupivacaina; mepi: trattato con mepivacaina; w/epi: comparazione con epinefrina sia nel gruppo ILE che nel gruppo controllo; no epi: nessuna comparazione con l'epinefrina nel gruppo ILE e nel gruppo controllo (Fettiplace & McCabe 2017).

Al momento, l'unico studio controllato e randomizzato, effettuato su soggetti umani, in due fasi, che valuta l'efficacia della terapia con ILE contro la tossicità degli anestetici locali, è uno studio francese pubblicato nel 2016 (Dureau et al. 2016).



La prima fase dello studio consisteva nell'abituazione dei soggetti all'effetto degli anestetici locali, mediante la somministrazione di lidocaina, tramite un'infusione continua endovenosa, i volontari familiarizzavano con gli effetti a livello di sistema nervoso centrale degli LA, chi non subiva alcuna alterazione alla dose totale di 200 mg veniva escluso dallo studio; nella seconda fase l'infusione continua era a base di ropivacaina o levobupivacaina e i soggetti venivano trattati con un bolo di ILE o di soluzione fisiologica dopo 2 minuti dall'inizio della CRI. Tutti i soggetti coinvolti venivano sottoposti a tutti e 4 i trattamenti in tempi successivi. Il primo obiettivo dell'esperimento era valutare la dose massima di LA necessaria per indurre sintomi iniziali di neurotossicità (come parestesie o inebriazione), valutati da un esaminatore in "cieco" (ovvero non a conoscenza della terapia somministrata); gli anestetici locali venivano somministrati fino a una dose massima prestabilita di 120 mg. In secondo luogo, lo studio valutava la presenza di attività epilettiche subcliniche basandosi sull'elettroencefalogramma (EEG), la durata degli intervalli di QT e QRS basandosi sull'elettrocardiogramma (ECG) e la farmacocinetica degli anestetici locali (in particolare la concentrazione massima e l'area sotto la curva nel grafico concentrazione-tempo). Dai risultati è scaturito che: non c'erano differenze significative tra la massima dose di LA ai primi segni di neurotossicità nei 2 gruppi; non è stata notata nessuna anomalia nel tracciato elettroencefalografico; un aumento del QRS era presente al termine della somministrazione di LA rispetto all'inizio, ma non vi erano differenze tra i due gruppi; differenze nella farmacocinetica erano invece presenti tra i due gruppi, il picco massimo di concentrazione del tossico, osservato al termine dell'infusione di anestetico locale, era inferiore di 26-30% nei soggetti trattati con ILE. Una simulazione cinetica dimostra che l'emulsione lipidica potrebbe prevenire il rapido aumento della concentrazione plasmatica dell'anestetico dopo una sua somministrazione extravascolare. Gli autori conclusero che da questo modello era confermata l'efficacia del *lipid sink*, ma nessuna efficacia clinica della terapia con ILE era stata osservata. I principali problemi di questo modello sono un basso numero di soggetti

coinvolti e la difficile sovrapposizione con un evento clinico reale di intossicazione da LA (Dureau, Charbit, et al. 2014; Dureau, Mazoit, et al. 2014; Dureau et al. 2016).

### **2.6.2 Utilizzo dell'emulsione lipidica nelle intossicazioni da altri agenti tossici (non anestetici locali)**

L'attuale evidenza scientifica per l'utilizzo di ILE nelle intossicazioni da vari agenti lipofili è molto scarsa, l'effetto in questi casi, infatti, è notevolmente eterogeneo all'interno delle pubblicazioni scientifiche. La *review* dell'AACT ne riporta l'uso in almeno 65 diverse sostanze, ma, in molti dei casi clinici riportati, i dati forniti sono insufficienti per definirne l'efficacia (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016).

In medicina umana sono riportati tre esperimenti controllati e randomizzati. Uno esamina la capacità dell'emulsione lipidica di risvegliare dei pazienti dal coma, dopo un'*overdose* di farmaci. I 30 pazienti sono stati randomizzati per ricevere le cure tradizionali con o senza l'aggiunta della terapia con ILE. I farmaci studiati erano vari: benzodiazepine, antidepressivi triciclici, anticonvulsivanti, anticolinergici, antistaminici, miorilassanti, inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina, antipsicotici, acetaminofene, anti-infiammatori non steroidei, salicilati e oppioidi. Gli autori dichiarano che la somministrazione lipidica è risultata statisticamente e clinicamente più efficace rispetto al gruppo di controllo e ne consigliano l'utilizzo in tutti i casi di tossicità da sovraddosaggio da farmaci lipofili (Taftachi et al. 2012). Tuttavia in questo studio non sono riportati molti dati clinici e alcune metodologie (come i calcoli statistici) sono imprecise; queste limitazioni precludono la corretta interpretazione dei risultati (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016). Un altro studio randomizzato ha valutato l'efficacia dell'ILE nelle intossicazioni da antidepressivi triciclici, tuttavia questo studio è stato presentato solo al VII Congresso di Medicina d'Urgenza del Mediterraneo; è quindi presente solo in forma di *abstract*, senza dati riportati e dettagli sull'esperimento, ciò preclude una sua utilità ai fini della valutazione dell'evidenza scientifica (Kasnavieh et al. 2013). L'ultimo studio randomizzato valuta la capacità dell'emulsione lipidica di ridurre i tempi e migliorare

il risveglio dall'anestesia gassosa con isofluorano. I pazienti inclusi nello studio venivano sottoposti ad anestesia generale con isofluorano per una colecistectomia per via laparoscopica. Al termine dell'operazione, l'anestesia gassosa veniva interrotta e, ad ogni soggetto, venivano somministrati 2 ml/Kg di ILE al 30% o di soluzione fisiologica. Il gruppo trattato con emulsione lipidica mostrava un tempo di apertura degli occhi e uscita dalla sala chirurgica significativamente inferiore (circa 4 minuti in meno), invece la differenza tra i tempi di estubazione non era statisticamente significativa. Anche la qualità di risveglio, secondo diverse scale di valutazione, era migliore nel gruppo ILE (Li et al. 2014). Un articolo del 2013 descrive uno studio osservazionale riguardante l'efficacia dell'emulsione lipidica nei soggetti intossicati da glifosato surfattante (un erbicida molto comune). I risultati dimostrano che nel gruppo trattato con emulsione lipidica nessuno dei soggetti ha mostrato ipotensione, aritmie, danno renale acuto, crisi epilettiche e decesso, al contrario dei soggetti nel gruppo di controllo. Differenze statisticamente significative si sono riscontrate soprattutto tra i dati emodinamici (ipotensione e aritmie), notevolmente migliori nel gruppo dell'emulsione lipidica, sebbene il glifosato surfattante presenti un log D pari a -6,66. Tuttavia, il gruppo di controllo è stato scelto tra una serie di casi retrospettivi, per ottenere due gruppi bilanciati per quanto riguarda le caratteristiche cliniche e il tipo di intossicazione (quantità di glifosato, tempo prima della presentazione all'Unità di Pronto Soccorso) e questo può essere considerato un *bias* dello studio (Gil et al. 2013).

Levine e colleghi nel 2016 includono 137 articoli tra singoli casi e serie di casi clinici in un'unica *review*. Nelle serie di casi i tossici coinvolti sono molteplici e le principali valutazioni fatte riguardano: la sopravvivenza, il miglioramento di parametri emodinamici o dei sintomi del sistema nervoso centrale (SNC), effetti collaterali dovuti all'emulsione lipidica, ecc. I risultati sono estremamente eterogenei, in alcuni casi l'ILE porta a un drastico miglioramento dei pazienti (Cave et al. 2014), in altri casi le complicazioni sono maggiori degli effetti positivi (Geib et al. 2012), così come eterogenei sono anche la farmacocinetica dei diversi tossici, la dose e il tipo di

emulsione lipidica utilizzata e le caratteristiche cliniche dei pazienti (dati anagrafici e sintomi clinici).

Le pubblicazioni riguardanti animali, incluse nella suddetta *review*, comprendono invece 40 studi controllati randomizzati, in cui la classe di farmaci più studiata sono gli antidepressanti triciclici (TCA, *tricyclic antidepressant*), e 22 tra casi singoli e serie di casi clinici, in cui invece i farmaci più rappresentati sono l'ivermectina e le permetrine (Tabella 1). (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016)

Classe di farmaci	Farmaci	Studi (N)	Casi clinici riportati (N)	Totale degli animali (N)
<b>Antiarritmici</b>	Flecainide	1	0	20
<b>Beta-bloccanti</b>	Metoprololo	1	0	20
	Propranololo	2	0	34
	Atenololo	1	0	20
	Propranololo/ Clonidina	1	0	36-48
<b>Bloccanti del canale del calcio</b>	Diltiazem	0	1	1
	Nifedipina	2	0	25
	Verapamil	4	0	133
<b>Insetticidi/ Anti-parassitari</b>	Avermectina	0	1	1
	Clorpirifos	1	0	49
	Diazinon	1	0	24
	Diclorvos	1	0	48
	Ivermectina	0	7	17
	Ivermectina	0	1	1
	Praziquantel			
	Moxidectina + Praziquantel	0	3	4
	Paration	1	0	18
	Permetrina	0	5	11
	Malation	3	0	120

<b>GABA agonisti</b>	Baclofen	0	3	8
	Pentobarbitale	1	0	NR
	Propofol	1	0	NR
	Tiopentale	3	0	55
<b>Varie sostanze</b>	Dabigatran	1	0	20
	Digossina	1	0	15
	Difenidramina	1	0	36
	Etomidato	1	1	40
	Ibuprofene	0	1	1
	Aloperidolo	1	0	30
	Fenitoina	1	0	20
	Tramadolo	1	0	30
<b>Anti-depressivi Triciclici</b>	Amitriptilina	4	0	94
	Clomipramina	5	0	109
	Desipramina	1	0	56
<b>Totale</b>		41	23	1060

Tabella 1: Sommario dei dati sugli animali in cui l'ILE è stato utilizzato in caso di tossicità acuta. NR: non riportato. Da: (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016) modificato

L'emulsione lipidica è stata utilizzata in varie classi di farmaci, con diversi risultati. Alcuni casi ne riportano l'uso per le intossicazioni da antiaritmici, soprattutto flecainide e propafenone, ma anche acebutalolo e aimalina. In quasi tutti questi articoli gli autori riportano un miglioramento conseguente alla somministrazione di ILE. Solo uno studio sperimentale sui conigli valuta l'efficacia dell'emulsione lipidica in questa classe di farmaci (utilizzando la flecainide). Lo studio non riporta differenze emodinamiche tra il gruppo ILE e quello di controllo, trattato con bicarbonato di sodio (Cave et al. 2013). Bisogna però specificare che il log D del flecainide è 0,55, sotto la soglia quindi della lipofilia effettiva.

Per quanto riguarda la classe degli anticoagulanti non ci sono casi di medicina umana riportati, ma solo uno studio sperimentale sul ratto in cui il dabigatran veniva somministrato per via orale. Anche in questo caso i risultati mostrano che non vi

sono differenze tra il gruppo trattato e il gruppo di controllo. Tuttavia, in questo studio il farmaco lipofilo veniva somministrato per via orale e subito successivamente veniva iniziata la terapia con 15 ml/Kg di ILE o fisiologica (Blum et al. 2013). Come abbiamo già detto, però, uno degli effetti avversi dell'emulsione lipidica in caso di intossicazione per via orale, può essere un maggiore assorbimento del tossico a livello della mucosa gastroenterica, se l'ILE viene somministrato molto precocemente rispetto all'intossicazione stessa, comportando quindi il deterioramento dei sintomi clinici (Fettiplace & Weinberg 2015).

Ci sono alcuni casi clinici di umana in cui è riportato l'uso di emulsione lipidica in caso di overdose da antiepilettici, in particolare lamotrigine e carbamazepina (in due casi il lamotrigine era associato a bupropion o venlafaxina e diazepam). Su 9 casi clinici, solo in 4 è espressamente dichiarato un miglioramento attribuibile alla terapia con ILE. Tuttavia 6 casi su 9 presentano un'intossicazione da lamotrigine, farmaco con un log D di -0,19, definito quindi come sostanza tendenzialmente idrofila (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016). Solo un esperimento su modello animale valuta l'efficacia della terapia con emulsione lipidica nell'intossicazione da fenitoina nei ratti. Nessuna differenza è riportata tra i valori emodinamici e il numero di animali sopravvissuti dopo 1 ora nei due gruppi di studio (Chu et al. 2011).

I casi riportati di intossicazione da erbicidi, pesticidi, antielmintici ed insetticidi in umana, trattati con ILE, sono pochi e comprendono intossicazioni da glifosato (di cui è presente anche uno studio osservazionale, come già illustrato), paration e endosulfan. Diversi esperimenti su modelli animali (principalmente su ratti) valutano l'efficacia di ILE nelle intossicazioni da diclorvos, paration, malation, diazinon e clorpirifos, mostrando quasi sempre un miglioramento dei parametri clinici nel gruppo trattato con ILE. Numerosi sono i singoli casi clinici, o le serie, riportati nella medicina veterinaria di pazienti trattati con emulsione lipidica conseguentemente a un'intossicazione da questa classe di sostanze lipofile. Nei gatti il tossico più frequente è la permetrina e in tutti i casi riportati l'ILE ha mostrato una grande efficacia, riducendo precocemente i sintomi neurologici associati

all'intossicazione e favorendo quindi una più rapida dimissione (associata a costi inferiori e quindi a una ridotta richiesta di eutanasia da parte del proprietario) (DeGroot 2014; Kuo & Odunayo 2013; Muentener et al. 2013; Brückner et al. 2012; Haworth & Smart 2012). I cani, invece, sono più frequentemente soggetti a tossicosi in seguito alla somministrazione di ivermectina e moxidectina. Anche in questi casi la terapia con emulsione lipidica ha portato a straordinari miglioramenti delle condizioni cliniche dei pazienti, anche in situazioni gravi (Epstein & Hollingsworth 2013; Bates et al. 2013; Clarke et al. 2011; Crandell & Weinberg 2009; Gwaltney-Brant & Meadows 2018). Unica eccezione sono una serie di casi riportati in un articolo del 2011; questi tre cani, con intossicazione da ivermectina, non hanno tratto giovamento dalla terapia con ILE. I soggetti di questo articolo sono cani con omozigosi per il gene ABCB1-1 $\Delta$  mutato, che hanno mostrato gravi segni neurologici (tremori, ptialismo, depressione) fino allo stato stuporoso o comatoso (quest'ultimo in un solo animale). La somministrazione dell'emulsione lipidica non ha portato ad alcun segno di miglioramento nei 3 pazienti (dimessi dopo 27, 12 e 10 giorni di ospedalizzazione); l'unico effetto collaterale riportato è stata la persistenza di lipemia per 36 ore in uno dei tre casi. Un'ipotesi dell'autore è che l'ILE sia stato inefficace poiché la concentrazione di tossico a livello di SNC, a causa della mutazione, era già troppo elevata al momento della terapia e quindi l'emulsione lipidica abbia avuto meno effetto. La misurazione frequente della concentrazione di ivermectina sierica in questi pazienti, ha consentito di constatare che il miglioramento clinico degli animali non è correlato alla quantità di ivermectina misurata e che anche in caso di grande diminuzione del tossico nel sangue non sono stati riscontrati altrettanto importanti miglioramenti clinici (Wright et al. 2011). Un'intossicazione da ivermectina trattata con successo grazie all'emulsione lipidica è stata riportata anche in un cavallo (Bruenisholz et al. 2012).

Nel 2018 è stata pubblicata una serie di casi (53 cani) sottoposti a trattamento con emulsioni lipidiche endovenose in seguito ad intossicazioni da micotossine (Kormpou et al. 2018). I pazienti intossicati da micotossine si presentavano con

sintomi neuromuscolari e gastroenterici e solitamente, con la sola terapia di supporto, i tempi di risoluzione variano tra le 24 e le 96 ore. In questo studio il 96% dei casi trattati con ILE, congiuntamente alle terapie di supporto, ha ottenuto un miglioramento clinico in una media di 4 ore (Kormpou et al. 2018).

Nella *review* di Levine e colleghi sono riportati vari articoli sull'utilizzo dell'ILE per intossicazioni da farmaci del cuore. In particolare ci sono 21 articoli di umana riguardanti il trattamento di intossicazioni da farmaci beta-bloccanti (acebutololo, atenololo, carvedilolo, labetalolo, metoprololo, nebivololo, propranololo, ecc), che sono sostanze spesso scarsamente lipofile. In 12 casi gli autori riportano un effetto positivo dell'emulsione lipidica. Diversi studi su modelli animali valutano l'efficacia dell'emulsione lipidica contro le intossicazioni da farmaci beta-bloccanti, in particolare propranololo, atenololo e metoprololo; la maggior parte di questi riporta che nessuna differenza era presente tra i valori emodinamici del gruppo trattato e il gruppo di controllo. 42 sono gli articoli sui casi di intossicazione da calcio-antagonisti (amlodipina, diltiazem, felodipina, verapamil, ecc), di cui circa la metà non ha riportato alcun effetto positivo dopo la somministrazione di emulsione lipidica. La maggior parte degli studi su modelli animali riguardanti le intossicazioni da calcio-antagonisti ha valutato come tossico il verapamil, dimostrando l'efficacia dell'ILE. Due studi, uno sui ratti e uno sui suini, hanno invece riportato l'inefficacia dell'emulsione lipidica nel trattamento dell'intossicazione da nifedipina (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016). Un caso clinico descrive l'ingestione di una dose, superiore alla  $DL_{50}$  nei cani, di diltiazem in un volpino di Pomerania. I gravi sintomi mostrati, tra cui ipotensione (fino a un minimo di 84/46 mmHg) e bradicardia (fino a 35 battiti/min) con fasi di arresto atriale, non si sono risolti con i trattamenti tradizionali, l'uso di insulina ad alti dosaggi ed emulsione lipidica endovenosa ha invece portato ad un rapido miglioramento delle condizioni cliniche del paziente, che è sopravvissuto alla dimissione, avvenuta 45 ore dopo il ricovero, senza ripercussioni (Maton et al. 2013).



Sporadici casi umani di intossicazione da difenidramina trattata con ILE sono stati pubblicati; nella maggior parte gli autori riportano un miglioramento delle condizioni cliniche del paziente. Solo un esperimento è stato effettuato su questo farmaco, ma i risultati indicano che i lievi miglioramenti ottenuti con l'emulsione lipidica non sono statisticamente significativi (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016).

Per quanto riguarda i GABA agonisti, sono riportati in letteratura due casi clinici (baclofen e pentobarbitale) e solo uno studio randomizzato in umana. Quest'ultimo, di cui abbiamo già parlato, valuta la capacità dell'emulsione lipidica di velocizzare e migliorare il risveglio dall'anestesia gassosa; tuttavia resta incerta l'utilità di questi dati, per l'utilizzo dell'ILE nelle intossicazioni classiche. Pochi studi su modelli animali valutano l'efficacia dell'emulsione lipidica in questa classe di farmaci, il più frequentemente indagato è il tiopentale, altri sono il pentobarbitale e l'etomidato. In alcuni casi clinici veterinari sono riportate intossicazioni da baclofen trattate con successo grazie alla terapia con ILE (Bates et al. 2013; Khorzad et al. 2012).

L'intossicazione da antidepressivi triciclici è stata valutata in uno studio randomizzato presente solo come atto congressuale, di cui abbiamo già parlato. I casi clinici riportati in umana sono 22 e includono tra i principi attivi: amitriptilina, dotiepin, dosulepin, doxepin e imipramina; nessuno dei pazienti intossicati è deceduto, solo in 4 casi non è riportato un effetto positivo dell'ILE sulle condizioni cliniche. Numerosi esperimenti su modelli animali riguardando i TCA; l'amitriptilina e la clomipramina sono le sostanze più studiate; uno studio sui suini valuta anche la tossicità della desipramina. Gli articoli sulla clomipramina sono quelli in cui la terapia con ILE ha il maggior successo, sia per quanto riguarda la clinica (maggior sopravvivenza e miglioramento dei valori emodinamici) sia l'efficacia del *lipid sink* (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016).

Levine e colleghi riportano 21 casi e uno studio retrospettivo sull'efficacia dell'emulsione lipidica nell'intossicazione da antidepressivi non ciclici (Levine,

Robert S. Hoffman, et al. 2016). Lo studio retrospettivo valuta 6 casi di sovradosaggio di quietapina in cui l'ILE sembra non aver alcun effetto positivo (Downes et al. 2014). Le principali sostanze riportate nei singoli casi clinici sono: bupropion, citalopram, aloperidolo, olanzapina, quietapina, sertralina, escitalopram, venlafaxina, zopiclone, ecc. In quasi tutti i casi, l'emulsione lipidica ha avuto effetto nel migliorare i segni clinici dell'intossicazione. (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016) Un solo studio sulla neurotossicità dell'aloferidolo nel coniglio ha valutato l'efficacia dell'ILE; l'emulsione lipidica si è dimostrata in grado di ridurre la neurotossicità da aloferidolo, in particolare contrastando lo stato catalettico, la miiosi e l'ipotermia indotte dal tossico. Tuttavia, nel gruppo che riceveva il farmaco antipsicotico e ILE ad altro dosaggio (18 ml/Kg), le alterazioni biochimiche e il tasso di mortalità sono risultati significativamente più elevati rispetto agli altri gruppi. (Moshiri et al. 2014)

La terapia con emulsione lipidica endovenosa, nella pratica clinica umana, è stata usata sporadicamente nell'intossicazione da altri vari tossici, più o meno lipofili, tra cui: bromadiolone, caffeina, cloroquina, cocaina (4 casi), idrocarbure, metoformina, ecc. In circa la metà dei casi riportati l'ILE non ha avuto effetto. Due studi su modelli animali hanno evidenziato la sua efficacia contro la tossicità da digossina e da tramadolo (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016). Un caso clinico veterinario riporta il successo della terapia con ILE in un cane intossicato da ibuprofene (Bolfer et al. 2014). Un articolo descrive il trattamento con emulsione lipidica in un branco di capre intossicate da pieris, un arbusto sempreverde che contiene glicanotossine cardiotoxiche; 3 delle 8 capre intossicate sono state trattate con ILE. Tra i soggetti non trattati 2 sono morti, del gruppo degli animali trattati solo uno è morto dopo una settimana, a causa di una polmonite *ab ingestis* (Bischoff et al. 2014).

Le conclusioni della *review* di Levine e colleghi affermano che la qualità dell'evidenza scientifica nell'uso dell'emulsione lipidica endovenosa in caso di intossicazioni da farmaci lipofili, diversi dagli anestetici locali, è molto scarsa, in quanto si basa principalmente su singoli casi clinici riportati. Inoltre nei casi clinici spesso la terapia

con ILE si affianca ad altre terapie di supporto tradizionali, impedendo di valutare l'effettiva efficacia dell'emulsione lipidica. La terapia stessa è effettuata con diverse modalità, diverse concentrazioni dell'emulsione, diversi dosaggi, diversi tempi e metodi di somministrazione, comportando una grande variabilità da caso a caso. In molti dei casi, però, gli autori, percepiscono la risoluzione della tossicità come conseguenza della somministrazione dell'ILE; tuttavia, spesso, queste conclusioni sono soggettive e non basate su dati clinici statisticamente rilevanti. Inoltre, bisogna considerare che i casi in cui la terapia ha funzionato vengono più facilmente pubblicati rispetto a quelli dove è avvenuto un fallimento. In pochissimi articoli viene valutato l'andamento della concentrazione del tossico a livello sierico prima e dopo il trattamento, dato invece fondamentale sia per valutarne l'efficacia sia per studiarne il meccanismo d'azione. Quindi, sebbene l'utilizzo dell'emulsione lipidica nelle intossicazioni sembra essere molto cresciuto negli anni, le evidenze scientifiche restano poche e incerte (Levine, Robert S. Hoffman, et al. 2016).

Negli anni successivi alla *review* (dopo dicembre 2014) numerosi casi di medicina umana sono stati pubblicati e l'emulsione lipidica è stata utilizzata per il trattamento di nuove intossicazioni. Uno studio retrospettivo valuta l'utilizzo dell'emulsione lipidica nei casi di intossicazione da farmaci beta-bloccanti e calcio antagonisti; 15 pazienti soggetti a shock cardiogeno, dovuto ai suddetti farmaci, sono stati trattati con ILE; 12 di questi hanno mostrato un miglioramento delle condizioni cliniche in seguito alla terapia, gli altri 3 hanno presentato una ipotensione persistente e uno di questi è deceduto (Sebe et al. 2015). Tra le pubblicazioni in medicina umana, è presente una serie di 4 casi di pazienti intossicati da cannabinoidi sintetici trattati con successo mediante la somministrazione tempestiva di ILE: tutti i pazienti hanno presentato un forte miglioramento delle condizioni emodinamiche, tre di questi hanno inoltre mostrato una notevole ripresa dai sintomi neurologici (Aksel et al. 2015). Tra i casi clinici in cui l'ILE ha avuto successo, sempre in associazione ad altre terapie di supporto e sintomatologiche, molti riportano l'uso del trattamento nell'intossicazione da nuove sostanze, tra cui: tilmicosina (Besserer et al. 2016),

metamfetamine (Tse et al. 2015), ciclobenzaprine (Westrol et al. 2015), quetiapina e citalopram (Purg et al. 2016), clorpromazina e mirtazapina (Matsumoto et al. 2015). Altre innovazioni hanno riguardato il metodo di somministrazione dell'emulsione lipidica. In un caso di grave intossicazione da verapamil, l'impossibilità di ottenere una via periferica per la somministrazione dell'emulsione lipidica, ha obbligato i medici a infondere temporaneamente la stessa per via intraossea; la paziente è sopravvissuta e non sono stati riportati effetti collaterali (Sampson 2015). Nell'intossicazione da quetiapina e citalopram è stata utilizzata un'infusione di emulsione lipidica endovenosa a basso dosaggio, come consigliato da recenti studi (M. R. Fettiplace et al. 2015); la terapia ha avuto successo interrompendo le crisi convulsive e ristabilendo un regolare ritmo cardiaco (Purg et al. 2016).

Uno studio australiano, multicentrico, controllato, randomizzato ha valutato l'efficacia dell'ILE nelle intossicazioni da permetrina nei gatti (Peacock et al. 2015). L'obiettivo dello studio era confrontare la progressione dei sintomi neurologici tra i due gruppi di pazienti, trattati e di controllo, mediante un sistema di stadiazione clinica preventivamente validato. 34 gatti sono stati randomizzati per ricevere 15 ml/Kg di emulsione lipidica al 20% o di soluzione fisiologica in 60 minuti, oltre alle terapie di supporto e sintomatologiche tradizionali. Questo articolo dimostra che i pazienti trattati con ILE presentano un più rapido miglioramento delle condizioni cliniche rispetto a quelli nel gruppo di controllo (Peacock et al. 2015). Tutte le altre pubblicazioni in medicina veterinaria degli ultimi anni sull'argomento sono singoli casi e 3 serie di casi clinici. Tre cani presentati per un'ingestione di naprossene sono stati trattati con ILE, la concentrazione del tossico a livello sierico è stata misurata serialmente e ha mostrato una forte diminuzione entro le prime 3 ore dalla terapia; tutti gli animali sono stati dimessi senza nessuna ripercussione (Herring et al. 2015). Un altro articolo riguarda il trattamento di 4 gatti intossicati da permetrina. Gli animali, trattati con ILE e dexmedetomidina, hanno risolto i loro sintomi in poche ore e sono stati dimessi il giorno dopo (tranne uno, ma per problemi organizzativi)

(Ceccherini et al. 2015). L'ultima serie di casi descrive il trattamento di 20 gatti intossicati da un'iniezione sottocutanea di 4 mg/Kg di ivermectina. I gatti venivano divisi in base alla gravità dei sintomi in due gruppi: quelli con i sintomi più lievi ricevevano solo un bolo di ILE, quelli con i sintomi più gravi ricevevano una CRI di 30 minuti, oltre al bolo iniziale. I gatti con una condizione corporea più scarsa (BCS, *body condition score*) sono risultati essere quelli maggiormente sintomatici. Il gruppo trattato con il bolo e la CRI ha mostrato un più rapido miglioramento dei segni clinici rispetto agli animali che ricevevano solo il bolo (Jourdan et al. 2015). In un *case report* del 2016 viene descritto il primo caso di intossicazione da brometolina trattata con emulsione lipidica. La somministrazione di ILE ha ottenuto una diminuzione del 75% in un'ora della concentrazione del tossico nel siero del cane (Heggem-Perry et al. 2016). Un altro caso ha valutato l'efficacia dell'ILE in una grave intossicazione da cannabinoidi sintetici in un cane. Subito dopo la somministrazione dell'emulsione lipidica l'animale presentava un miglioramento dello stato mentale, dopo un'ora di infusione mostrava risposta agli stimoli dolorifici. 15 ore dopo l'ammissione all'ospedale è stato possibile svezzare il paziente dal ventilatore meccanico (Williams et al. 2015). In un articolo è stata descritta la tossicosi da ivermectina in un cane e in un puledro, entrambi mostravano cecità conseguente all'intossicazione, oltre a riflesso pupillare assente, risposta alla minaccia assente e uno stato mentale alterato. La valutazione elettroretinografica, prima e dopo la terapia con ILE, ha mostrato l'immediato recupero della funzione neurosensoriale retinica (Pollio et al. 2016). Seitz *et al.* hanno osservato la presenza di persistente lipemia e lipidosi corneale in un gatto trattato con ILE per intossicazione da permetrina. La lipemia si è risolta dopo 48 ore e la lipidosi corneale dopo 1 settimana dalla terapia (Seitz & Burkitt-Creedon 2016). Tuttavia, valutando la dose totale di emulsione lipidica somministrata (31,5 ml/Kg), questa supera notevolmente il limite massimo, suggerito dalle linee guida, di 10-12 ml/Kg (American College of Medical Toxicology 2016). Infine, un ultimo caso clinico recente riporta l'utilizzo di emulsione lipidica nel trattamento di un'intossicazione

da ivermectina in un leone africano. Il paziente si presentava, a 24 dalla somministrazione del farmaco, con uno stato mentale alterato e con cecità bilaterale. L'ILE e le terapie di supporto hanno consentito un completo ricovero dell'animale, consentendo agli autori di affermare che, anche in questa specie non convenzionale, la terapia con emulsione lipidica sembra essere clinicamente efficace nei casi di intossicazione da sostanze lipofile (Saqib et al. 2015).

Nel 2017 è stata pubblicata una serie di casi in medicina veterinaria che ha valutato in maniera retrospettiva dei pazienti, intossicati da varie tossine, tra il 2011 e il 2014 e trattati con emulsioni lipidiche endovenose. Gli agenti tossici coinvolti sono stati il baclofen, l'ivermectina addizionato a spinosad e milbemicina ossima, baclofen e tadalafil, carbamati, metanfetamine, destroanfetamina solfato, amlodipina, brometolina e organofosforici. Di questi 10 casi sono deceduti solamente i due pazienti intossicati da brometolina e organofosforici. Il paziente intossicato da brometolina si presentava con sintomi neurologici molto gravi e in seguito alla somministrazione di ILE a dosaggio standard non ha presentato miglioramenti. Il proprietario per difficoltà economiche ha quindi richiesto l'eutanasia. Il paziente intossicato da organofosforici è stato ammesso al pronto soccorso con gravi sintomi neurologici e nonostante la somministrazione di ILE ha presentato un arresto cardiorespiratorio. I restanti casi hanno mostrato un importante miglioramento neurologico e clinico solamente dopo la somministrazione di ILE. Nello specifico 7 casi su 10 presentavano segni da neurotossicità. I miglioramenti in seguito alla terapia con emulsioni lipidiche è avvenuta tra pochi minuti e le 12 ore. Nel caso di intossicazione da baclofen e tadalafil è stata somministrata la dose standard (1.5 ml/kg in bolo, seguito da un bolo a 0.25 ml/kg/minuto), seguita da un infusione continua a 1 ml/kg/h. Gli autori sospettano che la somministrazione in CRI possa essere stata determinante per la risoluzione della sintomatologia (Becker & Young 2017).

# PARTE SPERIMENTALE





# PARTE SPERIMENTALE

## 1. Obiettivi dello studio

Lo studio si propone, come primo obiettivo, quello di valutare la tipologia e la prevalenza delle intossicazioni pervenute presso un Pronto Soccorso Veterinario Universitario, tramite uno studio di tipo epidemiologico.

Inoltre, si vogliono valutare le manifestazioni sintomatologiche che si possono presentare in seguito ad un avvelenamento, al fine di evidenziare una possibile correlazione tra gli agenti tossici più frequenti nella pratica clinica veterinaria, il sospetto diagnostico e la prognosi.

Come secondo obiettivo, una volta identificate le intossicazioni più frequenti determinate da agenti lipofili, si vuole valutare l'efficacia clinica e la sicurezza del trattamento con emulsione lipidica endovenosa. A tal fine si vuole valutare la progressione dei sintomi in un gruppo di pazienti trattati con ILE rispetto a quanto già segnalato in letteratura veterinaria. In secondo luogo, lo studio si propone di valutare la somministrazione di emulsione lipidica endovenosa in infusione continua a basso dosaggio, la quale differisce rispetto alle terapie standard (American College of Medical Toxicology 2016; American College of Medical Toxicology 2017). La finalità, come suggerito da recenti studi (M. R. Fettiplace et al. 2015), è quella di ridurre il rischio di sviluppo di effetti collaterali, mantenendo comunque l'efficacia terapeutica segnalata in medicina veterinaria (Robben & Dijkman 2017; Gwaltney-Brant & Meadows 2018).

Infine, si vuole capire se la presenza di un protocollo di studio delle intossicazioni, avviato ad Agosto 2015, ha apportato miglioramenti nel trattamento e nell'*exitus* dei pazienti intossicati.

## 2. Materiali e Metodi

### 2.1 Selezione dei soggetti, Criteri di inclusione ed esclusione dello studio epidemiologico

Sono stati inclusi nello studio cani e gatti presentati presso il Pronto Soccorso Veterinario dell'Ospedale Veterinario Universitario "Giuseppe Gentile" del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna, con una anamnesi confermata o un sospetto di intossicazione, nel periodo tra il 1 Dicembre 2001 e il 31 agosto 2017.

I soggetti inclusi tra Dicembre 2001 e Marzo 2015 sono stati raccolti in maniera retrospettiva da un precedente studio effettuato presso il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie. I dati clinici sono stati raccolti utilizzando il Software Fenice 4.0. Sono state selezionate le cartelle di Pronto Soccorso, all'interno delle quali è stata considerata la voce "Diagnosi", in cui in particolare dovevano comparire parole quali "avvelenamento" e "intossicazione".

Invece, nel periodo di studio di tesi, dal 1 Gennaio 2015 al 31 Agosto 2017 i soggetti sono stati valutati in maniera prospettica.

#### 2.1.2 Elaborazione dei dati e categorie

I dati dei pazienti entrati nello studio, sono stati riportati su un foglio di lavoro Excel® e divisi nelle seguenti categorie:

##### *Non Intossicati vs Intossicati*

I soggetti appartenenti al precedente studio (2001-2015) sono stati considerati casi confermati di intossicazione.

Per quanto riguarda gli altri casi (2015-2017), si è proceduto ad una valutazione clinica e laboratoristica dei pazienti in modo da discriminare se i soggetti in esame fossero effettivamente intossicati o se fossero in realtà affetti da un'altra patologia, non determinata da un agente tossico.

Sono stati considerati “non intossicati”, i pazienti in cui è stata effettuata una diagnosi certa di altra patologia, sulla base di approfondimenti clinici e laboratoristici successivi.

Per quanto riguarda i *pazienti con sintomi neurologici*, sono stati considerati “non intossicati” quelli in cui le manifestazioni neurologiche si sono ripresentate a distanza di tempo, svincolate dal sospetto anamnestico di intossicazione, o quelli in cui è stata emessa una diagnosi sospetta o definitiva di epilessia idiopatica o di massa intracranica.

I pazienti “intossicati”, sono stati considerati tali in caso di conferma anamnestica di intossicazione associata ad una sintomatologia compatibile.

Sono stati considerati “intossicati” pazienti in cui esisteva un dato anamnestico di intossicazione e in cui è stata effettuata tempestivamente una decontaminazione. Infine, sono stati considerati “intossicati” i pazienti in cui sono state completamente escluse altre patologie e risultava fortemente probabile un’intossicazione da un dato agente tossico non noto.

Nei pazienti con un sospetto di intossicazione da *rodenticidi anticoagulanti* è stata effettuata una diagnosi indiretta qualora il tempo della coagulazione fossero fortemente alterati, come riportato nella letteratura veterinaria (DeClementi & Sobczak 2012).

Tra i soggetti con sospetto di intossicazione da rodenticidi, sono stati considerati come “intossicati” anche quei pazienti in cui non è stata confermata la diagnosi di intossicazione e/o non presentavano un coagulativo alterato, ma che erano conviventi dei pazienti intossicati o avevano subito rapidamente la decontaminazione.

La scelta è legata al fatto che nei rodenticidi *long acting*, il tempo comunemente osservato tra il contatto con il tossico e la manifestazione dei sintomi clinici è di 3-5 giorni (Murphy & Talcot 2013).

### *Sintomatologia*

Si è considerata la totalità dei pazienti dal 2001 al 2017.

Sono stati valutati i sintomi presentati sia nei pazienti intossicati che nei non intossicati, classificandoli in base al tipo di apparato coinvolto e in base al tipo di sintomatologia: neurologica, respiratoria, renale, cutanea, emorragica e “altri sintomi” (depressione, abbattimento, scialorrea).

Per quanto riguarda i casi del periodo 2015-2017, per i quali si disponeva di dati clinici più dettagliati, i sintomi riferibili a “sintomatologia neurologica” e “sanguinamenti” sono stati ulteriormente indagati, determinando il sintomo nello specifico.

In particolare per i sintomi neurologici si è indagato se il paziente presentava:

- Tremori
- Crisi convulsive
- Altro (Barcollamenti, ipereccitabilità, vocalizzi)

Per i sanguinamenti si è indagata la presenza di diatesi emorragica, versamenti cavitari, specificando inoltre la sede addominale o toracica (sulla base dei reperti ecografici rilevati al momento della visita con A-FAST e T-FAST), sanguinamenti gastroenterici o “altri sintomi” in cui erano considerate soffusioni, emartro, rinorragia.

### *Agenti tossici specifici*

Sono stati catalogati tutti gli agenti tossici registrati durante il periodo di studio. Sono, inoltre, raggruppate sotto la denominazione “altro”, le sostanze nocive che si sono rivelate meno rappresentate nella casistica.

Tutti i dati sono stati integrati riportando i *giorni di degenza* e *l'exitus* (paziente vivo/paziente morto).

## 2.2 Design dello studio sulla terapia con ILE e selezione dei soggetti

Il trial clinico progettato è di tipo osservazionale e ha coinvolto i pazienti pervenuti presso il Pronto Soccorso dell'Ospedale Veterinario Universitario del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna. La raccolta dei casi è iniziata ad Agosto 2015 ed è terminata a Agosto 2018, per un totale di 3 anni. Nella struttura di riferimento è stato distribuito del materiale informativo riguardante il protocollo, il sistema di stadiazione e il metodo di raccolta dati.

Gli animali inclusi nello studio dovevano presentare sintomi clinici neurologici e/o cardiologici riconducibili all'assunzione di un tossico. Cani e gatti asintomatici presentati presso il Pronto Soccorso veterinario in seguito alla somministrazione certa di tossici lipofili sono stati comunque compresi nella popolazione di studio come stadio A (vedi in seguito) ed, eventualmente, decontaminati e ricoverati per monitorare la possibile insorgenza di sintomatologia clinica. Animali già sottoposti a trattamenti per l'intossicazione prima della presentazione presso le strutture veterinarie coinvolte nello studio, sono stati comunque inclusi nella popolazione dello studio, se presentati con sintomatologia ancora grave e in progressione. Tutti gli animali con una successiva diagnosi differente da quella di intossicazione sono stati esclusi dallo studio.

Lo studio ha richiesto l'utilizzo di un sistema di stadiazione per valutare la gravità dei sintomi clinici in pazienti presentati con segni di neurotossicità. Il sistema di stadiazione è composto da 5 stadi, dalla A alla E, in ordine di gravità, da nessuno o lievi sintomi (come barcollamenti e atassia) nel primo stadio, a crisi convulsive nell'ultimo. La stadiazione riproduce un modello simile a quello validato ed utilizzato da Peacock e colleghi in un *trial* clinico sulle intossicazioni da permetrina nei gatti (Peacock et al. 2015). L'assegnazione di uno stadio viene effettuata mediante la risposta dicotomica SI/NO a semplici domande sullo stato generale del paziente (Figura 1).

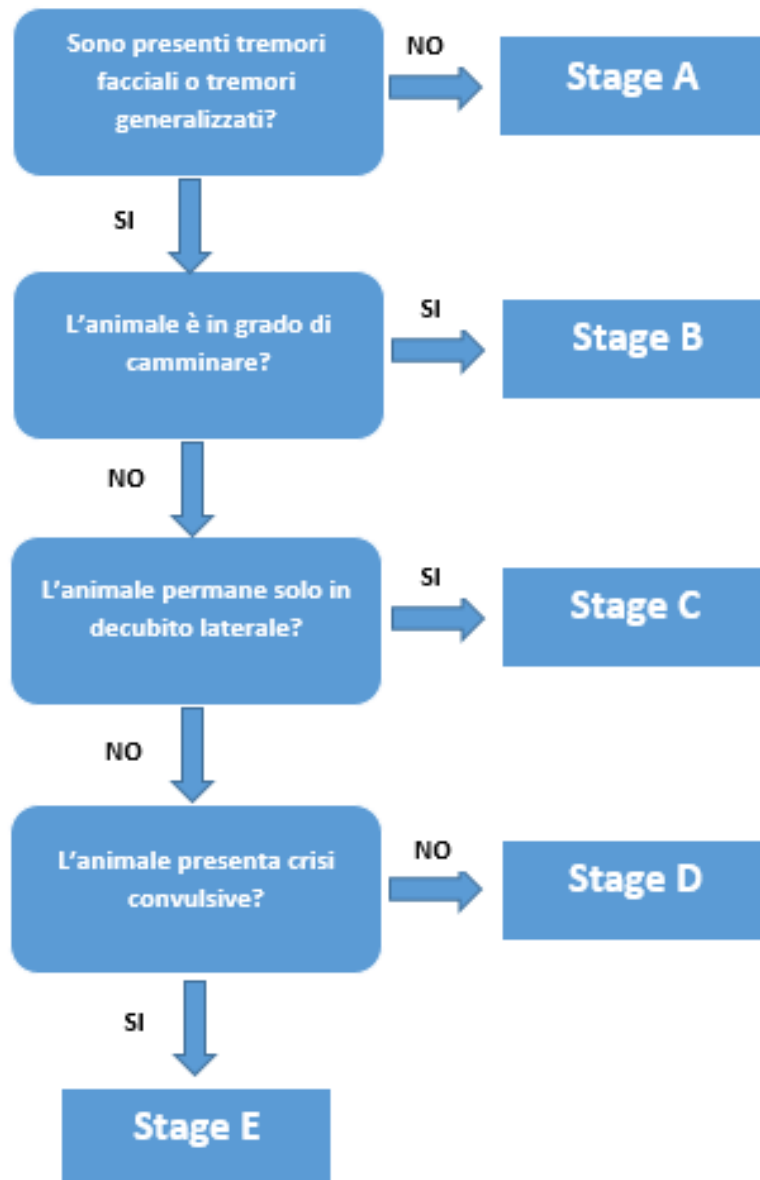
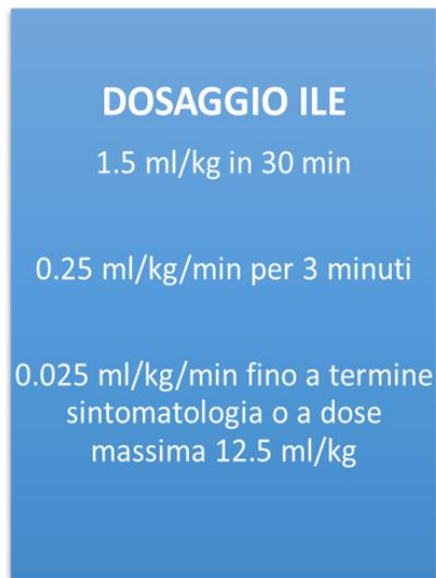


Figura 1: sistema di stadiazione

I pazienti riferiti in urgenza, con sintomi clinici e anamnesi fortemente indicativi di una sospetta intossicazione da tossici lipofili e/o con segni di neurotossicità, sono stati valutati clinicamente dai medici curanti. I pazienti sono stati classificati in relazione alla gravità dei sintomi presenti secondo il sistema di stadiazione. I medici hanno eseguito per ogni paziente un *database* minimo laboratoristico, tramite esami del sangue, per escludere possibili cause metaboliche e/o infettive/inflammatorie che potessero presentare sintomi simili a quelli riferiti da un'intossicazione. Il *database* minimo laboratoristico comprendeva un esame

emocromocitometrico e/o lettura dello striscio ematico, emogasanalisi, un esame biochimico a 17 parametri e un esame coagulativo. In relazione alle condizioni cliniche ed al possibile beneficio, l'animale è stato sottoposto a decontaminazione gastrica e/o cutanea, secondo quanto ampiamente riferito nella letteratura scientifica veterinaria (Lee 2015). In alcuni casi, a discrezione del clinico di turno, si è deciso di non effettuare la decontaminazione se ritenuta non necessaria o con un rapporto rischio/beneficio sfavorevole per il paziente. Inoltre, la decontaminazione gastrica, come riportato in letteratura (Seger & Meulenbelt 2004), non è indicata se effettuata a distanza di 1 ora dall'ingestione del tossico.

A seconda della classificazione dei pazienti, sono state messe in atto differenti strategie terapeutiche, in relazione ad un algoritmo procedurale (Figura 3) e a discrezione del medico presente. Tutti i pazienti presentati con segni di neurotossicità (tremori parziali, tremori generalizzati, movimenti tonico-clonici, crisi convulsive, stati epilettici) sono stati inizialmente trattati con la somministrazione di benzodiazepine (diazepam 0,5-1 mg/Kg IV o 1-2 mg/Kg ER). Qualora la terapia non fosse stata adeguata all'eliminazione o al miglioramento dei sintomi neurologici, lo studio prevedeva di gestire la sintomatologia dei pazienti tramite l'utilizzo di un farmaco anestetico iniettabile in infusione continua (propofol 0,1-0,4 mg/Kg/min). Il medico responsabile procedeva quindi con l'utilizzo di un trattamento secondo dosi stabilite dal protocollo di studio e segnalate in letteratura umana (M. R. Fettiplace et al. 2015; Purg et al. 2016). Il dosaggio utilizzato nello studio prevedeva un bolo iniziale di 1,5 ml/Kg da somministrare in 30 minuti, un secondo bolo da 0,25 ml/Kg/min per 3 minuti ed, infine, un'infusione continua del farmaco da 0,025 ml/Kg/min fino alla risoluzione della sintomatologia oppure, nel caso dell'emulsione lipidica endovenosa, fino alla dose massima giornaliera di 12,5 ml/Kg (Figura 7), come già riportato in un modello sperimentale presente in letteratura (M. R. Fettiplace et al. 2015).

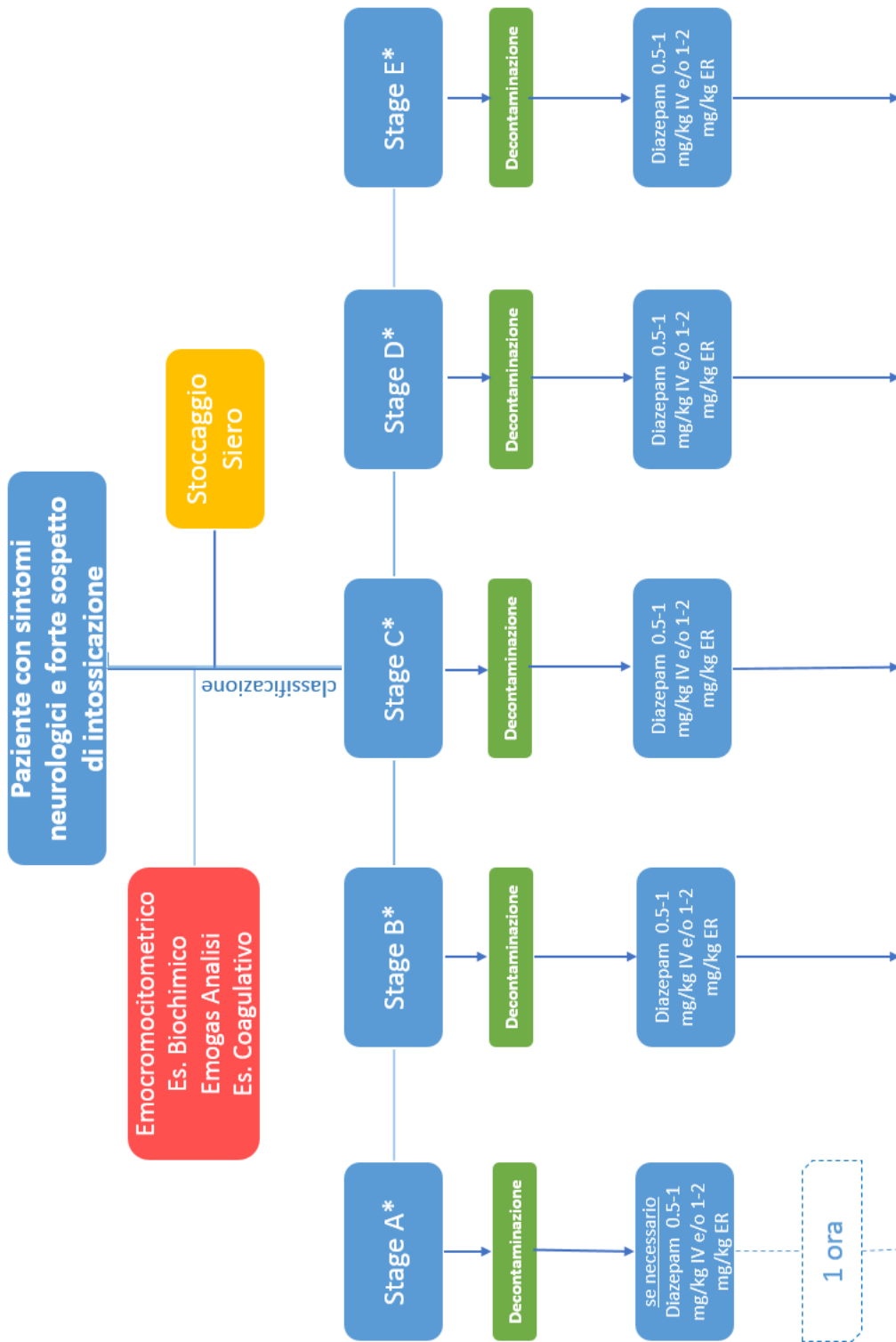


*Figura 2: dosaggio di ILE utilizzato nello studio*

Il medico curante, in relazione allo stato clinico presente durante l'anestesia, dopo 3 ore dall'inizio dello studio, ha valutato il possibile utilizzo di ulteriori farmaci sedativi/anestetici/anticonvulsivanti (es. derivati fenotiazinici, alfa-2-agonisti, barbiturici), con diversi meccanismi d'azione, al fine di mantenere un adeguato controllo dei sintomi.

La stadiazione del paziente e le condizioni cliniche sono state rivalutate ad intervalli predefiniti, ogni 3 ore per le prime 12 ore e poi ogni 6 ore fino a 48 ore, interrompendo l'anestesia generale (laddove presente), al fine di monitorare l'efficacia della terapia ed, eventualmente, la necessità di variazione della stessa, fino alla completa remissione della sintomatologia. Ad ogni intervallo sono stati quindi rivalutati e registrati: la stadiazione clinica (Figura 1), i sintomi presenti, la temperatura, la frequenza respiratoria, la frequenza cardiaca e la pressione arteriosa, misurata con metodo oscillometrico non invasivo (Petmap®). L'algoritmo decisionale seguito nei pazienti con neurotossicità è rappresentato in Figura 3.





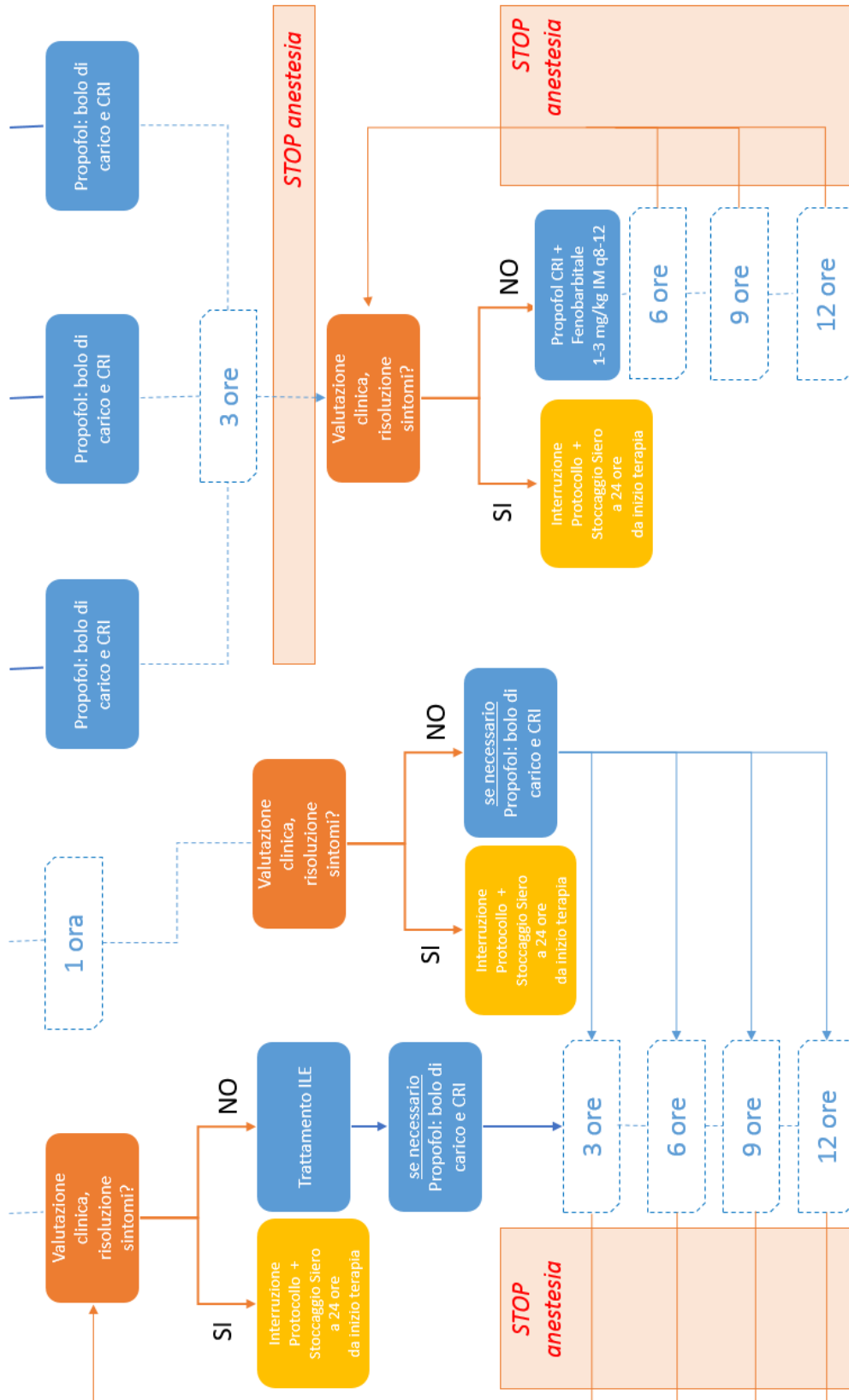


Figura 3: Algoritmo decisionale per il protocollo con ILE

A distanza di circa 24 ore dal ricovero del paziente è stato effettuato un prelievo ematico per valutare alterazioni laboratoristiche dovute all'intossicazione e/o alla terapia effettuata.

Sono stati valutati la durata del ricovero e l'insorgenza di effetti collaterali in questo periodo; in particolare sono stati monitorati sintomi legati a reazioni di ipersensibilità al farmaco e ipertensione.

A distanza di circa 7 giorni e 6 mesi dalla dimissione del paziente, i proprietari sono stati ricontattati per valutare il decorso dell'animale, eventuali ricadute, comparsa di nuovi sintomi o patologie.

### **3. Analisi Statistica**

#### **3.1 Analisi Statistica dello studio epidemiologico**

I risultati sono stati espressi mediante mediana e *range* (valore minimo e massimo). Per confrontare le diverse variabili tra i vari sottogruppi identificati, sono stati eseguiti test non parametrici: test di *Fisher* per le variabili categoriche, test di *Mann-Withney* e *Kruskal-Wallis* per le variabili continue. L'analisi è stata effettuata con il software MedCalc Statistical Software version 15.11.4 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2015). Il risultato dei test è stato considerato significativo se  $P < 0,05$ .

#### **3.2 Analisi Statistica dello studio sul trattamento con ILE**

I dati delle variabili continue sono stati espressi mediante una statistica e presentati come mediana e *range*. L'analisi è stata effettuata con il software *Microsoft Excel*® (Microsoft Office 2013).

## 4 Risultati

### 4.1 Risultati dello studio epidemiologico

#### 4.1.1 Popolazione e Sintomi

Sono stati selezionati un totale di 373 pazienti. I cani rappresentano la maggioranza con 306 casi (82 %), seguiti dai gatti che rappresentano il 18% della popolazione con 67 soggetti (Grafico 1).

I risultati della popolazione di studio possono variare nelle diverse analisi in quanto alcuni soggetti sono stati esclusi per incompletezza di dati nella valutazione retrospettiva.

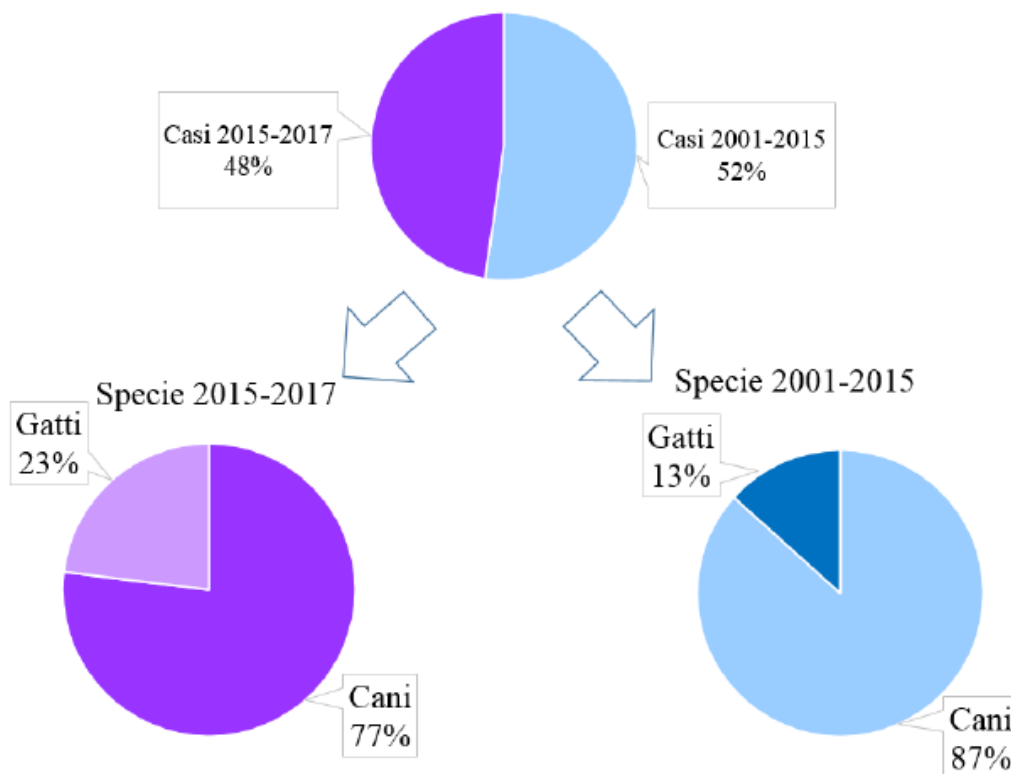


Grafico 1: soggetti divisi per periodo di studio e prevalenza di specie

I cani risultano la maggioranza, sulla popolazione totale e suddividendo i due studi: 77% nei casi 2001-2017, 87% nella popolazione 2015-2017. La quota principale di soggetti di specie canina è rappresentata da cani di razza (66%) (Grafico 2)

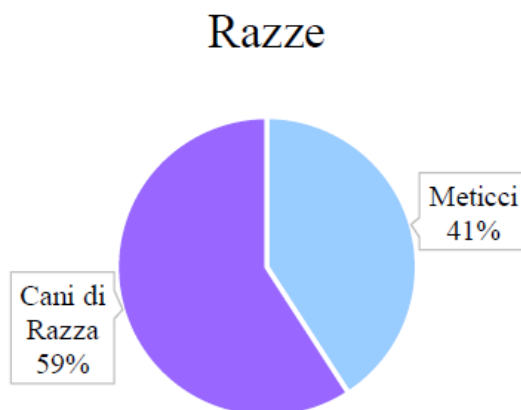


Grafico 2: rapporto meticci / cani di razza della popolazione

I cani di razza si presentano in numero leggermente superiore ai cani meticci (Grafico 3).

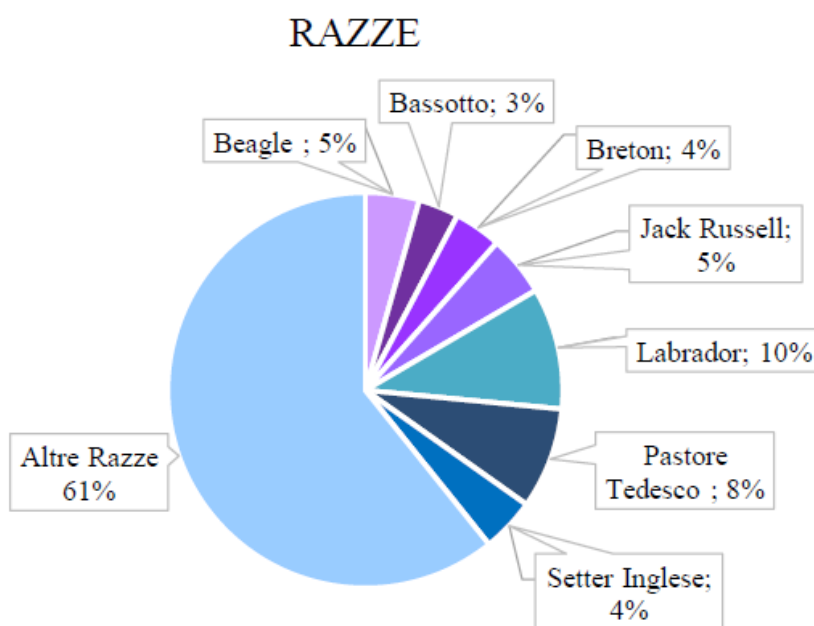


Grafico 3: prevalenze di razza

Si evidenzia che la razza con il maggior numero di soggetti è rappresentata dai Labrador (18 soggetti, il 10% del totale), seguita dai Pastori Tedeschi con 15 soggetti

(8%) sul totale dei cani di razza. Figurano poi Jack Russell e Beagle (5 %), Breton e Setter Inglese (4%) e Bassotti (3%).

Le altre razze sono costituite da un esiguo numero di soggetti ciascuna e costituiscono il restante 61% dei cani di razza (181 soggetti su 306).

I gatti sono maggiormente di razza Europea.

I soggetti coinvolti nell'intero periodo 2001-2017, non presentano una particolare prevalenza di sesso (Tabella 1).

SESSO	CANE	GATTO
MASCHIO INTERO	116	21
MASCHIO CASTRATO	18	15
FEMMINA INTERA	112	18
FEMMINA STERILIZZATA	60	13

Tabella 1: Prevalenza di età nella popolazione

I cani, intossicati e non intossicati, comprendono prevalentemente soggetti adulti (77 soggetti hanno un'età dai 5 ai 10 anni, il 25%), mentre fra i gatti, intossicati e non intossicati, è più rappresentata la categoria dei giovani con il 67% dei pazienti che rientra nella categoria con età > 1 anno a 3 anni (Grafico 4).

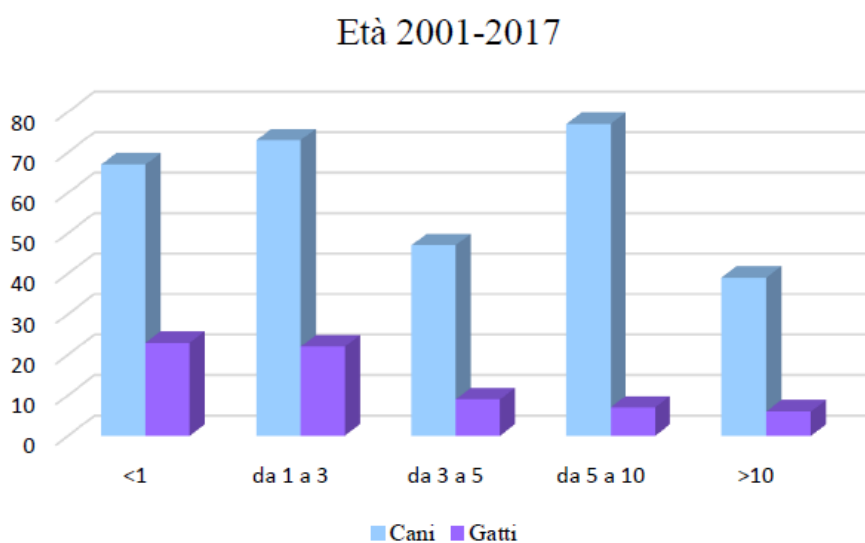
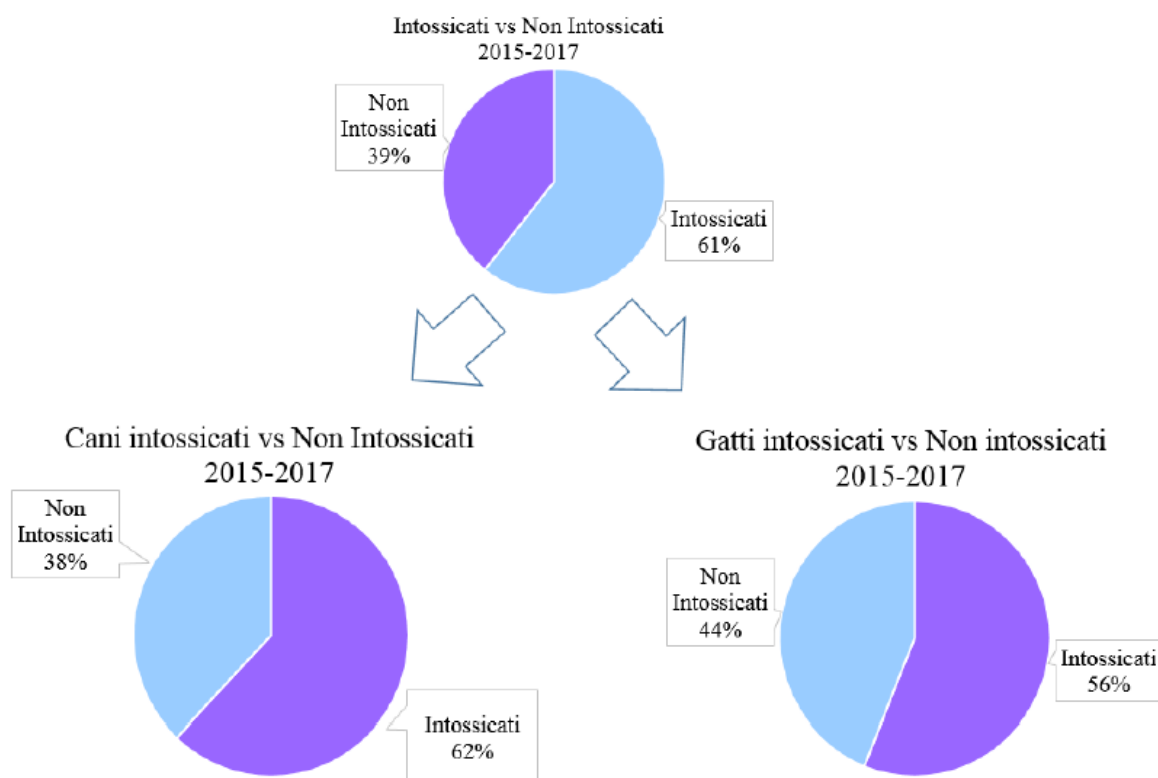


Grafico 4: distribuzione dell'età nella popolazione totale

Dei pazienti pervenuti, con un sospetto di intossicazione tra il 2015 e il 2017, presso il Pronto Soccorso, sono risultati effettivamente intossicati il 61% (108 su 178). Di conseguenza i pazienti intossicati nell'intera popolazione risultano 303 su 373 (81%) (Grafico 5).



*Grafico 5: Frequenza dei pazienti realmente intossicati confrontati con pazienti non intossicati, a fronte di un sospetto anamnestico di intossicazione*

La percentuale di intossicati è il 62% sul totale dei cani (85 esemplari su 137 cani), e il 56% (23 esemplari su 41) fra i gatti.

La quota di pazienti intossicati dal 2015 al 2017 è quindi costituita complessivamente dal 79% cani e il 21% da gatti.

Valutando le età dei pazienti classificati come intossicati, si evidenzia che i cani sono principalmente giovani: 122 pazienti su 254 hanno un'età tra 1 anno a 3 anni.

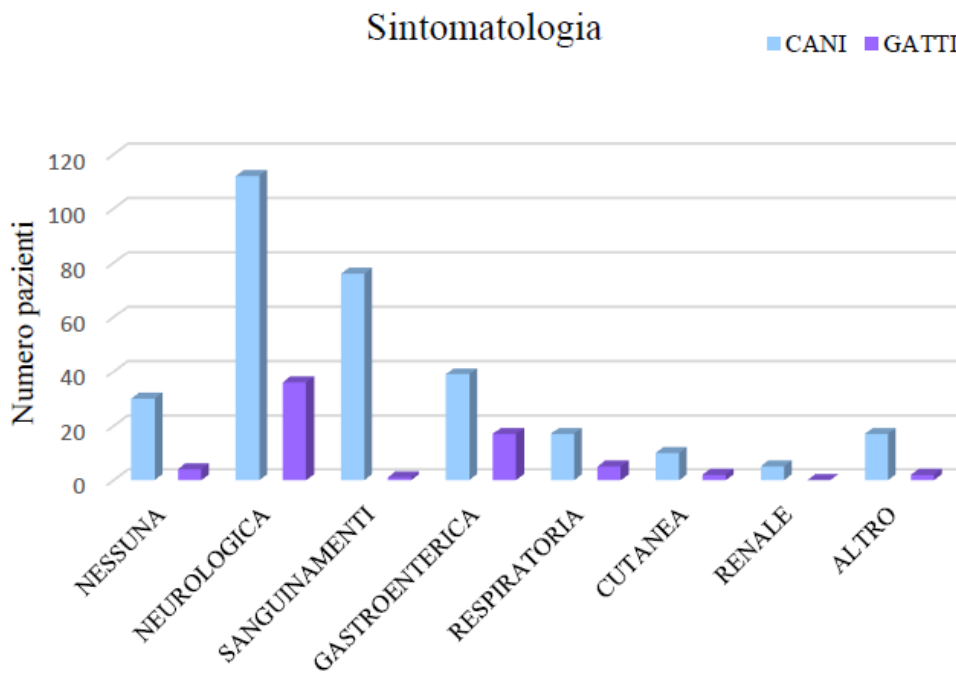


Grafico 6: Distribuzione dei sintomi nella popolazione di cani e gatti

Su 373 pazienti, la sintomatologia è risultata varia, con una presenza prevalente di sintomi neurologici, sanguinamenti e sintomi gastro enterici (Grafico 6).

Nello specifico i sintomi neurologici sono rappresentati principalmente da tremori e in minor misura da crisi convulsive, sia nel cane che nel gatto (Grafico 7).

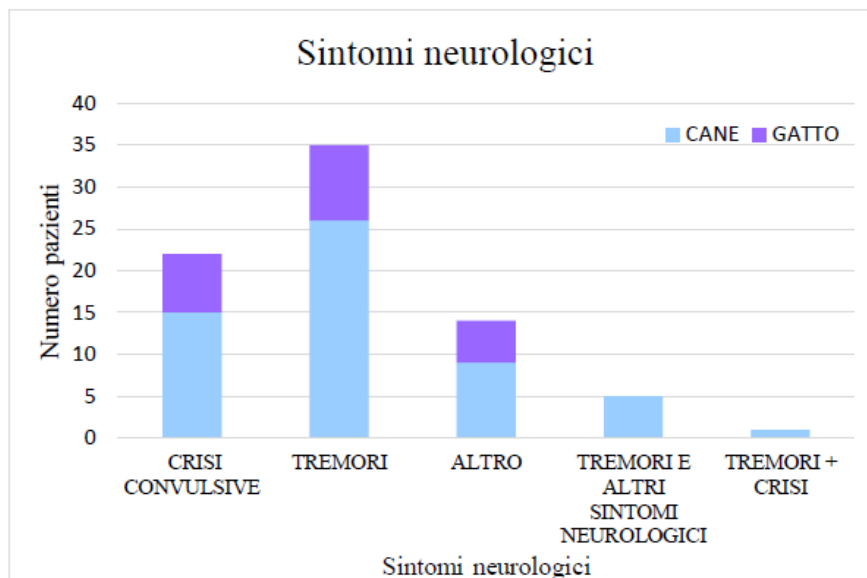


Grafico 7: Tipologia di sintomi neurologici nel cane e nel gatto



All'analisi statistica la presenza di versamenti cavitari negli animali intossicati da rodenticidi è risultata significativa (grafico 8).

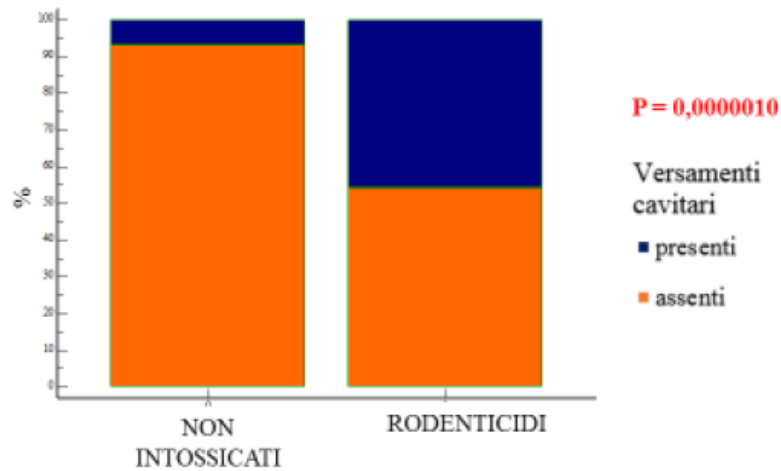


Grafico 8

L'analisi statistica della sintomatologia neurologica correlata con l'intossicazione da metaldeide è risultata significativa per quanto riguarda le crisi convulsive ( $P = 0.028$ ) (grafico 9) e i tremori generalizzati ( $P = 0.0077$ ) (grafico 10).

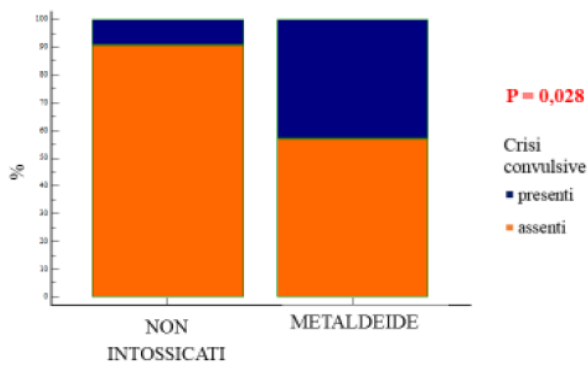


Grafico 9

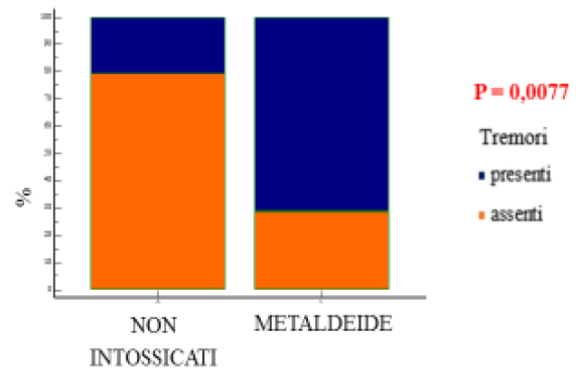


Grafico 10

L'analisi statistica della sintomatologia neurologica correlata con l'intossicazione da permetrina non è risultata significativa per quanto riguarda le crisi convulsive ( $P = 1$ ) (grafico 11), ma lo è stata per quanto riguarda i tremori generalizzati ( $P = 0.0012$ ) (grafico 12).

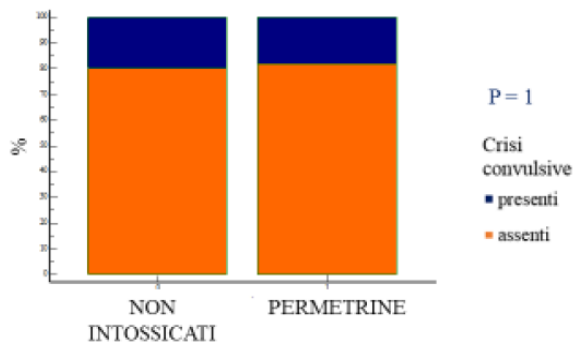


Grafico 11

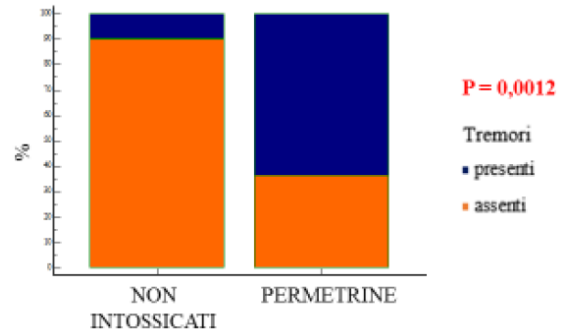


Grafico 12

#### 4.1.2 Agenti Tossici

I tossici maggiormente rappresentati nella casistica della popolazione presa in esame sono i **rodenticidi anticoagulanti** (35 animali su 108 intossicati tra il 2015 e il 2017 e 61 dei 195 pazienti dal 2001 al 2015), che rappresentano il 31,6% del totale dei pazienti intossicati, la **metaldeide** (7 su 108 tra il 2015 e il 2017 e 10 dei 195 dal 2001 al 2015) con circa il 5,6% e le **permitrine** con il 7,2% del totale (14 nel 2015-2017 e 8 dal 2001-2015) (Grafico 13).

TOSSICO	NUMERO DI SOGGETTI
NON NOTO	86
DICUMAROLO/RODENTICIDI ANTICOAGULANTI	96
PERMETRINE	22
METALDEIDE	17
VIPERA	11
ERBICIDI (ORGANOFOSFATI/CARBAMATI)	10
PROCESSIONARIA	9
PIANTE E FIORI (LILIACEE, STELLA DI NATALE, ORTICA, CALLA)	6
GLICOLE ETILENICO	5
FANS	4
VERNICI	4
CANNABINOIDI	3
FARMACI TIROIDEI	3
CAFFEINA	3
ANTIARITMICI	3
XILITOLO	2
ACETAMINOFENE	2
ALTRI ANTIPARASSITARI (MILBEMICINA, PRAZIQUANTEL)	2
FUNGICIDI	2

INSETTI	2
METRONIDAZOLO	2
VITAMINA D	2
ANTIDEPRESSIVI	1
INSULINA	1
ANTICONVULSIVANTI	1
CAUSTICI	1
CIPOLLA	1
CYCAS	1
SALE	1

Tabella 2: agenti tossici registrati tra il 2001 e il 2017

In particolare sono relativamente numerose le intossicazioni causate da animali, ad esempio il morso di vipera (9 casi dal 2001 al 2015, 2 dal 2015 al 2015) e 9 casi di lesioni da processionaria nel 2001-2015.

L'intossicazione da metaldeide e da rodenticidi è risultata più frequente nei cani, mentre l'intossicazione da permetrine si registra più frequentemente nei gatti (Tabella 3).

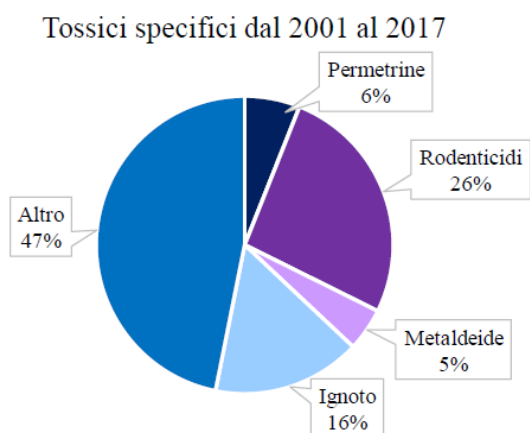


Grafico 13: frequenza di agenti tossici

AGENTI TOSSICI	CANE	GATTO
RODENTICIDI	95	1
PERMETRINE	6	16
METALDEIDE	17	0

Tabella 3: frequenza di agenti tossici

### 4.1.3 Giorni di Degenza

A seguire sono segnalati i giorni di degenza per le intossicazioni più frequenti nella popolazione analizzata (Grafico 14-15-16):

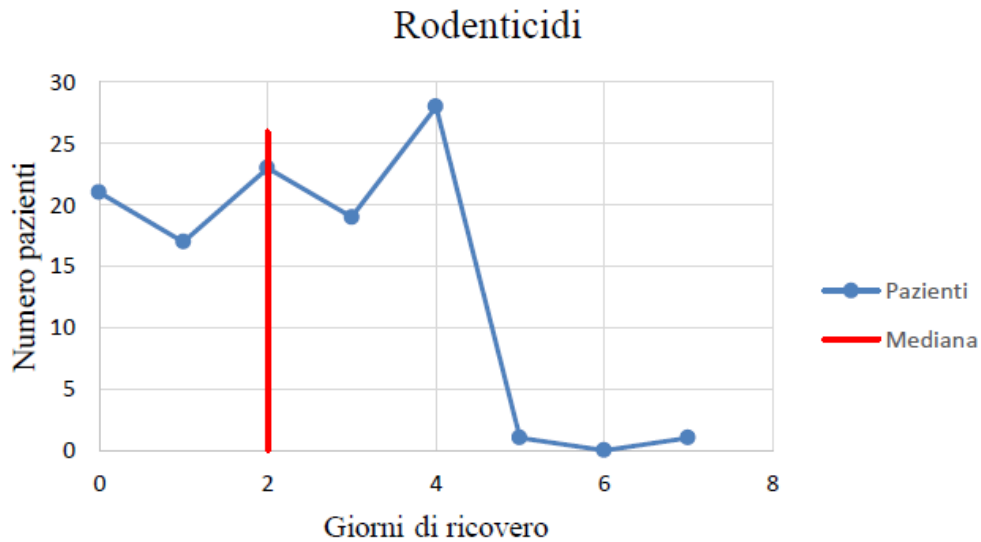


Grafico 14: Rodenticidi. Si assiste a un picco in corrispondenza dei 2 giorni di ricovero

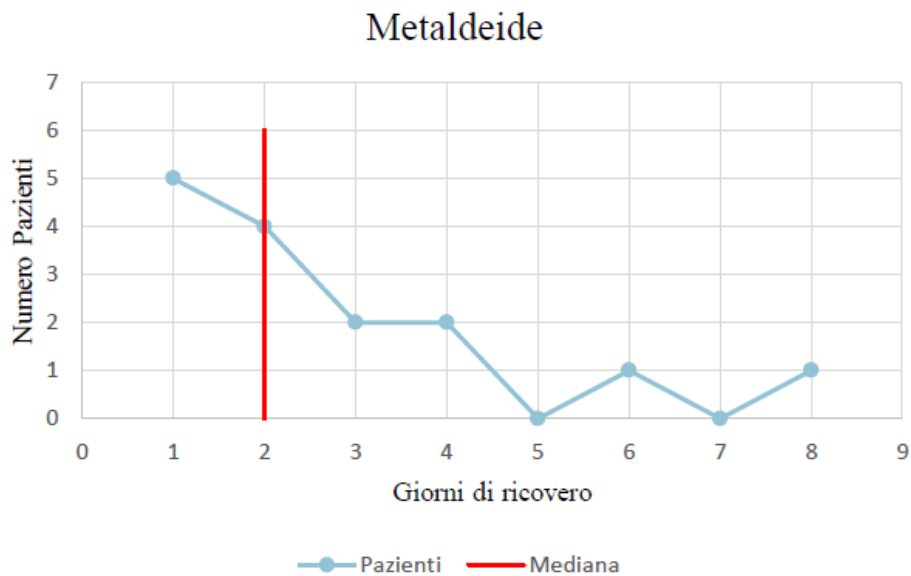
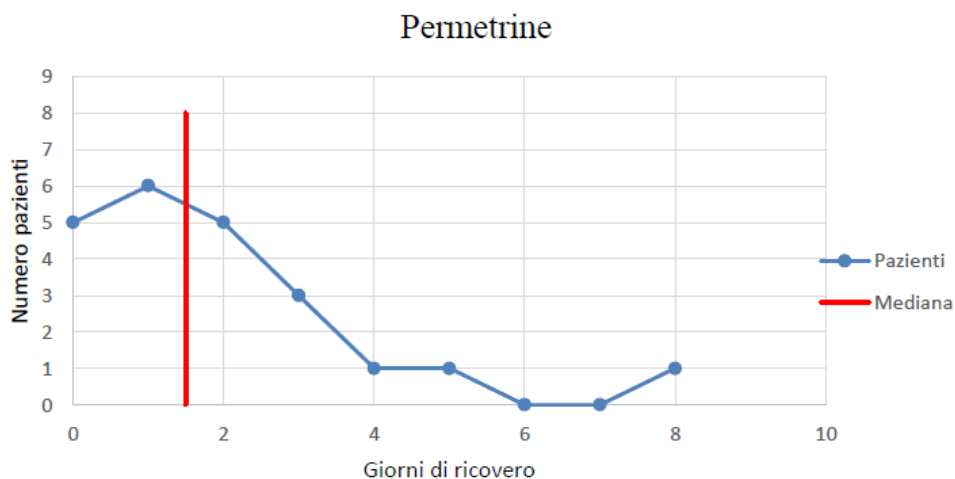
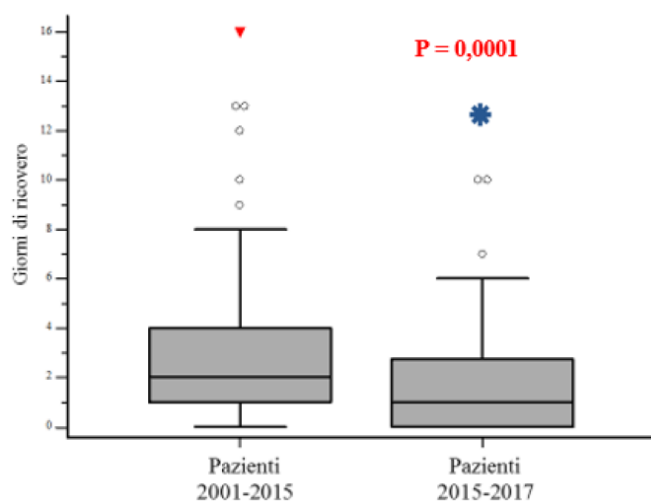


Grafico 15: Metaldeide. Gli intossicati da metaldeide presentano un periodo di degenza tendenzialmente breve (mediana = 2), con un range che va da 1 a 8 giorni.



*Grafico 16: Permetrine. Gli intossicati da permetrine presentano un periodo di degenza mediano tra le 24 e le 48 ore, con un range da 1 a 8 giorni.*

Analizzando la mediana dei giorni di ospedalizzazione dei cani intossicati nel periodo 2015-2017(1; 0-10), confrontati con quelli del periodo tra il 2001 e il 2015 si evidenziano tempi di degenza significativamente diversi (2; 0-16) (Grafico 17).



*Grafico 17: boxes and whiskers di confronto tra i giorni di ricovero tra il periodo di studio 2001-2015 e il periodo 2015-2017*

### Sopravvivenza dei Pazienti

Nell'arco di 17 anni, i pazienti deceduti sono stati 10 (Grafico 18).

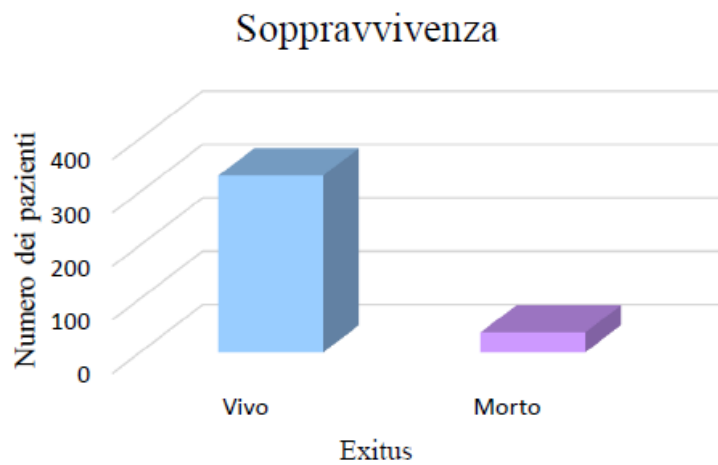


Grafico 18

## 4.2 Risultati dello studio sul trattamento con ILE

I risultati presentati in questo studio rappresentano i dati preliminari di uno studio pilota attualmente in corso. I casi raccolti comprendono 18 animali di cui 6 gatti (30%) e 12 cani (70%) (Grafico 19). Sono stati esclusi tre soggetti: un cane in quanto è stata diagnosticata successivamente una miosite, un secondo cane, intossicato da metaldeide, in seguito a una somministrazione di emulsioni lipidiche endovenose ad alte dosi e un terzo cane per una somministrazione di emulsione lipidiche superiore al dosaggio massimo consigliato in letteratura veterinaria (Robben & Dijkman 2017).

Le emulsioni lipidiche endovenose sono state iniziate tra le 4 e le 8 ore dal supposto momento dell'esposizione al tossico.

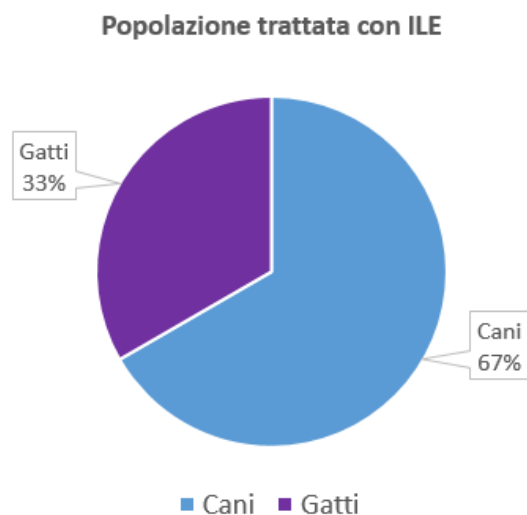


Grafico 19

#### 4.2.1 Risultati trattamento con ILE nel cane

I cani con un forte sospetto clinico di intossicazione trattati con ILE a basse dosi presentavano prevalentemente intossicazioni non note (n=6, 55%) o intossicazioni da metaldeide (n=3, 27%). Due casi hanno presentato intossicazioni da cannabinoidi e da idrocarburi/funghicidi (Grafico 20).

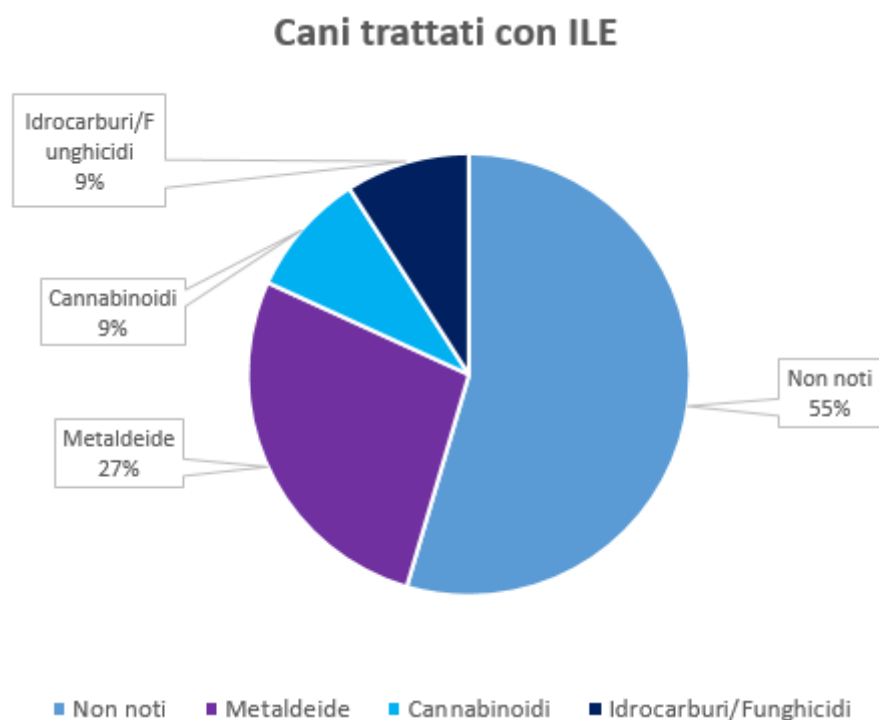


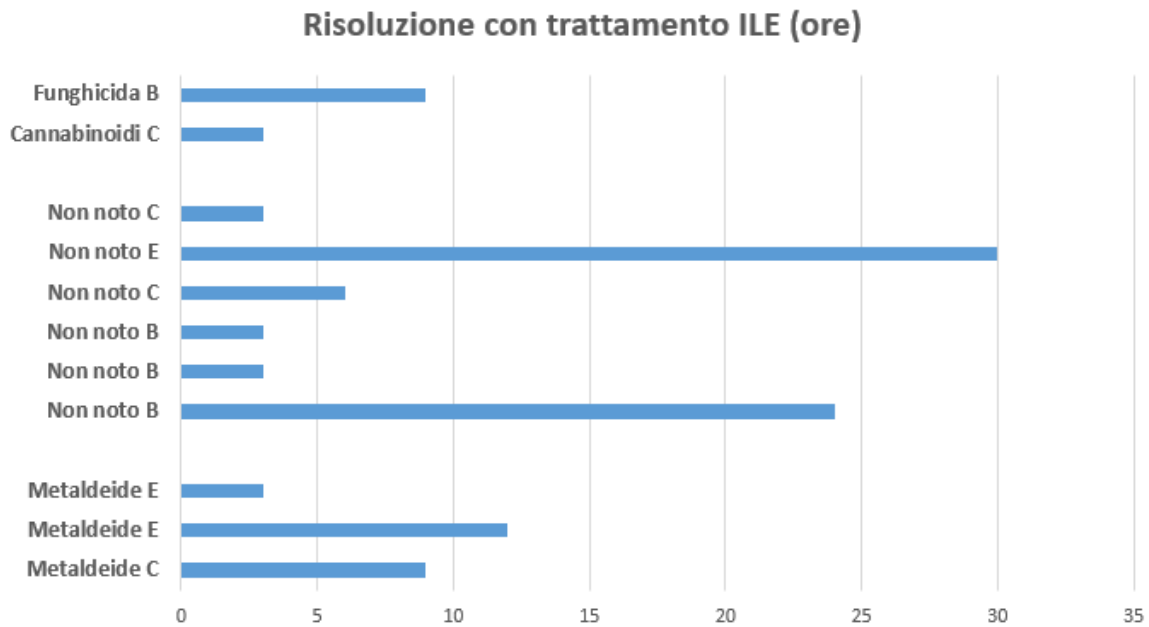
Grafico 20

I dati dei pazienti trattati con ILE sono riportati nella Tabella 4. L'età mediana è risultata essere di 24 mesi e il peso mediano di 8,7 Kg. I tempi di risoluzione della sintomatologia neurologica sono esposti nel Grafico 21 e nella Tabella 4.

Il paziente intossicato da Idrocarburi e funghicidi ha ottenuto una risoluzione dei sintomi in 9 ore, invece il cane intossicato da cannabinoidi ha mostrato una risoluzione dei sintomi dell'ammissione in circa 3 ore. Entrambi i pazienti si presentavano con stadi lievi e moderati: rispettivamente B e C.

I forti sospetti clinici di intossicazioni da agenti tossici non chiaramente identificati mostrano risoluzioni piuttosto varie con una tempistica mediana di 4,5 ore. I soggetti con stadi più lievi (B) hanno mostrato tempi di risoluzione inferiori, rispetto agli stadi C ed E.

I pazienti con intossicazioni confermate da metaldeide presentano risoluzioni dalle 3 alle 12 ore, con una mediana di 9 ore. In questi casi i soggetti presentavano tutti stadi moderati-gravi di sintomatologia neurologica (C n=1; E n=2)



*Grafico 21: tempistiche di risoluzione del trattamento con ILE nel cane, dallo stadio di ammissione allo stadio A*

La mediana di degenza, analizzando tutte le intossicazioni, risulta essere di 20,5 ore. Valutando singolarmente le intossicazioni da metaldeide la mediana risulta di 73,5 ore.



Nome	Sesso	Età (mesi)	Peso (kg)	Agente Tossico	Stage Ammissione	Decontaminazione	Risoluzione sintomi (ore)	Terapia Iniziale	Durata Propofol (ore)	Dose ILE (ml/kg)	Degenza (ore)
<b>Petit</b>	F	60	9,4	Metaldeide	E	Non effettuata	12	Diazepam	18,5	12,5	73,5
<b>Molly</b>	FS	168	3,2	Non noto	B	Non Effettuata	24	Diazepam	0	12,5	45
<b>Cricca</b>	FS	108	5,8	Non noto	B	Induzione Vomito	6	Diazepam	3	12,5	146
<b>Axel</b>	M	108	35	Non noto	B	Non Effettuata	3	Dexmedetomidina	-	6	13,5
<b>Pepe</b>	MC	60	35	Metaldeide	C	Lavanda Gastrica	9	Diazepam	9	12,5	74,5
<b>Darila</b>	F	204	6,2	Metaldeide	E	Non Effettuata	3	Diazepam	3	6,75	20,5
<b>Willa</b>	F	11	11,6	Cannabinioide	C	Non Effettuata	3	-	0	6	19,5
<b>Bruna</b>	FS	9	12,4	Non noto	C	Lavanda Gastrica	6	Diazepam	3	10,5	7
<b>Achira</b>	FS	12	6,4	Non noto	E	Cutanea	30	Diazepam	18	32	119
<b>Tobia</b>	M	12	7,2	Idrocarburi e Funghicida	B	Cutanea	9	Diazepam	-	12,5	19
<b>Vasco</b>	M	9	18	Non noto	C	Lavanda Gastrica	3	Diazepam	1	4,5	17

Tabella 4: Casi di intossicazione da agenti tossici noti in anamnesi e agenti tossici non noti. F = femmina, M = maschio, FS = femmina sterilizzata, MC = maschio castrato. Stage di ammissione vedi capitolo 2.1.

L'ILE è stato somministrato nella maggioranza dei soggetti fino a dosaggio massimo definito in letteratura e infatti la mediana corrisponde al dosaggio di 12,5 ml/kg, considerando che un paziente intossicato da un agente non noto ha continuato l'infusione fino a 32 ml/kg.

Al contatto telefonico dopo 7 giorni e 6 mesi tutti i proprietari hanno riportato che l'animale era in buona salute e non aveva più mostrato né sintomi neurologici, né altri sintomi riconducibili ad effetti collaterali conseguenti alle terapie effettuate.

#### 4.2.2 Risultati trattamento con ILE nel gatto

I gatti con un forte sospetto clinico di intossicazione trattati con ILE a basse dosi presentavano prevalentemente intossicazioni da permetrina (n=3, 60%). Due casi hanno presentato intossicazioni da Fipronil/Eprinomectina/Praziquantel e da Moxidectina (Grafico 22). Un caso di intossicazione da permetrina in un gatto è stato escluso per incompletezza di dati.

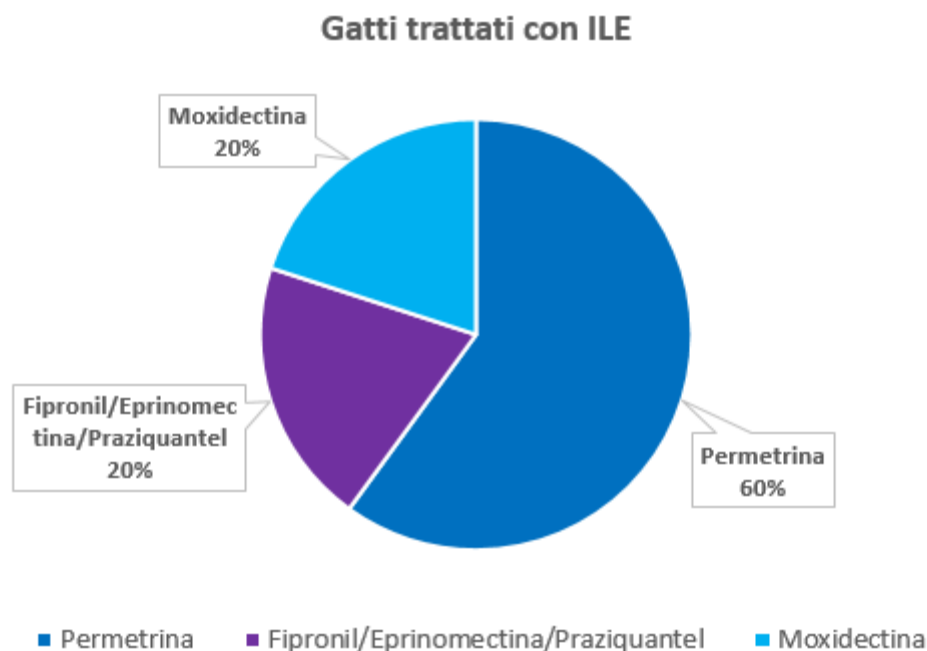


Grafico 22

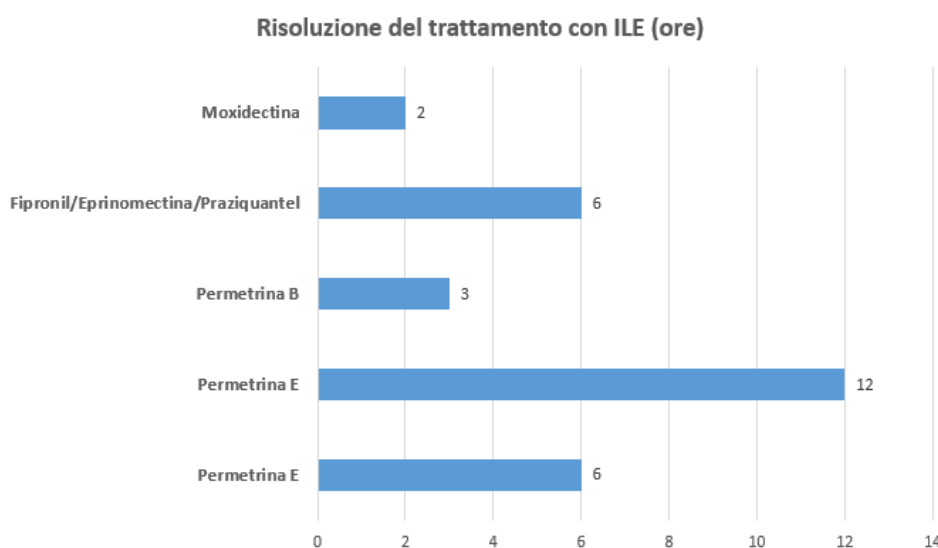
Dall'utilizzo di questo protocollo, associato al trattamento con ILE, è stata pubblicata una serie di casi che per la prima volta segnala l'utilizzo di un basso dosaggio di

emulsioni lipidiche in infusione continua (Pelizzola et al. 2018). I dati presenti in questo studio sono riportati nella tabella 5.

L'età mediana è risultata essere di 6 mesi e il peso mediano di 2,5 Kg. I tempi di risoluzione della sintomatologia neurologica sono esposti nel Grafico 23 e nella Tabella 4.

Il paziente intossicato da Fipronil/Eprinomectina/Praziquantel (Broadline, 74.7 mg fipronil, 90 mg S-methoprene, 3.6 mg eprinomectina, 74.7 mg praziquantel, Merial) ha ottenuto una risoluzione dei sintomi in 6 ore, dopo un iniziale somministrazione e CRI di propofol per 6 ore e un infusione continua di ILE a basse dosi per 7 ore (fino a dosaggio massimo di 12.5 ml/kg).

Il gatto intossicato da moxidectina (Milbemax, moxidectina 16 mg/compressa e praziquantel 40 mg/compressa, Novartis) ha mostrato una risoluzione dei sintomi neurologici in circa 2 ore. In questo singolo caso, in seguito a alla richiesta di eutanasia per deficit economici, il clinico di turno ha deciso di somministrare l'ILE senza un protocollo anestesiológico al fine di ridurre i costi di gestione terapeutica. Il paziente, in seguito al bolo e all'inizio dell'infusione continua a basse dosi di ILE, ha mostrato la risoluzione dei tremori neuromuscolari in pochissime ore ed è stato dimesso, senza alcuna reazione avversa dopo 16 ore.



*Grafico 23: tempistiche di risoluzione del trattamento con ILE nel gatto, dallo stadio di ammissione allo stadio A*

I tre gatti intossicati da permetrine mostravano stadi variabili all'ammissione in Pronto Soccorso: 2 gatti si presentavano in stadio E, 1 gatto in stadio C.

I due pazienti in stadio E hanno mostrato tempi di risoluzione di 6 e 12 ore, maggiori rispetto al paziente in stadio B. In tutti e tre i casi l'ILE è stato somministrato fino a dosaggio massimo suggerito. La somministrazione di propofol è stata prolungata nel paziente con tempi di risoluzione più lenti, ma è più o meno simile tra il soggetto trattato in stadio B e quello in stadio E.

La mediana in termini di ore di degenza è risultata di 44 ore.

Un paziente intossicato da permetrina ("Grigia") ha presentato prurito al risveglio dall'anestesia. Due pazienti (Caffè e Oblò) hanno presentato una cecità transitoria al risveglio dall'anestesia che è durata circa 72 ore.

Al contatto telefonico dopo 7 giorni e 6 mesi tutti i proprietari hanno riportato che l'animale era in buona salute e non aveva più mostrato né sintomi neurologici, né altri sintomi riconducibili ad effetti collaterali conseguenti alle terapie effettuate.

Nome	Sesso	Età (mesi)	Peso (Kg)	Agente Tossico	Stage Ammissione	Decontaminazione	Risoluzione sintomi (ore)	Terapia Iniziale	Durata Propofol (ore)	Dose ILE (ml/kg)	Degenza (ore)
<b>Grigia</b>	F	6	2,1	Permetrina	E	Cutanea	6	Diazepam	5,5	12,5	65
<b>Caffè</b>	F	4	2,5	Fipronil/Eprinomectina/Praziquantel	C	Non eseguita	6	-	6	12,5	43
<b>Ziva</b>	FS	24	4	Permetrina	B	Cutanea	3	Diazepam	4,5	12,5	44
<b>Oblò</b>	MC	10	3,5	Permetrina	E	Cutanea	12	Diazepam	10	12,5	92
<b>Leo</b>	M	2	1,1	Milbemicina	C	Non eseguita	2	-	0	4,95	16

Tabella 5: Casi di intossicazione da agenti tossici nel gatto trattati con ILE a basse dosi. F = femmina, M = maschio, FS = femmina sterilizzata, MC = maschio castrato (Pelizzola et al. 2018). Stage di ammissione vedi capitolo 2.1.

## 5 Discussioni e Conclusioni

Nel presente studio sono stati valutati pazienti pervenuti presso un Pronto Soccorso Veterinario (sia in *first opinion*, sia riferiti da colleghi) con un sospetto clinico di intossicazione. I soggetti sono stati valutati singolarmente, in maniera retrospettiva e prospettica al fine di suddividerli in due popolazioni: una con un sospetto di intossicazione confermato e una con diagnosi sospetta o definitiva di altra natura.

Sul totale dei 373 pazienti, tra il 2001 e il 2017, la quota di animali con conferma di intossicazione ha rappresentato l'81% e tra il 2015-2017, durante lo studio prospettico, è risultato realmente intossicato il 61% dei pazienti.

La popolazione di pazienti coinvolta nello studio è composta per la maggior parte da cani: 87% nel periodo 2001-2015 e 77% nel periodo 2015-2017, di cui il 62% è effettivamente risultato intossicato (85 cani su 137 totali). Una quota minore degli intossicati dal 2001 al 2017 è invece rappresentata da gatti (16%).

Inoltre, tra i soggetti intossicati non esiste differenza di sesso. Questi dati sono in linea con recenti studi epidemiologici, che hanno individuato i cani, seguiti dai gatti, come i pazienti maggiormente esposti alle intossicazioni sul territorio italiano (Caloni et al. 2012).

Dallo studio in esame i tossici specifici incontrati con maggior frequenza tra il 2001 e il 2017 sono stati i rodenticidi anticoagulanti (31.6%), le permetrine (7.2%), la metaldeide (5.6%) e gli erbicidi (3.3%). I dati del presente studio differiscono rispetto a quanto riportato nello studio di Caloni e colleghi sul territorio italiano (Caloni et al. 2012) in cui gli insetticidi sono i tossici a cui sono maggiormente esposti gli animali valutati (41.3% i gatti e 29.8% i cani), seguiti dai rodenticidi, molluschi ed erbicidi. Lo studio di Caloni e colleghi, però, presenta il limite di prendere in esame, oltre agli animali da compagnia, anche gli animali da reddito. In uno studio sulla prevalenza delle intossicazioni in Europa i tossici più frequenti sono gli insetticidi (27%) e l'esposizione ai rodenticidi rappresenta solamente il 5.5% sulla popolazione analizzata (Berny et al. 2010). Inoltre, relativamente a quanto riportato nello studio

di Calzetta e colleghi (Calzetta et al. 2018), il presente studio non evidenzia, almeno apparentemente, una concordanza rispetto al rischio di intossicazione se associato alle caratteristiche del territorio. La suddetta struttura veterinaria si localizza in un territorio tra pianura e collina. Nonostante le intossicazioni da rodenticidi siano segnalate nello studio di Calzetta e colleghi come infrequenti e a basso rischio nel territorio di riferimento della struttura, in questa specifica realtà territoriale, i rodenticidi anticoagulanti si attestano come i tossici più frequenti. L'alto rischio di intossicazione da molluschi ed erbicidi dei territori collinari è invece confermato. Gli studi della letteratura veterinaria segnalati precedentemente sono di tipo multicentrico e coinvolgono ampie popolazioni di animali, quindi in questo studio sono presenti i limiti determinati dalla valutazione in un unico centro e da un numero inferiore di soggetti presi in esame.

Tra i sintomi conseguenti agli avvelenamenti nella popolazione analizzata i più frequenti sono i sintomi neurologici e i sanguinamenti patologici, seguiti dai sintomi gastro-enterici.

I sintomi neurologici prevalentemente presenti, in questi pazienti e nella popolazione nel suo insieme, sono stati i tremori neuro-muscolari generalizzati e le crisi convulsive tonico-cloniche generalizzate. Questa prevalenza è associata alla maggior frequenza di esposizione ad agenti neurotossici della popolazione presa in analisi. Infatti, i tremori e le crisi convulsive sono correlati significativamente alle intossicazioni da metaldeide nel cane, così come i soli tremori sono correlati alle intossicazioni da permetrina nel gatto.

La metaldeide è un molluschiocida comune, il cui organo target è il sistema nervoso centrale. In questo studio e come riportato in letteratura, i segni clinici di intossicazione acuta includono tremori, crisi convulsive, ipertermia secondaria, tachipnea e tachicardia. La metaldeide attraversa rapidamente la barriera emato-encefalica andando ad agire sull'acido gamma-amminobutirrico (GABA). Non è ancora noto l'esatto meccanismo che determina una alterazione del sistema GABA-ergico, ma l'ipotesi è che siano presenti complessi sinergismi tra GABA, MAO (mono

amminoossidasi), noradrenalina e 5HT (5-idrossitriptamina) (Brutlag & Puschner 2012; De Roma et al. 2017).

Secondo i risultati di questo studio, la presenza di crisi convulsive o tremori in un soggetto con sospetto di intossicazione è frequentemente correlata ad una diagnosi di intossicazione da metaldeide.

La permetrina fa, invece, parte dei composti a base di piretrine e piretroidi. Questi composti agiscono, sia negli insetti che negli animali, alterando l'attività dei canali del sodio a livello di fibre nervose. Più il flusso di sodio si riduce, più si ottiene un inattivazione del potenziale d'azione. L'esposizione alla permetrina prolunga il periodo di conduzione del sodio, aumentando il tempo di depolarizzazione del potenziale d'azione, determinano una stimolazione nervosa ripetitiva. Le fibre sensitive diventano facilmente stimolabili a causa della differente cinetica del sodio (Hansen & Khan 2017). Questo, come visto nel presente studio, determina una sintomatologia caratterizzata da tremori generalizzati.

In seguito alla valutazione statistica effettuata sui sintomi, che ha coinvolto l'intera popolazione dal 2001 al 2017, il sanguinamento è risultato significativamente correlato all'intossicazione da rodenticidi anticoagulanti: potrebbe essere, quindi, utilizzato come criterio discriminativo in un paziente con sospetto di intossicazione. Dai dati analizzati emerge che è più probabile, in caso di un sospetto clinico di intossicazione, che un paziente con disturbi coagulativi sia effettivamente intossicato. Ad ogni modo, risulta comunque necessario escludere altre cause di disordine emostatico.

Indagando la sede dei sanguinamenti nella popolazione 2015-2017, lo studio ha evidenziato una significativa presenza di versamenti a livello cavitario che ha permesso di considerarne l'utilità per la diagnosi in caso di sospetto di intossicazione. La presenza di sanguinamenti cavitari, in corso di intossicazione da rodenticidi, è in linea con la letteratura veterinaria, in cui sono riportate come sedi preferenziali di sanguinamento le cavità corporee: peritoneo, retroperitoneo, spazio pleurico, parenchima polmonare, e occasionalmente pericardio (DuVall et al. 1989).



Dalle valutazioni sui giorni di ricovero si evidenzia che i pazienti intossicati da metaldeide hanno una rapida ripresa e il tempo di degenza è in media di 2-3 giorni (1 – 8 giorni).

Solitamente, la prognosi risulta buona se vengono superate le prime 24 ore dall'esposizione e se vengono forniti tempestivamente i trattamenti adeguati. Dopo un trattamento iniziale, volto a risolvere i sintomi neurologici, è necessario controllare il danno epatico. Da quel momento, se sono effettuati trattamenti e monitoraggio adeguati, un recupero completo è atteso tra i 2 e 3 giorni (Buhl et al. 2013).

Gli intossicati da permetrine presentano un periodo di degenza mediano tra le 24 e le 48 ore, con un range da 1 a 8 giorni. La letteratura veterinaria riporta, a fronte di un tempestivo trattamento sintomatologico, un recupero delle funzioni neurologiche tra 24 e 72 ore. Animali che non ricevono cure in maniera tempestiva sono a rischio di decesso (Hansen & Khan 2017; Peacock et al. 2015).

Gli avvelenamenti da rodenticidi anticoagulanti hanno una prognosi buona, se trattati tempestivamente con antidoto e plasma fresco congelato, anche se dipendono dalla gravità della sintomatologia (DeClementi & Sobczak 2012; Murphy & Talcot 2013). I tempi di degenza sono solitamente molto brevi e in questo studio la degenza media è risultata inferiore ai 2 giorni.

Tuttavia, il tempo di ospedalizzazione dei cani intossicati nel periodo 2015-2017 è risultato significativamente diminuito rispetto al periodo precedente (2001-2015).

La diminuzione del tempo di ospedalizzazione, potrebbe essere imputabile alla all'utilizzo di un protocollo per il trattamento dei pazienti intossicati, iniziato ad Agosto 2015 ed ancora in uso, presso l'Ospedale Veterinario Universitario. La riduzione del tempo di ospedalizzazione potrebbe essere quindi data dal miglioramento nella gestione dei pazienti intossicati. Per avvalorare questa ipotesi sarebbe utile valutare se la diminuzione del tempo di ospedalizzazione riguarda nello specifico solo i casi di intossicazione, o se si evidenzia, per quanto riguarda questo parametro, un miglioramento in tutti i casi presentati presso l'Ospedale.

L'*exitus* dei pazienti intossicati è generalmente positivo, e in 17 anni, i soggetti morti a causa di un'intossicazione sono circa l'8% (24 su 298 pazienti). Infatti, anche se il trattamento dei piccoli animali esposti a un'intossicazione può presentare importanti problemi di gestione, un approccio ponderato, affiancato a una buona anamnesi e a una valutazione delle differenze intraspecifiche determinano una prognosi generalmente positiva (Lee 2013).

Parte dello studio è stato valutato in maniera retrospettiva. Questo ha fatto sì che non potessero essere indagati alcuni dati che non risultavano esplicitati nelle cartelle cliniche.

Il presente studio presenta un limite diagnostico legato al fatto che molti soggetti presentavano forti segni clinici di intossicazione, ma non è stato possibile ottenere una diagnosi definitiva di intossicazione (vedi tabella 2, parte sperimentale) supportata da tecniche di diagnostica di laboratorio. Seppur esistano tecniche di diagnostica avanzata come l'HPLC o la spettrometria di massa, utilizzate anche in Medicina Veterinaria, queste metodiche non sono disponibili in tutti i laboratori e risultano molto costose (Gwaltney-Brant 2016).

In conclusione, la prima parte dello studio ha permesso di identificare le tipologie di intossicazioni più frequenti pervenute presso l'Ospedale Veterinario Universitario in esame. Gli agenti tossici più frequenti sono stati quindi: i rodenticidi, la metaldeide e le permetrine. Inoltre ha identificato come più frequenti i sintomi legati alle neurotossicità e ai sanguinamenti indotti da anticoagulanti.

A tal proposito, nella seconda parte dello studio è stato valutato l'utilizzo di un protocollo terapeutico per approcciare i forti sospetti di intossicazione da agenti tossici che determinavano neurotossicità. Il protocollo prevedeva un sistema di stadiazione che ricalcava un sistema già validato nello studio di Peacock e colleghi riguardante le intossicazioni da permetrina nel gatto (Peacock et al. 2015). Questo ha permesso di effettuare valutazioni e monitoraggi clinici standardizzati, al fine di poter gestire uniformemente i pazienti dal punto di vista diagnostico e terapeutico.

Il sistema è risultato utile e di facile comprensione per tutto il personale medico, in quanto valuta segni clinici evidenti e facilmente riconoscibili. Tuttavia, in particolare nella fase di risveglio degli animali dall'anestesia generale, la valutazione degli stadi clinici è risultata più difficile ed approssimativa, in quanto i segni clinici erano influenzati dall'effetto dei farmaci sedativi somministrati dal medico curante.

Infatti, il protocollo di trattamento ha previsto l'utilizzo di farmaci sedativi, anestetici e anticonvulsivanti come terapie di supporto per gestire i sintomi neurologici.

In questo studio i cani presentavano un età dai 9 mesi ai 14 anni e un peso tra i 3 e 18 Kg. Di 11 cani 6 non avevano un'anamnesi suggestiva di intossicazione da agenti tossici specifici, ma presentavano sintomi ed esami di laboratorio compatibili con un forte sospetto di intossicazione. I restanti pazienti hanno presentato prevalentemente intossicazioni da metaldeide (n=3), un'intossicazione da cannabinoidi e una da idrocarburi e fungicidi. La decontaminazione tramite lavanda gastrica non è stata effettuata in tutti i soggetti ed è stata eseguita solo se ritenuta necessaria dal clinico presente, così come segnalato nelle linee guida in medicina umana (Seger & Meulenbelt 2004), in quanto potenzialmente rischiosa e priva di benefici in certe condizioni.

Le emulsioni lipidiche endovenose a basse dosi sono state iniziate tra le 4 e le 8 ore dal supposto momento di esposizione. I pazienti trattati hanno mostrato una risoluzione della sintomatologia neurologica tra le 3 e le 30 ore rispetto all'ammissione presso la struttura.

Sfortunatamente, non è possibile analizzare correttamente i pazienti con intossicazioni non note e risulta molto difficoltoso valutare una reale efficacia dell'ILE rispetto a condizioni cliniche similari riportate in letteratura. Quindi, è necessario valutare solamente la popolazione esposta a tossici noti. Non sono attualmente segnalate nella letteratura veterinaria intossicazioni da composti di idrocarburi e fungicidi, è invece segnalato il trattamento di un cane con intossicazione da cannabinoidi (Williams et al. 2015). Nel caso già presente in letteratura i sintomi clinici e neurologici erano molto gravi e il cane si presentava in

stato comatoso, con segni di ipossiemia e ipercapnia legati a uno stato di ipoventilazione. Il trattamento con ILE, associato ad un infusione ad alti volumi, ha migliorato gradualmente la sintomatologia e ha permesso di svezzare rapidamente il paziente dalla ventilazione assistita. Invece, il caso riportato nel presente studio presentava sintomi nettamente meno gravi e si è ottenuta la risoluzione dei tremori neuromuscolari in circa 3 ore, senza la necessità di ricorrere all'anestesia generale. I tre casi di intossicazioni da metaldeide presentavano sintomi gravi con tremori generalizzati e crisi convulsive tonico-cloniche generalizzate. In seguito al trattamento con emulsioni lipidiche si è ottenuta una risoluzione completa della sintomatologia tra le 3 e le 18 ore (tempo medio di 10 ore). La letteratura in medicina veterinaria riporta dei tempi di recupero di 24-48 ore, a fronte di un tempestivo intervento terapeutico (Brutlag & Puschner 2012), ma senza l'utilizzo di emulsioni lipidiche endovenose. Apparentemente i tempi di risoluzione della sintomatologia neurologica in questo studio sono inferiori a quanto precedentemente riportato.

I farmaci sono considerati lipofili in base al loro coefficiente di partizione tra octanolo e acqua ( $\text{LogP}$ ) > di 1. La metaldeide presenta un  $\text{LogP}$  di 1.1, quindi una lieve lipofilia, ma al momento il reale meccanismo d'azione e la capacità di legame delle molecole lipidiche non sono ancora completamente compresi. Infatti, sembra che oltre ai meccanismi legati alla lipofilia, possano essere coinvolte interazioni elettrostatiche e tra cariche elettriche di tipo opposto (Fettiplace & Weinberg 2018). Si può quindi supporre che l'utilizzo delle emulsioni lipidiche endovenose a basse dosi possa aver determinato un beneficio nel trattamento di intossicazioni da metaldeide. Il numero limitato di soggetti può, comunque, non essere adeguato per poter trarre delle conclusioni adeguate.

In questo studio i gatti presentavano un'età dai 2 mesi ai 2 anni e un peso tra 1.1 e 4 Kg. L'esposizione agli agenti tossici è stata differente tra i casi: 3 erano intossicazioni cutanee, una enterale e una sia cutanea che enterale. La decontaminazione è stata effettuata in nei tre casi di intossicazione cutanea, ma non

in un caso a seguito della decisione del medico di turno. Nel caso dell'intossicazione enterale non è stata eseguita la decontaminazione gastrica, in quanto erano passate più di tre ore tra il momento dell'ingestione e l'ammissione in Pronto Soccorso. Infatti, la procedura di decontaminazione gastrica tramite emesi non è consigliabile in pazienti con sintomi neurologici già manifesti e tempi di esposizione lunghi, così come non è consigliata la lavanda gastrica (Seger & Meulenbelt 2004).

Le emulsioni lipidiche endovenose (ILE) sono state iniziate tra le 4 e le 8 ore dal momento dell'esposizione. Tutti i gatti hanno presentato un *exitus* positivo, mostrando una risoluzione dei sintomi neurologici tra le 2 e le 9 ore (tempo medio 4.6 ore) in seguito alla somministrazione di ILE a basse dosi. Probabilmente l'infusione di ILE può aver determinato la clearance della tossina, accelerando la risoluzione dei segni clinici e riducendo i costi di ospedalizzazione.

In un trial clinico randomizzato e controllato effettuato su un gruppo di gatti intossicati da permetrina la risoluzione dei segni clinici nel gruppo trattato con ILE è avvenuta con un tempo medio di 5.5 ore, comparato con il tempo medio di risoluzione del gruppo placebo di 16.2 ore (Peacock et al. 2015). Inoltre, in letteratura viene riportato che i gatti che ricevono un trattamento immediato e aggressivo generalmente hanno una remissione dei sintomi in 48-72 ore, fino a un massimo di 7 giorni (Linnett 2008; Sutton et al. 2007). È inoltre riportata una mortalità del 10% durante il trattamento tradizionale delle intossicazioni da permetrina (Sutton et al. 2007), a fronte di una sopravvivenza del 100% ottenuta in questo studio. Ad ogni modo, in questi casi gli agenti tossici e le vie di somministrazione sono differenti e limitano una potenziale comparazione con gli studi precedenti. Possiamo comunque supporre che il trattamento con ILE possa aver contribuito ad un miglioramento generale durante questo tipo di intossicazioni. Il meccanismo d'azione maggiormente considerato per la risoluzione dei segni clinici da molecole lipofile è quello del "lipid Shuttle" (Fettiplace & Weinberg 2018; Fernandez et al. 2011).

Nel gruppo di gatti la permetrina ha un LogP di 6.5, la moxidectina di 6, il fipronil di 3.5, l'eprinomectina di 4.4 e il praziquantel di 2.4 e di conseguenza sono tutti composti lipofili. Inoltre, le proprietà specifiche che determinano i legami tra ILE e composti non sono ancora chiare e sembra che altri meccanismi siano coinvolti nella capacità di legame: ad esempio, oltre alla lipofilia, la ionizzazione tra basi deboli e acidi e le caratteristiche fisico-chimiche delle molecole stesse (Fettiplace & Weinberg 2018).

Gli anestetici locali (es. bupivacaina) sono i composti tossici più studiati per quanto riguarda l'ILE e la letteratura in medicina umana supporta il suo utilizzo durante le manovre di rianimazione cardio-polmonare (Fettiplace & McCabe 2017).

Gli anestetici locali (*Local Anesthetics*, LA) sono generalmente somministrati per via parenterale, a differenza dei farmaci non anestetici locali (*Non Local Anesthetics*, non-LA) che sono generalmente somministrati per via orale. Non è ancora chiaro se la differenza di somministrazione influenzi l'efficacia dell'ILE e nonostante la recente letteratura non supporti l'utilizzo dell'ILE nelle intossicazioni orali (Forsberg et al. 2017), molti casi in medicina umana e in medicina veterinaria mostrano proprietà benefiche associate alle emulsioni lipidiche (Levine, Robert S Hoffman, et al. 2016). Comunque, sono necessarie ulteriori ricerche per confermarne i benefici e per validare l'utilizzo standard per gestire le intossicazioni da molecole lipofile.

Il caso del gatto "caffè" è stato esposto a differenti molecole (fipronil, S-methoprene, eprinomectina e praziquantel) che normalmente presentano grossi margini di sicurezza con la somministrazione per via cutanea. L'ingestione di questi composti può determinare segni neurologici come atassia, tremori, disorientamento, apatia e midriasi. Questi segni solitamente si risolvono spontaneamente entro 24 ore, ma in alcune rare occasioni, sono richiesti trattamenti sintomatici. A nostra conoscenza, questo è il primo caso che riporta dei sintomi neurologici in seguito all'ingestione di questi composti. Non è da escludere un effetto sinergico tra le differenti tossine che potenzialmente abbiano determinato una neurotossicità (Pelizzola et al. 2018).

Non è ancora stato identificato un protocollo standard che comprenda un dosaggio ottimale di ILE per le intossicazioni da molecole lipofile, né in medicina umana, né in medicina veterinaria. Inoltre, non esistono volumi massimi raccomandati durante l'infusione di ILE (Robben & Dijkman 2017). Per la nutrizione parenterale, è stato definito dall'FDA (*Food and Drug Administration*) un dosaggio massimo di 12.5 ml/kg entro le 24 ore (FDA Intralipid 20% 2018; Robben & Dijkman 2017) in medicina umana, ma attualmente non sono riportati dosaggi massimi per quanto riguarda il trattamento delle intossicazioni. In assenza di un consenso scientifico sulla somministrazione in corso di intossicazione da molecole lipofile molti casi clinici hanno segnalato l'utilizzo di grossi volumi di ILE. In contrasto, esistono molti effetti collaterali legati alla somministrazione di infusioni lipidiche ad alti dosaggi. Durante la nutrizione parenterale sono segnalate nelle persone diverse problematiche legate all'*overload* di volume, all'ipertrigliceremia, alle pancreatiti, alla FOS (*Fat Overload Syndrome*), all'ipertensione e all'ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*) (American College of Medical Toxicology 2017; M. R. Fettiplace et al. 2015).

Nonostante le potenziali complicazioni e gli effetti collaterali associati alla somministrazione di emulsioni lipidiche solo raramente sono stati riportati in medicina veterinaria (Robben & Dijkman 2017).

L'obiettivo di un infusione estesa di ILE è quello di mantenere la concentrazione plasmatica di trigliceridi approssimativamente all'1%, senza indurre un *overload* di lipidi. Un protocollo come quello suggerito da Fettiplace e colleghi (M. R. Fettiplace et al. 2015), sarebbe da preferire nei pazienti che potrebbero essere più soggetti a un *overload* di fluidi, come ad esempio i gatti o i cani di piccola taglia.

In questo studio, in cui sono presenti sia intossicazioni cutanee che enterali, il dosaggio utilizzato è stato caratterizzato da un infusione di ILE in CRI di 0.025 ml/kg/minuti fino a 6.5 ore, come riportato da Fettiplace e colleghi (M. R. Fettiplace et al. 2015). Comunque, il bolo iniziale, come proposto da questi ricercatori è stato somministrato in 30 minuti, invece di 3. È generalmente accettato che un bolo rapido di emulsioni lipidiche possa determinare un beneficio in quelle intossicazioni

gravi che determinano cardiotoxicità, come ad esempio quelle da anestetici locali, calcio-antagonisti o beta-bloccanti (Fettiplace & McCabe 2017; Fernandez et al. 2011). Infatti, in questo studio, come nel trial di Peacock e colleghi (Peacock et al. 2015), tutti i pazienti ammessi all'Ospedale si presentavano con segni di neurotossicità che non richiedevano procedure salvavita. Tramite questo approccio, con un bolo in un tempo prolungato si vuole ridurre il rischio di *overload* e iperlipidemia nei pazienti piccoli, come i gatti. Inoltre, un bolo iniziale di 30 minuti è stato già utilizzato in un altro caso di intossicazione da permetrina (Haworth & Smart 2012). Ad ogni modo, supponiamo che protrarre la CRI a basse dosi possa effettivamente rappresentare lo strumento per trattare gli agenti tossici con un assorbimento cutaneo ed enterale prolungato.

Non sono stati documentati gravi reazioni avverse legate al trattamento con ILE a basse dosi e la sua somministrazione sembra sicura. Due casi hanno presentato una cecità transitoria dopo l'anestesia (vedi tabella 5). Però le intossicazioni da permetrine sono cause ben conosciute in letteratura veterinaria per determinare cecità transitoria (Linnett 2008). Inoltre, non è ancora stato del tutto chiarito se l'anestesia può determinare cecità transitoria nel gatto, come riportato in alcuni casi in letteratura (Stiles et al. 2012). Lo stesso vale per l'unico caso in cui un gatto ha presentato prurito. Questo potrebbe essere indotto dall'effetto del sovradosaggio di permetrina per via cutanea (Linnett 2008). Non siamo comunque in grado di escludere un coinvolgimento dell'ILE nello sviluppo di questi effetti avversi. Tutti i soggetti nella popolazione in esame hanno recuperato la visione e non hanno mostrato altri effetti avversi a una settimana dalla dimissione.

È necessario valutare alcune limitazioni quando si interpretano i nostri dati. Ad esempio non è stato possibile effettuare delle valutazioni neurologiche costanti nella nostra popolazione, in quanto è stata necessaria un'anestesia generale con propofol in CRI in molti casi. Al fine di rivalutare clinicamente i pazienti si è deciso in maniera arbitraria, seguendo il protocollo impostato, di interrompere l'anestesia ogni 3 ore. Sfortunatamente questo tipo di approccio può aver ritardato il



riconoscimento di un miglioramento neurologico in maniera precoce, determinando una somministrazione di farmaci non necessaria e aumentando i tempi di ospedalizzazione. L'utilizzo di miorilassanti endovenosi con tempi d'azione rapidi, come il metocarbamolo, utilizzato precedentemente anche nel trial di Peacock e colleghi (Peacock et al. 2015), sarebbe stato ideale per questi pazienti, ma questo tipo di farmaco non è attualmente disponibile nel nostro Paese.

Un altro importante limite in questo studio è determinato dal fatto che non sono state misurate le concentrazioni plasmatiche di tossine prima e dopo il trattamento con emulsioni lipidiche. Questo tipo di informazione sarebbe stato fortemente utile per valutare l'effetto "shuttle" dell'ILE e le concentrazioni tossiche degli agenti presi in esame.

In conclusione, questo, a nostra conoscenza, è il primo studio che valuta intossicazioni sia per via cutanea, che per via enterale trattate con emulsioni lipidiche endovenose nel cane e nel gatto. Sono comunque necessari dei trial clinici randomizzati e controllati per valutare il dosaggio, l'efficacia e la sicurezza dell'ILE in diverse popolazioni di pazienti intossicati.



## Bibliografia

- AAGBI Safety Guideline, 2010. Management of Severe Local Anaesthetic Toxicity. Available at: [https://www.aagbi.org/sites/default/files/la\\_toxicity\\_2010\\_0.pdf](https://www.aagbi.org/sites/default/files/la_toxicity_2010_0.pdf) [Accessed October 29, 2018].
- Aksel, G. et al., 2015. Intravenous Lipid Emulsion Therapy for Acute Synthetic Cannabinoid Intoxication: Clinical Experience in Four Cases. *Case Reports in Emergency Medicine*, 2015, pp.1–5.
- American College of Medical Toxicology, 2017. ACMT Position Statement: Guidance for the Use of Intravenous Lipid Emulsion. *Journal of Medical Toxicology*, 13(1), pp.124–125.
- American College of Medical Toxicology, 2016. ACMT Position Statement: Guidance for the Use of Intravenous Lipid Emulsion. *Journal of Medical Toxicology*.
- Bates, N. et al., 2013. Lipid infusion in the management of poisoning: a report of 6 canine cases. *Veterinary Record*, 172(13), p.339. Available at: <http://veterinaryrecord.bmj.com/cgi/doi/10.1136/vr.101036>.
- Becker, M.D. & Young, B.C., 2017. Treatment of severe lipophilic intoxications with intravenous lipid emulsion : a case series. , pp.77–85.
- Berny, P. et al., 2010. Animal poisoning in Europe. Part 2: Companion animals. *Veterinary Journal*, 183(3), pp.255–259. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.03.034>.
- Besserer, F. et al., 2016. Tilmicosin toxicity: a case of accidental human tilmicosin injection managed with calcium, high-dose insulin and intravenous lipid emulsion therapy. *Clinical Toxicology*, 54(8), pp.812–813.
- Bischoff, K., Smith, M.C. & Stump, S., 2014. Treatment of Pieris Ingestion in Goats with Intravenous Lipid Emulsion. *Journal of Medical Toxicology*, 10(4), pp.411–414.
- Blum, J., Carreiro, S. & Hack, J.B., 2013. Intravenous lipid emulsion does not reverse dabigatran-induced anticoagulation in a rat model. *Academic Emergency Medicine*, 20(10), pp.1022–1025.
- Bolfer, L. et al., 2014. Treatment of ibuprofen toxicosis in a dog with IV lipid emulsion. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 50(2), pp.136–140. Available at: <http://www.jaaha.org/doi/abs/10.5326/JAaha-MS-5979>.
- Brückner, M., Schwedes, C.S. & others, 2012. Successful treatment of permethrin

- toxicosis in two cats with an intravenous lipid administration. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, 40(2), pp.129–134. Available at: <http://tpk.schattauer.de/en/contents/archive/manuscript/17549/download.html>.
- Bruenisholz, H. et al., 2012. Treatment of Ivermectin Overdose in a Miniature Shetland Pony Using Intravenous Administration of a Lipid Emulsion. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, pp.407–411.
- Brutlag, A.G. & Puschner, B., 2012. Metaldehyde. In Saunders, ed. *Small Animal Toxicology*. pp. 635–642.
- Buhl, K.J., Berman, F.W. & Stone, D.L., 2013. of suspected iron toxicosis in dogs. , 242(9).
- Caloni, F. et al., 2012. Animal poisoning in Italy: 10 years of epidemiological data from the Poison Control Centre of Milan. *Veterinary Record*, 170(16), p.415.
- Caloni, F. et al., 2014. Epidemiological study (2006-2012) on the poisoning of small animals by human and veterinary drugs. *Veterinary Record*, 174(9), p.222.
- Caloni, F. et al., 2013. Plant poisoning in domestic animals: Epidemiological data from an Italian survey (2000-2011). *Veterinary Record*, 172(22), p.580.
- Calzetta, L. et al., 2018. Geographical characteristics influencing the risk of poisoning in pet dogs: Results of a large population-based epidemiological study in Italy. *Veterinary Journal*, 235, pp.63–69. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.04.003>.
- Cave, G. et al., 2010. AAGBI Safety Guideline: Management of Severe Local Anaesthetic Toxicity. *The Association of Anaesthetists of Great Britain & Ireland*.
- Cave, G. et al., 2013. Hypertonic sodium bicarbonate versus intravenous lipid emulsion in a rabbit model of intravenous flecainide toxicity: no difference, no sink. *Clinical Toxicology*, 51(5), pp.394–397.
- Cave, G. et al., 2014. LIPAEMIC Report: Results of Clinical Use of Intravenous Lipid Emulsion in Drug Toxicity Reported to an Online Lipid Registry. *Journal of Medical Toxicology*, 10(2), pp.133–142.
- Cave, G. & Harvey, M., 2014. Should we consider the infusion of lipid emulsion in the resuscitation of poisoned patients? *Critical Care*, 18, p.457. Available at: <http://www.ccforum.com/content/pdf/s13054-014-0457-5.pdf>.
- Ceccherini, G. et al., 2015. Intravenous lipid emulsion and dexmedetomidine for treatment of feline permethrin intoxication: a report from 4 cases. *Open veterinary journal*, 5(2), pp.113–121. Available at: <http://www.ajol.info/index.php/ovj/article/view/128130>.

## BIBLIOGRAFIA

- Chu, J. et al., 2011. The effect of intravenous lipid emulsions on intravenous phenytoin toxicity. *Academic Emergency Medicine*, 18, p.s8.
- Clarke, D.L. et al., 2011. Use of intravenous lipid emulsion to treat ivermectin toxicosis in a Border Collie. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 239(10), pp.1328–1333. Available at: <http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.239.10.1328>.
- Crandell, D.E. & Weinberg, G.L., 2009. Moxidectin toxicosis in a puppy successfully treated with intravenous lipids. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 19(2), pp.181–186. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-4431.2009.00402.x>.
- Cury-Boaventura, M.F. et al., 2006. Toxicity of a Soybean Oil Emulsion on Human Lymphocytes and Neutrophils. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 30(2), pp.115–123.
- Damitz, R. & Chauhan, A., 2015. Parenteral emulsions and liposomes to treat drug overdose. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 90, pp.12–23. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2015.06.004>.
- DeClementi, C. & Sobczak, B.R., 2012. Common Rodenticide Toxicoses in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 42(2), pp.349–360.
- DeGroot, W.D., 2014. Intravenous lipid emulsion for treating permethrin toxicosis in a cat. *Canadian Veterinary Journal*, 55(1), pp.1253–1254.
- Downes, M.A., Calver, L.A. & Isbister, G.K., 2014. Intralipid therapy does not improve level of consciousness in overdoses with sedating drugs: A case series. *EMA - Emergency Medicine Australasia*, 26(3), pp.286–290.
- Dureau, P. et al., 2016. Effect of Intralipid® on the Dose of Ropivacaine or Levobupivacaine Tolerated by Volunteers. *Anesthesiology*, 125(3), pp.474–483.
- Dureau, P., Mazoit, J.-X., et al., 2014. La toxicité systémique des anesthésiques locaux peut-elle être prévenue par l’Intralipide® ? *Annales Françaises d’Anesthésie et de Réanimation*, 33S, pp.A7–A8.
- Dureau, P., Charbit, B., et al., 2014. La toxicité systémique des anesthésiques locaux peut-elle être prévenue par l’Intralipide® ? Une étude pharmacocinétique. *Annales Françaises d’Anesthésie et de Réanimation*, 33S, p.A7.
- DuVall, M.D. et al., 1989. Case studies on second-generation anticoagulant rodenticide toxicities in nontarget species. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 1(1), pp.66–68.

- Epstein, S.E. & Hollingsworth, S.R., 2013. Ivermectin-induced blindness treated with intravenous lipid therapy in a dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(1), pp.58–62.
- FDA Intralipid 20%, 2018. Intralipid® 20%.  
[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2007/017643s072,018449s039lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/017643s072,018449s039lbl.pdf), p.3.
- Fernandez, A.L. et al., 2011. The use of intravenous lipid emulsion as an antidote in veterinary toxicology. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 21(4), pp.309–320.
- Fettilplace, M. et al., 2015a. Multi-modal contributions to detoxification of acute pharmacotoxicity by a triglyceride micro-emulsion. *Journal of Controlled Release*, 198, pp.62–70. Available at:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.11.018>.
- Fettilplace, M.R. et al., 2015. Confusion About Infusion: Rational Volume Limits for Intravenous Lipid Emulsion During Treatment of Oral Overdoses. *Annals of Emergency Medicine*, 66(2), pp.185–188. Available at:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196064415000372>.
- Fettilplace, M.R. et al., 2014. Resuscitation with Lipid Emulsion: Dose-dependent Recovery from Cardiac Pharmacotoxicity Requires a Cardiotoxic Effect. *Anesthesiology*, 120(4), pp.915–925.
- Fettilplace, M.R. & McCabe, D.J., 2017. Lipid emulsion improves survival in animal models of local anesthetic toxicity : a meta-analysis. *Clinical Toxicology*, 55(7), pp.617–623.
- Fettilplace, M.R. & Weinberg, G., 2015. Past, Present, and Future of Lipid Resuscitation Therapy. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 39(1 Suppl), p.72S–83S.
- Fettilplace, M.R. & Weinberg, G., 2018. The Mechanisms Underlying Lipid Resuscitation Therapy. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 43(2), pp.138–149.
- Forsberg, M. et al., 2016. No support for lipid rescue in oral poisoning : A systematic review and analysis of 160 published cases.
- Forsberg, M. et al., 2017. No support for lipid rescue in oral poisoning: A systematic review and analysis of 160 published cases. *Human and Experimental Toxicology*, 36(5), pp.461–466.
- French, D. et al., 2011. Partition constant and volume of distribution as predictors of clinical efficacy of lipid rescue for toxicological emergencies. *Clinical Toxicology*, 49(9), pp.801–809.
- Fresenius Kabi, 2013. *Intralipid 20% Product Information Sheet*,

## BIBLIOGRAFIA

- Fresenius Kabi, 2016. Intralipid Product Information. Available at:  
[https://www.fresenius-kabi.com/au/documents/Intralipid\\_PI.pdf](https://www.fresenius-kabi.com/au/documents/Intralipid_PI.pdf).
- Geib, A.J., Liebelt, E. & Manini, A.F., 2012. Clinical Experience with Intravenous Lipid Emulsion for Drug-Induced Cardiovascular Collapse. *Journal of Medical Toxicology*, 8(1), pp.10–14.
- Gil, H.-W. et al., 2013. Effect of intravenous lipid emulsion in patients with acute glyphosate intoxication. *Clinical toxicology*, 51(8), pp.767–771.
- Ginn, H. et al., 1968. Camphor intoxication treated by lipid dialysis. *Journal of the American Medical Association*, 63(3), pp.230–231.
- Gosselin, S. et al., 2015. Methodology for AACT evidence-based recommendations on the use of intravenous lipid emulsion therapy in poisoning. *Clinical toxicology*, 53(6), pp.557–564.
- Grunbaum, A.M. et al., 2015. Review of the effect of intravenous lipid emulsion on laboratory analyses. *Clinical toxicology*, pp.1–11.
- Gwaltney-Brant, S. & Meadows, I., 2018. Intravenous Lipid Emulsions in Veterinary Clinical Toxicology. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 48(6), pp.933–942. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.07.006>.
- Gwaltney-Brant, S. & Meadows, I., 2012. Use of Intravenous Lipid Emulsions for Treating Certain Poisoning Cases in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42(2), pp.251–262. Available at:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561611002178>.
- Gwaltney-Brant, S.M., 2016. Veterinary Forensic Toxicology. *Veterinary Pathology*, 53(5), pp.1067–1077.
- Hansen, S.R. & Khan, S.A., 2017. Pyrethrins and Pyrethroids. In Saunders, ed. *Small Animal Toxicology*. pp. 769–776. Available at:  
<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids>.
- Harvey, M., Cave, G. & Shaw, T., 2013. Effect of intravenous lipid emulsion and octreotide on enteric thiopentone absorption; a pilot study. *Clinical toxicology*, 51(2), pp.117–118.
- Haworth, M.D. & Smart, L., 2012. Use of intravenous lipid therapy in three cases of feline permethrin toxicosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 22(6), pp.697–702.
- Hayes, B.D. et al., 2016. Systematic review of clinical adverse events reported after acute intravenous lipid emulsion administration. *Clinical toxicology*, pp.1–40.
- Heggen-Perry, B. et al., 2016. Intravenous Lipid Emulsion Therapy for Bromethalin Toxicity in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 52(4),

- pp.1–4. Available at: <http://jaaha.org/doi/10.5326/JAAHA-MS-6396>.
- Herring, J.M. et al., 2015. Intravenous lipid emulsion therapy in three cases of canine naproxen overdose. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 25(5), pp.672–678.
- Hiller, D.B. et al., 2010. Safety of High Volume Lipid Emulsion Infusion: A First Approximation of LD50 in Rats. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 35(2), pp.140–144.
- Hoegberg, L.C.G., Bania, T.C., Lavergne, V., Bailey, B., Turgeon, A.F., Thomas, S.H.L., Morris, M., Miller-nesbitt, A., et al., 2016. Systematic review of the effect of intravenous lipid emulsion therapy for local anesthetic toxicity. *Clinical Toxicology*, 54(3), pp.167–193.
- Hoegberg, L.C.G., Bania, T.C., Lavergne, V., Bailey, B., Turgeon, A.F., Thomas, S.H.L., Morris, M., Miller-Nesbitt, A., et al., 2016. Systematic review of the effect of intravenous lipid emulsion therapy for local anesthetic toxicity. *Clinical toxicology*, pp.1–27.
- Hovda, L.R., 2011. Antidotes and Other Useful Drugs. In G. D. Osweiler et al., eds. *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion Small Animal Toxicology*. Wiley-Blackwell, pp. 39–49.
- Johnson-Arbor, K., Salinger, L. & Luczycki, S., 2015. Prolonged Laboratory Interference After Administration of Intravenous Lipid Emulsion Therapy. *Journal of Medical Toxicology*, 11(2), pp.223–226.
- Jourdan, G. et al., 2015. Intravenous lipid emulsion therapy in 20 cats accidentally overdosed with ivermectin. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 25(5), pp.667–671.
- Kaplan, A. & Whelan, M., 2012. The use of IV lipid emulsion for lipophilic drug toxicities. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 48(4), pp.221–227. Available at: <http://www.jaaha.org/doi/abs/10.5326/JAAHA-MS-5761>.
- Kasnavieh, F. et al., 2013. Intravenous lipid emulsion for the treatment of tricyclic antidepressant toxicity a randomized controlled trial. In *VIIIth Mediterranean Emergency Medicine Congress*. Marseille, France.
- Khan, S.A., 2012. Differential Diagnosis of Common Acute Toxicologic Versus Nontoxicologic Illness. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 42(2), pp.389–402. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvs.2012.01.001>.
- Khorzad, R. et al., 2012. Baclofen toxicosis in dogs and cats: 145 cases (2004–2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241(8), pp.1059–1064.
- Kormpou, F. et al., 2018. Use of Intravenous Lipid Emulsion in Dogs With Suspected



## BIBLIOGRAFIA

- Tremorgenic Mycotoxicosis : 53 Cases. *Veterinary Evidence*, 3(2), pp.1–6.
- Krieglstein, J., Meffert, A. & Niemeyer, D.H., 1975. Influence of emulsified fat on chlorpromazine availability in rabbit blood. *Experientia*, 30(8), pp.924–926.
- Kuo, I. & Akpa, B.S., 2013. Validity of the lipid sink as a mechanism for the reversal of local anesthetic systemic toxicity: a physiologically based pharmacokinetic model study. *Anesthesiology*, 118(6), pp.1350–61.
- Kuo, K. & Odunayo, A., 2013. Adjunctive therapy with intravenous lipid emulsion and methocarbamol for permethrin toxicity in 2 cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(4), pp.436–441.
- Lee, J.A., 2015. Approach to Drug Overdose. In D. C. Silverstein & K. Hopper, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. Elsevier Saunders, pp. 385–389.
- Lee, J.A., 2013. Emergency management and treatment of the poisoned small animal patient. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 43(4), pp.757–771. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.03.010>.
- Levine, M. et al., 2014. Complications Following Antidotal Use of Intravenous Lipid Emulsion Therapy. *Journal of Medical Toxicology*, 10(1), pp.10–14.
- Levine, M., Hoffman, R.S., et al., 2016. Systematic review of the effect of intravenous lipid emulsion therapy for non-local anesthetic toxicity. *Clinical Toxicology*, pp.1–28.
- Levine, M., Hoffman, R.S., et al., 2016. Systematic review of the effect of intravenous lipid emulsion therapy for non-local anesthetics toxicity. *Clinical Toxicology*, 54(3), pp.194–221.
- Li, Q. et al., 2014. Intravenous lipid emulsion improves recovery time and quality from isoflurane anaesthesia: a double-blind clinical trial. *Basic and Clinical pharmacology and Toxicology*, 115(2), pp.222–228.
- Linnett, P.J., 2008. Permethrin toxicosis in cats. *Australian Veterinary Journal*, 86(1–2), pp.32–35.
- Litz, R.J. et al., 2006. Successful resuscitation of a patient with ropivacaine-induced asystole after axillary plexus block using lipid infusion. *Anaesthesia*, 61(8), pp.800–801.
- Marwick, P.C., Levin, A.I. & Coetzee, A.R., 2009. Recurrence of cardiotoxicity after lipid rescue from bupivacaine-induced cardiac arrest. *Anesthesia and Analgesia*, 108(4), pp.1344–1346.
- Maton, B.L. et al., 2013. The use of high-dose insulin therapy and intravenous lipid emulsion to treat severe, refractory diltiazem toxicosis in a dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(3), pp.321–327.

- Matsumoto, H. et al., 2015. Effect of lipid emulsion during resuscitation of a patient with cardiac arrest after overdose of chlorpromazine and mirtazapine. *The American journal of emergency medicine*, 33(10), p.1541.e1-1541.e2.
- Mazoit, J.X. et al., 2009. Binding of long-lasting local anesthetics to lipid emulsions. *Anesthesiology*, 110(2), pp.380–386.
- McLean, M.K. & Hansen, S.R., 2012. An Overview of Trends in Animal Poisoning Cases in the United States: 2002-2010. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 42(2), pp.219–228. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.12.009>.
- McNally, J., Boesen, K. & Boesen, K.G., 2012. Toxicologic Information Resources. In *Small Animal Toxicology*. Saunders, pp. 20–26.
- Michel, K.E. & Eirmann, L., 2015. Parenteral Nutrition. In D. C. Silverstein & K. Hopper, eds. *Small animal critical care medicine*. Elsevier Saunders, p. 687–690.
- Mirtallo, J.M. et al., 2010. State of the art review: Intravenous fat emulsions: Current applications, safety profile, and clinical implications. *Annals of Pharmacotherapy*, 44(4), pp.688–700.
- Moshiri, M. et al., 2014. Evaluating the effects and safety of intravenous lipid emulsion on haloperidol-induced neurotoxicity in rabbit. *BioMed Research International*, 2014, pp.1–9.
- Muentener, C.R., Spicher, C. & Page, S.W., 2013. Treating permethrin poisoning in cats. *Veterinary Record*, 172, p.643.
- Murphy, M. & Talcot, P., 2013. Anticoagulant Rodenticides. In *Peterson & Talcott Small Animal Toxicology*. Elsevier Saunders, pp. 435–445.
- Neal, J.M. et al., 2010. ASRA practice advisory on local anesthetic systemic toxicity. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 35(2), pp.152–161.
- Neal, J.M., Mulroy, M.F. & Weinberg, G.L., 2012. American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine checklist for managing local anesthetic systemic toxicity: 2012 version. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 37(1), pp.16–18.
- Nikolac, N., 2014. Lipemia: Causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochemia Medica*, 24(1), pp.57–67.
- Ok, S.-H. et al., 2011. Lipid emulsion reverses Levobupivacaine-induced responses in isolated rat aortic vessels. *Anesthesiology*, 114(2), pp.293–301.
- Ozcan, M.S. & Weinberg, G., 2012. Intravenous lipid emulsion for the treatment of drug toxicity. *Journal of intensive care medicine*, 29(2), pp.59–70.
- Peacock, R.E. et al., 2015. A randomized, controlled clinical trial of intravenous lipid

## BIBLIOGRAFIA

- emulsion as an adjunctive treatment for permethrin toxicosis in cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 25(5), pp.597–605.
- Pelizzola, M. et al., 2018. Low-dose intravenous lipid emulsion as a safe treatment for lipophilic intoxications in five cats. *Veterinary Record Case Reports*, 6(4), p.e000663. Available at: <http://vetrecordcasereports.bmj.com/lookup/doi/10.1136/vetreccr-2018-000663>.
- Perichon, D. et al., 2013. An assessment of the in vivo effects of intravenous lipid emulsion on blood drug concentration and haemodynamics following orogastric amitriptyline overdose. *Clinical toxicology*, 51(4), pp.208–215.
- Petersen, K.M. et al., 2018. Effects of high-dose, intravenous lipid emulsion on laboratory tests in humans: a randomized, placebo-controlled, double-blind, clinical crossover trial. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 0(0). Available at: <http://www.degruyter.com/view/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2018-0430/cclm-2018-0430.xml>.
- Pollio, D. et al., 2016. Electroretinographic changes after intravenous lipid emulsion therapy in a dog and a foal with ivermectin toxicosis. *Veterinary Ophthalmology*, pp.1–6.
- Purg, D. et al., 2016. Low-dose intravenous lipid emulsion for the treatment of severe quetiapine and citalopram poisoning. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 67(2), pp.164–166.
- Puschner, B. & Brutlag, A.G., 2012. Approach to Diagnosis for the Toxicology Case. In *Small Animal Toxicology*. Saunders, pp. 43–52.
- Rahman, S. et al., 2011. Phosphorylation of GSK-3 $\beta$  Mediates Intralipid-induced Cardioprotection against Ischemia/Reperfusion Injury. *Anesthesiology*, 115(2), pp.242–253.
- Robben, J.H. & Dijkman, M.A., 2017. Lipid Therapy for Intoxications. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 47(2), pp.435–450. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.10.018>.
- De Roma, A. et al., 2017. Metaldehyde poisoning of companion animals: A three-year retrospective study. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 61(3), pp.307–311.
- Rosenblatt, M.A. et al., 2006. Successful Use of a 20 % Lipid Emulsion to Resuscitate a Patient after a Presumed Bupivacaine-related Cardiac Arrest. , (1), pp.217–221.
- Russel RL, W.B., 1962. Alleviation barbiturate. *Anesthesia & Analgesia*, 41(5), pp.582–585.
- Sampson, C.S., 2015. Lipid emulsion therapy given intraosseously in massive

- verapamil overdose. *American Journal of Emergency Medicine*, 33(12), p.1844.e1.
- Saqib, M., Abbas, G. & Mughal, M.N., 2015. Successful management of ivermectin-induced blindness in an African lion (*Panthera leo*) by intravenous administration of a lipid emulsion. *BMC Veterinary Research*, 11(1), pp.1–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-015-0603-6>.
- Sebe, A. et al., 2015. Role of intravenous lipid emulsions in the management of calcium channel blocker and beta-blocker overdose: 3 years experience of a university hospital. *Postgrad Med*, 127(2), pp.119–124.
- Seger, D. & Meulenbelt, J., 2004. Position paper: Gastric lavage. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 42(7), pp.933–943.
- Seitz, M.A. & Burkitt-Creedon, J.M., 2016. Persistent gross lipemia and suspected corneal lipidosis following intravenous lipid therapy in a cat with permethrin toxicosis. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 00(0), pp.1–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26748969>.
- Shah, A. & Sawchuk, R., 1991. effect of co-administration of intralipid on pharmacokinetics of cyclosporine in the rabbit. *BIOPHARMACEUTICS & DRUG DISPOSITION*, 12(February), pp.457–466.
- Sirianni, A.J. et al., 2008. Use of Lipid Emulsion in the Resuscitation of a Patient With Prolonged Cardiovascular Collapse After Overdose of Bupropion and Lamotrigine. *Annals of Emergency Medicine*, 51(4), pp.412–415.
- Smirniotis, V. et al., 1999. Incidence of vein thrombosis in peripheral intravenous nutrition: Effect of fat emulsions. *Clinical Nutrition*, 18(2), pp.79–81.
- Stehr, S.N. et al., 2007. The effects of lipid infusion on myocardial function and bioenergetics in L-bupivacaine toxicity in the isolated rat heart. *Anesthesia and Analgesia*, 104(1), pp.186–192.
- Stiles, J. et al., 2012. Post-anesthetic cortical blindness in cats: Twenty cases. *Veterinary Journal*, 193(2), pp.367–373. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.01.028>.
- Straathof, D. et al., 1984. Influence of Intralipid infusion on the elimination of phenytoin. *Pharmacodynamie et de Therapie*, 267(2), pp.180–186.
- Sutton, N.M., Bates, N. & Campbell, A., 2007. Clinical effects and outcome of feline permethrin spot-on poisonings reported to the Veterinary Poisons Information Service (VPIS), London. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(4), pp.335–339.
- Taftachi, F. et al., 2012. Lipid emulsion improves Glasgow Coma Scale and decreases blood glucose level in the setting of acute non-local anesthetic drug

## BIBLIOGRAFIA

- poisoning - A randomized controlled trial. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16(1), pp.38–42.
- Tse, J. et al., 2015. The use of intravenous lipid emulsion therapy in acute methamphetamine toxicity. *The American Journal of Emergency Medicine*. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735675715011110>.
- Turner-Lawrence, D.E. & Kerns II, W., 2008. Intravenous fat emulsion: a potential novel antidote. *Journal of medical toxicology*, 4(2), pp.109–14.
- Waitzberg, D.L., Torrinhas, R.S. & Jacintho, T.M., 2006. New parenteral lipid emulsions for clinical use. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 30(4), pp.351–367.
- Wanten, G.J.A. & Calder, P.C., 2007. Immune modulation by parenteral lipid emulsions. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85, pp.1171–1184.
- Weinberg, G. et al., 2003. Lipid emulsion infusion rescues dogs from bupivacaine-induced cardiac toxicity. *Regional anesthesia and pain medicine*, 28(3), pp.198–202. Available at: [http://journals.lww.com/rapm/Abstract/2003/05000/Lipid\\_Emulsion\\_Infusion\\_Rescues\\_Dogs\\_From.5.aspx](http://journals.lww.com/rapm/Abstract/2003/05000/Lipid_Emulsion_Infusion_Rescues_Dogs_From.5.aspx).
- Weinberg, G.L. et al., 1998. Pretreatment or resuscitation with a lipid infusion shifts the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats. *Anesthesiology*, 88(4), pp.1071–1075.
- Westrol, M.S. et al., 2015. Use of an Intravascular Heat Exchange Catheter and Intravenous Lipid Emulsion for Hypothermic Cardiac Arrest After Cyclobenzaprine Overdose. *Therapeutic Hypothermia and Temperature Management*, 5(3), pp.1–6.
- Williams, K., Wells, R.J. & Mclean, M.K., 2015. Suspected synthetic cannabinoid toxicosis in a dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 25(6), pp.729–744.
- Wong, G.K., Joo, D.T. & McDonnell, C., 2010. Lipid resuscitation in a carnitine deficient child following intravascular migration of an epidural catheter. *Anaesthesia*, 65(2), pp.192–195.
- Wright, H.M. et al., 2011. Intravenous fat emulsion as treatment for ivermectin toxicosis in three dogs homozygous for the ABCB1-1 $\Delta$  gene mutation. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 21(6), pp.666–672.



