



il giornale del kurzhaar

N° 1 - Giugno 2007

L'EPIDERMOLISI BOLLOSA LA "PRODUZIONE SELEZIONATA" E L'ANALISI DEL DNA

di Cesare Bonasegale

*Genetica dell'epidermolisi, la convenzione con VETOGENE.
Modalità dell'analisi del DNA e Produzione Selezionata*

L'Epidermolisi Bollosa è una patologia trasmessa geneticamente, a causa della quale i cuccioli muoiono nei primissimi mesi di vita. Di questa patologie sono state identificate tre forme e cioè la Epidermolisi Bollosa Semplice, la forma di tipo Giunzionale e la forma Distrofica.

Quella riscontrata nel Kurzhaar è del tipo Giunzionale che qui di seguito – per brevità – viene chiamata JEB.

L'origine della patologia è riconducibile alla mutazione di un gene che l'intensa selezione – probabilmente con elevata consanguineità – ha introdotto nel patrimonio genetico della razza.

A beneficio dei Soci del Kurzhaar Club italiano che non avessero dimestichezza con la materia, spiegherò in termini molto elementari questo fenomeno.

I geni, responsabili delle singole caratteristiche del cane (... e non solo del cane) sono sempre in coppia, uno trasmesso dal padre ed uno dalla madre. Quando i due geni che formano la coppia sono uguali si di-

cono **omozigoti**; quando sono differenti si dicono **eterozigoti**. Di norma, i geni si dividono in "**dominanti**" e "**recessivi**" (ma esistono eccezioni); analogamente una caratteristica del cane (come, per esempio, il colore del mantello) si dice "dominante" o "recessiva" a seconda che sia la manifestazione di un gene "dominante" o "recessivo". Per restare in questo esempio, il mantello nero si dice "dominante" perché il gene che lo determina è dominante rispetto al gene che produce il mantello marrone. All'interno della coppia di geni, il gene **dominante** viene convenzionalmente rappresentato da una lettera **maiuscola**, il **recessivo** con la stessa lettera, ma **minuscola**. Quando la coppia di geni è eterozigote (cioè composta da due geni differenti), si manifesta la caratteristica determinata dal gene dominante.

Il gene responsabile della JEB è recessivo ed allorché la coppia è omozigote (formata cioè da due geni di questo tipo) il cucciolo non sopravvive e la morte sopraggiunge in giovanissima età a seguito di incurabili vesciche e piaghe, soprat-

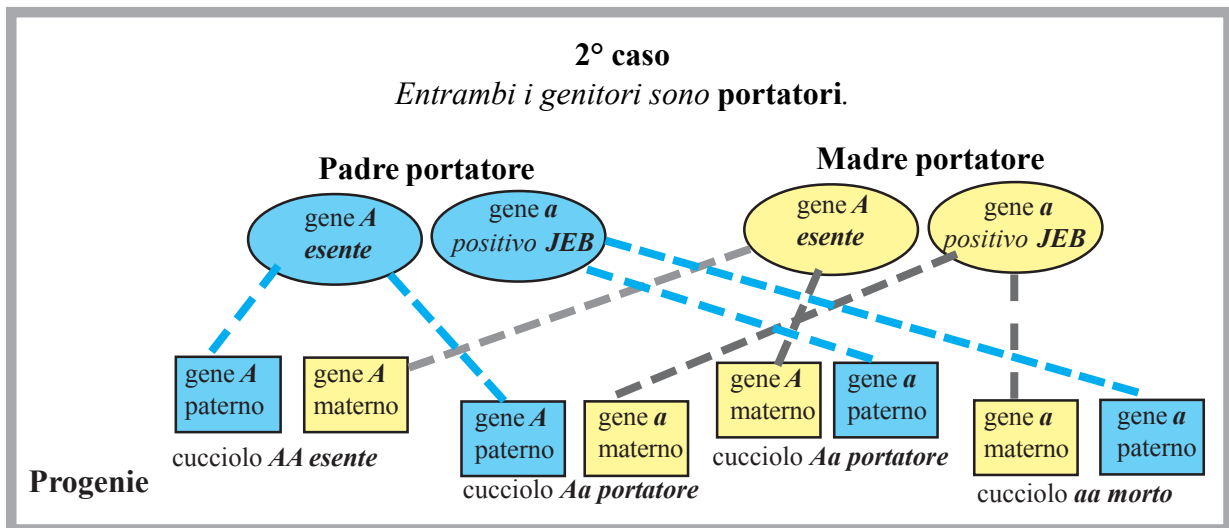
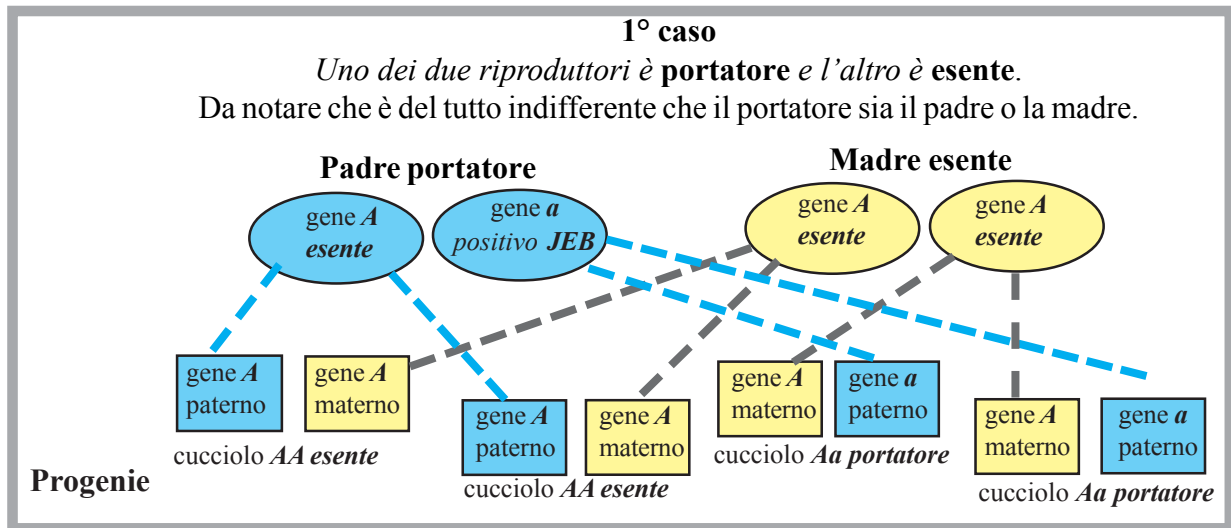
tutto sui polpastrelli. Di fatto quindi non esistono adulti potenziali riproduttori che siano espressione omozigote dei geni responsabili della JEB.

Se solo uno dei due geni della coppia è del tipo che determina la JEB, il cane è a tutti gli effetti sano, ma potenziale portatore genetico della patologia. Insisto che il "**portatore**" è un soggetto assolutamente sano e può essere identificato solo mediante l'analisi del suo DNA.

Vediamo nelle tabelle riprodotte nella pagina seguente cosa accade allorché si utilizzano riproduttori **portatori** di JEB.

Fermo restando che le combinazioni dei geni del padre e della madre per la formazione delle coppie dei geni nei cuccioli è casuale, nel **1° caso** si avrà che se uno dei due genitori è portatore, vi sarà il 50% di probabilità di avere cuccioli portatori. In media cioè, su sei cuccioli, le probabilità sono che tre siano portatori e tre siano esenti.

Nel **2° caso** le probabilità saranno di avere il 25% di cuccioli esenti, il 50% di cuccioli portatori ed il 25% di cuccioli destinati a morire.



Questo essendo il quadro essenziale della genetica di questa patologia, è importante sottoporre i riproduttori all'esame del DNA per evitare l'inconsapevole accoppiamento di due soggetti portatori.

L'accoppiamento invece in cui uno solo dei genitori è "portatore" è ragionevolmente ammissibile solo a condizione che:

- ◆ il riproduttore "portatore" abbia altre qualità di rilievo che ne raccomandano l'impiego in allevamento;
- ◆ i cuccioli nati dall'accoppiamento siano sottoposti all'esame del DNA prima della loro cessione per identificare quelli che sono portatori e quindi renderne

edotti coloro ai quali sono destinati.

In quest'ultimo caso, si raccomanda di effettuare il prelievo dei campioni biologici dopo aver impiantato il microchip, così da disporre di un inequivocabile sistema di identificazione che collega il campione biologico al cucciolo da cui è stato prelevato.

In effetti, quando l'ENCI disporrà di una ampia banca dati, sarà possibile evitare l'analisi del DNA, ogniqualvolta sarà documentato che entrambi i genitori del cane erano "esenti".

L'Epidermolisi Bollosa è presente non solo nel Kurzhaar, ma anche in altre razze, in cui però sembra che

l'incidenza dei soggetti portatori sia molto rara.

(Per inciso, la stessa patologia è presente anche nei cavalli, nei bovini e persino nell'uomo, per il quale si stanno sperimentando "terapie geniche").

Per il Kurzhaar non esistono dati statistici che forniscano una dimensione quantitativa del fenomeno, però è opinione corrente che in questa razza la patologia sia relativamente più frequente. Certo è che l'Epidermolisi non è nata oggi, ma solo da relativamente pochi anni è stata identificata la sua origine genetica.

Quanto concreta è la minaccia della JEB?

Quanto è frutto di psicosi cinofila?

Quanto è frutto di “caccia alle streghe”?

Sono quesiti ai quali non so rispondere. Sono però convinto che su questo tema si stia facendo più rumore del necessario e più fumo che arrosto.

Sta di fatto che negli ultimi 12 mesi ho inutilmente contattato allevatori di Kurzhaar e veterinari per soddisfare la richiesta di un cucciolo morto per JEB, da consegnare ad un istituto di Ricerca: nulla da fare, sono introvabili, quasi mosche bianche.

La mia lettura è che i “portatori” sono pochi, quindi le probabilità che due portatori vengano accoppiati fra di loro sono estremamente remote, da cui il fatto che i cuccioli morti per JEB sono vere e proprie rarità.



Da circa un anno si sta diffondendo la pratica di sottoporre i cani ad analisi del DNA ai fini della loro identificazione certa e della verifica della veridicità del loro pedigree. L'intento cioè è di identificare il DNA dei riproduttori affinché sia in un secondo tempo possibile confermare se la paternità/maternità dei loro cuccioli è veritiera.

In altre parole è un provvedimento antifrode.

La nostra cinofilia è tanto corrotta da necessitare simili interventi?

Le razze sono state create ed hanno prosperato senza nessuna verifica del genere: possibile che ai nostri giorni l'onestà degli allevatori si è deteriorata a tal punto da aver bisogno del DNA per credere ai nostri pedigree?

Personalmente sono molto perplesso e scettico in proposito. Ma quel che penso io non conta!

Conta invece il fatto che il Ministero delle Politiche Agricole e Fore-

stali ha emanato Disciplinari – ispirati da cinofili politicamente influenti – contenenti norme che complicano la cinofilia con l'istituzione del Registro dei Riproduttori Selezionati. Di fatto, queste norme non sono ancora operanti a causa dei ritardi nell'adeguamento del sistema informatico dell'ENCI, ma è solo questione di tempo, forse di mesi, perché l'ENCI non può protrarre oltre certi limiti una palese inadempienza ai dettati del Ministero.

In pratica, il Registro dei Riproduttori Selezionati avrà l'effetto di distinguere i cuccioli di “seria A” (i cui genitori sono iscritti nel summenzionato Registro) da quelli normali, che agli occhi del pubblico diventano di “serie B”, il tutto con prevedibili conseguenze sul prezzo dei cuccioli privilegiati, che avranno il pedigree stampato su di un foglio di colore diverso.

Per essere iscritti nel Registro dei Riproduttori Selezionati, i cani devono essere sottoposti a verifiche zootecniche (cioè ad expo e – per i cani da lavoro – a prove). Oltre a ciò, per le razze in cui sono significativamente presenti patologie ereditarie, i cani devono essere certificati esenti dalle patologie medesime. Le Società Specializzate di razza sono responsabili di stabilire quali sono le patologie genetiche da porre sotto controllo e la qualifica minima da ottenere in prova ed in expo. (Ed in questo senso se ne son viste delle belle: per esempio la SABI ha richiesto la verifica della displasia sia dell'anca che dei gomiti per il Bracco italiano, in cui le displasie sono men che sporadiche. Quindi tre radiografie e relative letture con grande gaudio dei veterinari!). Oltre a ciò, condizione imprescindibile per l'iscrizione nel Registro dei Riproduttori Selezio-

nati è l'identificazione del DNA.

Una disposizione contenuta nell'art. 8 delle ultime Norme Tecniche emanate dal Ministero prevede inoltre che uno stallone che ha fatto 5 monte, può continuare a riprodurre solo a condizione di presentare l'identificazione del suo DNA. Altrettanto dicasi per i cani Campione di Lavoro o di Bellezza, la cui proclamazione è subordinata alla certificazione identificativa del DNA.

Da ultimo, se nella denuncia delle cucciolate non vengono rispettati i termini temporali imposti dall'ENCI, i cuccioli possono essere iscritti solo se l'analisi del loro DNA e dei loro genitori conferma la veridicità della paternità/maternità dichiarata.

In particolare per i Kurzhaar, oltre a tutto quanto sopra – su richiesta del Consiglio Direttivo del Kurzhaar Club Italiano – l'iscrizione al Registro dei Riproduttori Selezionati, nonché la proclamazione del Campionato di Lavoro o di Bellezza è subordinata alla certificazione attestante l'esame del DNA per quanto riguarda la JEB.

Una nota a conclusione di questo argomento: visto che – ci piaccia o no – la Produzione Selezionata entrerà prima o poi in vigore, vediamo di intenderla nel modo più costruttivo. I Riproduttori Selezionati non vanno intesi come una sparuta elite, bensì devono essere i cani che danno la garanzia di possedere i requisiti essenziali che contraddistinguono una razza dal punto di vista morfologico, funzionale e di salute fisica. La validità del concetto è fatta salva se i Riproduttori Selezionati sono abbastanza tipici ed allo stesso tempo sufficientemente bravi e ragionevolmente sani, evitando così, per esempio, che vengano usati in riproduzione cani ma-

gari belli, ma che hanno paura dello sparo. L'istituto della Produzione Selezionata avrà un significato positivo solo se includerà un alto numero di riproduttori; se invece saranno pochi, sarà un aborto. Ecco perché è fundamentalmente sbagliato il principio seguito da alcune Società Specializzate (cito ancora la SABI in senso negativo) che vogliono tenere molto alto il livello di accettazione dei Riproduttori Selezionati, chiedendo come minimo l'Ecc. in prove ed in Expo. Così facendo, fra l'altro, si mettono nella ridicola situazione di avere cani che, pur essendo Campioni di Lavoro o di Bellezza, non possono far parte della produzione Selezionata perché per il Campionato di Lavoro basta il M.B. in Expo, e per il Campionato di Bellezza basta il M.B. in prova.



E vediamo ora la questione dell'analisi del DNA. Chiariamo innanzitutto che l'analisi del DNA per l'identificazione e la conseguente diagnosi di parentela è del tutto diversa dall'analisi del DNA mirata a stabilire se il cane è portatore di JEB. Sono cioè due analisi diverse, attuate con reagenti diversi e metodologie diverse. L'analisi per la JEB veniva fatta da un laboratorio francese – la Labogena – che manteneva il suo rapporto amministrativo ed informativo direttamente con il Kurzhaar Club Italiano (e ciò è stato causa di disguidi e disagi). Come dire che l'esito dell'analisi veniva comunicato al Club; ed era il Club a pagare, facendosi ovviamente rimborsare dai cinofili. Oltre a ciò, la Labogena non era accreditata presso l'ENCI e la sua banca dati non era direttamente connessa e disponibile per il nostro Ente cinofilo nazio-

nale. Da notare che il Protocollo ENCI in materia dispone che i dati ricavati dalle analisi genetiche fatte dai laboratori accreditati è proprietà dell'ENCI. E questo non era il caso della Labogena. Però sino a pochi mesi fa, in Italia non esisteva un laboratorio in grado di fare questa analisi, le cui modalità esecutive si diceva fossero per altro coperte da un brevetto della Labogena. Quindi non esisteva alternativa. In termini quantitativi, nel corso degli ultimi quattro anni la Labogena ha effettuato il controllo per la JEB su circa 300 Kurzhaar, ovvero suppergiù sull'1% della popolazione italiana di questa razza. A seguito dell'interessamento del Kurzhaar Club Italiano, che mi ha coinvolto personalmente, è stato attivato un laboratorio italiano – la Vetogene, emanazione dell'Istituto di zootecnica dell'Università di Milano – che è accreditata presso l'ENCI e che ha messo a punto una sua metodologia di analisi del DNA mirata ad accertare la presenza di geni responsabili della JEB, superando così l'ostacolo rappresentato dal brevetto Labogena. La Vetogene inoltre esegue anche le analisi del DNA per identificazione e la diagnosi di parentela, mettendo come previsto la sua banca dati a disposizione dell'ENCI. Ciò è importante perché per essere certi dell'identità del cane analizzato per la JEB **è indispensabile effettuare dal medesimo campione biologico anche l'esame del DNA a scopo identificativo**. In questo modo chi attribuisse al cane Tizio il campione di sangue prelevato dal cane Caio, vedrebbe negata l'iscrizione ai libri genealogici di tutti i cani nati da Tizio per incompatibilità parentale. Con la Labogena ciò non era possibile perché, non rispettando i requisiti di cui al Protocollo ENCI,

i dati identificativi del DNA da lei rilevati non erano utilizzabili per la diagnosi parentale.

Il K.C.I. ha recentemente firmato una convenzione con la Vetogene che regola i rapporti fra i suoi Soci ed il laboratorio medesimo. In base a questa convenzione si avrà che:

- ◆ i Soci del K.C.I. invieranno direttamente per posta i campioni biologici, allegando il tagliando attestante il versamento sul c.c. postale della Vetogene a copertura del costo dell'analisi. Il rapporto sarà quindi diretto fra il laboratorio ed i Soci del Club.
- ◆ la Vetogene accuserà ricevuta dei campioni e dei pagamenti mediante emissione di relativa fattura e comunicherà l'esito delle analisi solo al proprietario del cane, mettendo nel contempo a disposizione della banca dati dell'ENCI i risultati delle analisi.



Affrontiamo ora il tema del sistema di prelievo dei campioni biologici che in queste note sono rappresentati unicamente dal sangue (escludendo cioè pelo e saliva). Il campione di sangue può essere prelevato mediante provette, oppure utilizzando le Vet Kard, un brevetto americano commercializzato in Italia dalla Prion Diagnostica di Rho (MI). La Vet Kard è un tamponcino di dimensioni molto contenute (suppergiù come una bustina di fiammiferi Minerva). Il tamponcino viene impregnato con una goccia di sangue prelevata pungendo il labbro del cane con uno spillone sterile fornito assieme alla Vet Kard; quindi il prelievo di sangue è

molto facile. I campioni biologici così ottenuti vengono agevolmente spediti al laboratorio d'analisi con una comune busta da lettera. Altro non trascurabile vantaggio della Vet Kard (a beneficio dei laboratori d'analisi) è la facilità di stoccaggio ed archiviazione dei campioni di sangue rispetto ad una provetta.

Va però tenuto presente che:

- ◆ la Prion Diagnostica non vende direttamente al pubblico, ma solo a laboratori d'analisi e a clienti istituzionali, come per esempio a Società Specializzate di razza.
- ◆ la Vet Kard è stata creata specificamente per i prelievi di sangue destinati all'analisi del DNA a scopo identificativo e per questa finalità sono estremamente funzionali. Purtroppo le

esperienze fin qui fatte su analisi del DNA per la JEB hanno evidenziato una serie di problemi dovuti al tipo di preservanti utilizzati nella Vet Kard, che costringono il laboratorio a ripetere l'analisi quattro o cinque volte prima di ottenere un risultato sicuro. Il che ovviamente comporta tempi e costi insopportabili. Quindi, allo stato attuale delle cose, le Vet Kard non sono utilizzabili per il prelievo di sangue destinato all'analisi della JEB.

Prove sono state eseguite con altre marche di tamponcini per prelievi biologici presenti sul mercato in altri Paesi, riscontrando però gli stessi problemi delle Vet Kard. Quindi allo stato attuale delle cose, per poter eseguire dallo stesso campione

di sangue l'analisi del DNA sia per l'identificazione che per la JEB, si deve per forza fare uso delle tradizionali provette che – soprattutto per i cuccioli – sono decisamente meno comode delle Vet Kard. Se in futuro ci saranno novità in proposito, non mancherò di portarle tempestivamente a conoscenza dei Soci del Kurzhaar Club.



Ultimo capitolo riguarda la dolente nota dei costi.

Per ogni analisi il costo è di 35 Euro + IVA (prezzo praticato ai Soci del Club convenzionato).

Ciò significa che, nel caso in cui si debba sottoporre il cane alle due analisi del DNA – per l'identificazione e per la JEB – il costo sarà la non trascurabile somma di 70 Euro + IVA. Il versamento e la spedizione vanno fatti come segue:

MODALITA' DI PAGAMENTO: CONTO CORRENTE POSTALE: n° 67808832

Intestato a Vetogene s.r.l.

via Celoria, n°10 20133 Milano

Causale: Analisi genetica n°.....cani di razza.....indicando:

Nome Cognome e indirizzo del proprietario

(o della persona cui va intestata la fattura, se differente).

In caso di Società specificare Cod. fisc. o Partita IVA.

DOCUMENTI: all'interno del contenitore dei campioni di sangue bisogna allegare:

Matrice del Bollettino Postale.

Modulo di prelievo contenente i dati della Persona (allevamento, società ecc.) a cui intestare la Fattura emessa dalla Vetogene s.r.l.

Il modulo è scaricabile dal sito del Kurzhaar Club italiano (www.kurzhaarclubitaliano.com).

INTESTAZIONE PACCO di SPEDIZIONE: Vetogene

All'attenzione del Dr. Polli Michele

Istituto Zootecnica

Facoltà Medicina Veterinaria

via Ponzio n°7 20133 Milano