



ASSOCIAZIONE ITALIANA
DI PATOLOGIA VETERINARIA

AIPVet

ASSOCIAZIONE ITALIANA DI PATOLOGIA VETERINARIA

ATTI IX CONGRESSO NAZIONALE

ISSN 1825 - 2265



Perugia

25-26 Maggio 2012

Premio Ennio Sanna 2012

IL LINFOMA NASALE DEL GATTO: VALUTAZIONE CITOLOGICA, ISTOLOGICA E IMMUNOISTOCHEMICA.

Santagostino S.F., Mortellaro C.M., Avallone G., Caniatti M., Forlani A., Roccabianca P.

Premi Rosario Preziosi 2012

VALUTAZIONE BIOCHIMICA ED ELETTROFORETICA DELLE HDL NEL VITELLO: DIFFERENZA CON I VALORI DELL'ADULTO E CORRELAZIONE CON PROTEINE INFIAMMATORIE.

Giordano A., Rossi G., Moretti P., Venturini M., Paltrinieri S.

LA HEAT SHOCK PROTEIN 90 (HSP90) E' ASSOCIATA ALL'EVOLUZIONE IPERPLASTICA E NEOPLASTICA DELLA PROSTATA DEL CANE.

Palmieri C., Mancini M., Benazzi C., Della Salda L.

Premio comunicazione presentata dal più giovane patologo

TUMORE MAMMARIO CANINO: ESPRESSIONE DEI RECETTORI DI ESTROGENO E PROGESTERONE IN DIVERSI SOTTOTIPI TUMORALI.

Mainenti M., Rasotto R., Zappulli V.

La successione delle presentazioni in questo volume degli Atti riflette, sia per le comunicazioni orali che per i poster, l'ordine di elencazione nel programma definitivo.

Relazione a invito

Patologia delle malattie infettive del cavallo.
Del Piero Fabio

Comunicazioni

FENOTIPO MOLECOLARE DEI TUMORI MAMMARI DELLA GATTA: CORRELAZIONE TRA TUMORE PRIMARIO E RELATIVA METASTASI LINFONODALE.

Brunetti B., Asproni P., Beha G., Muscatello L.V., Millanta F., Poli A., Benazzi C., Sarli G.

TUMORE MAMMARIO CANINO: ESPRESSIONE DEI RECETTORI DI ESTROGENO E PROGESTERONE IN DIVERSI SOTTOTIPI TUMORALI.

Mainenti M., Rasotto R., Zappulli V.

IL RUOLO CONTROVERSO DELL'ONCOGENE HER-2 NEI TUMORI MAMMARI DEL CANE: STUDIO GENOMICO E PROTEOMICO.

Burrai G.P., De Miglio M.R., Tanca A., Addis M.F., Pagnozzi D., Polinas M., Rocca S., Cubeddu T., Pirino S., Antuofermo E.

ESPRESSIONE DELLE CONNESSINE 26, 32 E 43 NELLE NEOPLASIE MAMMARIE DELLA CAGNA.

Martano M., De Vico G., Ceccarelli D., Restucci B.

MUCINOSI DUTTALE APOCRINA IN UN GATTO AFFETTO DA FOLLICOLITE MURALE MUCINOTICA DEGENERATIVA.

Polinas M., Dedola C., Pinna Parpaglia M.L., Sanna M.A., Nuvoli S., Burrai G.P., Pirino S., Antuofermo E.

SARCOIDE EQUINO, PDGF β -R ED IMATINIB MESILATO: UN APPROCCIO DI MEDICINA TRASLAZIONALE.

Corteggio A., Altamura G., Roperto S., Roperto F., Borzacchiello G.

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLE PATOLOGIE DEL PESCE SPADA (*Xiphias gladius*): QUADRI ANATOMO-ISTOPATOLOGICI.

Marino F., Lanteri G., Mazzullo G., Gaglio G., Macrì B.

LESIONI PODALI NELLA CORNACCHIA GRIGIA (*Corvus corone cornix*).

Scaglione F.E., Chiappino L., Sereno A., Ferroglio E., Pasquetti M., Peano A., Bollo E.

RED MARK SYNDROME IN TROTA IRIDEA (*O. mykiss*) ALLEVATA IN ITALIA: DESCRIZIONE ANATOMOISTOPATOLOGICA

Volpatti D., Beraldo P., Giavenni R., Bronzatti P., Sarli G., Galletti E., Galeotti M.

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLE PATOLOGIE SPONTANEE NEL *Grampus griseus*: INUSUALI QUADRI.

De Stefano C., Lanteri G., Pautasso A., Mignone W., Caracappa S., Marino F.

L'AZIONE COST FARM ANIMAL PROTEOMICS (FA1002).

Ceciliani F.

IL LINFOMA NASALE DEL GATTO: VALUTAZIONE CITOLOGICA, ISTOLOGICA E IMMUNOISTOCHEMICA.

Santagostino S.F., Mortellaro C.M., Avallone G., Caniatti M., Forlani A., Roccabianca P.

POLIPI LINFOIDI E LINFOMI A LOCALIZZAZIONE RETTALE IN 4 CANI.

Mezzalana G., Baldassarre V., Trotta M., Rondena M.

LIPOSARCOMA MIXOIDE SPLENICO PRIMARIO IN DUE CANI.

Forlani A., Avallone G., Stefanello D., Palmieri C., Santagostino S.F., Roccabianca P.

RICERCA DI DNA VIRALE APPARTENENTE A COPV IN PAPPILLOMI E CARCINOMI SQUAMOSI ORALI DEL CANE.

Porcellato I., Brachelente C., Guelfi G. Mechelli L.

LUCI E OMBRE DI UN REGISTRO TUMORI ANIMALI: STIMA DELL'INCIDENZA DELLE NEOPLASIE SPONTANEE NEI CANI RESIDENTI IN VENETO.

Vascellari M., Capello K., Baioni E., Bortolotti L., Lanari M., Trolese M., Carminato A., Mutinelli F.

PRODUZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI UN ANTICORPO POLICLONALE ANTI-AMILOIDE SERICA A BOVINA.

Ceciliani F., Soler Vasco L., Grilli G., Roccabianca P., Santagostino S.F., Restelli L., Greppi C., Sartorelli P.

EFFETTO DELLA SIALILAZIONE DELL'ALFA-1-GLICOPROTEINA ACIDA SULL'ATTIVITA' FAGOCITARIA DI LEUCOCITI FELINI.

Rossi G., Capitani L., Ceciliani F., Paltrinieri S.

IL MORBO COITALE MALIGNO IN ITALIA: QUADRI ANATOMO-ISTOPATOLOGICI ED IMMUNOISTOCHEMICI IN CAVALLI NATURALMENTE INFETTI.

Di Francesco G., Pascucci I., D'Angelo A.R., Marruchella G., Scacchia M.

LA PATOGENESI DELLA SCRAPIE OVINA DOPO INFEZIONE SPERIMENTALE INTRA-TONSILLARE.

Cancedda M.G., Di Guardo G., Chiocchetti R., Demontis F., Marruchella G., Sorteni C., Di Donato G., Macciocu S., Contu C., Ligios C.

STUDIO DELLA RISPOSTA INFIAMMATORIA ED IMMUNITARIA CUTANEA IN CASI DI BESNOITIOSI BOVINA SPONTANEA.

Lepri E., Brachelente C., Porcellato I., Filippini G., Oevermann A., Mechelli L.

Poster

IDENTIFICAZIONE IMMUNOISTOCHEMICA DI CELLULE DERIVATE DALLA MEMBRANA AMNIOTICA DI PLACENTA UMANA DOPO TRAPIANTO IN UTERO DI RATTE GRAVIDE.

Antuofermo E., Burrai G.P., Farigu S., Demontis M.P., Pasciu V., Anania V., Parolini O., Varoni M.V.

ANALISI ISTOLOGICA DI TESSUTO DISCALE ERNIATO PRELEVATO CHIRURGICAMENTE. STUDIO PRELIMINARE SU 18 CANI.

Beha G., Pisoni L., Mandrioli L., Bombardi C., Muscedere D., Del Magno S., Cinti F., Benazzi C.

REAZIONE AVVERSA A FARMACO, CUTANEA ED EPATICA, IN UN CONIGLIO DOMESTICO.

Bongiovanni L., Selleri P., Della Salda L.

CONDRITE AURICOLARE FELINA: RISCONTRI CLINICI, ISTOLOGICI E IMMUNOISTOCHEMICI.

Carminato A. Vascellari M., Mutinelli F.

CORIOCARCINOMA OVARICO NON GESTAZIONALE MURINO: DESCRIZIONE ISTOLOGICA ED IMMUNOISTOCHEMICA DI DUE CASI INSORTI IN ANIMALI GENETICAMENTE MODIFICATI.

Castiglioni V., Farhang Ghahremani M., Goossens S., Ardizzone M., Radaelli E.

ATTIVITÀ ANTIBATTERICA DELLA PROTEINA DI FASE ACUTA BOVINA ALPHA1-GLICOPROTEINA ACIDA.

Ceciliani F., Martino P., Bronzo V., Sartorelli .

CETACEI SPIAGGIATI E PRIONI.

Cocumelli C., Eleni C., Meoli R., Barbaro K., Terracciano G., Fichi G., Ascione F., Parmigiani R., Palmerini T., Mazzariol S., Di Francesco C.E., Di Guardo G.

MONITORAGGIO DELLE PRINCIPALI PATOLOGIE INFETTIVE A CARATTERE NEUROLOGICO IN ALLEVAMENTI SUINICOLI DELLA PROVINCIA DI CUNEO.

Corbellini D., Careddu M.E., Pautasso A., Sona B., Varello K., Niosi G., Pistone G., Pintore M.D., Trisorio S., Peletto S., Caramelli M., Casalone C., Iulini B.

MENINGO-ENCEFALITE EQUINA DA *Halicephalobus gingivalis*: CONTRIBUTO CASISTICO NELL'AMBITO DEL PIANO DI SORVEGLIANZA WEST NILE DISEASE.

Di Francesco G., Savini G., Maggi A., Cavaliere N., D'Angelo A.R., Marruchella G.

MORBILLIVIRUS E CETACEI, UN RAPPORTO IN CONTINUA EVOLUZIONE.

Di Guardo G., Di Francesco C.E., Eleni C., Cocumelli C., Scholl F., Casalone C., Mignone W., Tittarelli C., Di Nocera F., Leonardi L., Fernandez A., Mazzariol S.

MESSA A PUNTO DI UN SAGGIO ELISA PER LA VALUTAZIONE DEI LIVELLI SIERICI DI AGP IN CAPRE E BOVINI.

Dilda F., Soler Vasco L., Restelli L., Grilli G., Lecchi C., Ceron J., Sartorelli P., Mavromati J., Ceciliani F.

Leishmania intracellulare IN TRE DIFFERENTI NEOPLASIE CANINE.

Ferro S., Benali S.L., Palmieri C.

VALUTAZIONE BIOCHIMICA ED ELETTROFORETICA DELLE HDL NEL VITELLO: DIFFERENZA CON I VALORI DELL'ADULTO E CORRELAZIONE CON PROTEINE INFIAMMATORIE.

Giordano A., Rossi G., Moretti P., Venturini M., Paltrinieri S.

SINGOLARE REPERTO DI DERADELFO CEFALO-TORACO-ONFALOPAGO IN AGNELLI.

Lanteri G., Macri F., Caracappa S., De Stefano C., Mazzullo G.

UN CASO DI OSTEOSARCOMA FIBROBLASTICO OMERALE IN UN LEONE (*Panthera leo*).

Leonardi L., Lepri E., Friedrich K., Olivieri O., Mechelli L.

RUOLO DELL'ESAME ANATOMO-ISTOPATOLOGICO NELLA DIAGNOSI DELLE PIÙ COMUNI PATOLOGIE APISTICHE.

Maiolino P., De Leva G., Carbone S., Carella F., Martano M.

CRISTALLI INTRATUBULARI NEL RENE DI UN PESCE ORNAMENTALE (*Carassius auratus*): POTENZIALE ESPRESSIONE DI ACCUMULO DI MELAMINA CIANURATA?

Mandrioli L., Sirri R., Brachelente C., Ghiotto S., Bettini G.

ESPRESSIONE IMMUNOISTOCHEMICA E VALORE PROGNOSTICO DI P53 ED EGFRS NEL CARCINOMA SQUAMOSO FELINO.

Maniscalco L., Iussich S., Morello E., Martano M., Biolatti B., Guscetti F., Gattino F., Berardi M., Buracco P., De Maria R.

TOXOPLASMOSI BILIARE IN UN GATTO.

Morini M., Bettini G., Turba M.E.

RILIEVI CLINICI ED ANATOMOPATOLOGICI SU UN CASO DI MIOPATIA DA CATTURA IN UN CERVO SARDO (*Cervus elaphus corsicanus*).

Nuvoli S., Secci F., Burrai G.P., Columbano N., Giagu A., Rocca S., Careddu G.M., Antuofermo E.

LA HEAT SHOCK PROTEIN 90 (HSP90) E' ASSOCIATA ALL'EVOLUZIONE IPERPLASTICA E NEOPLASTICA DELLA PROSTATA DEL CANE.

Palmieri C., Mancini M., Benazzi C., Della Salda L.

MALFORMAZIONI CONGENITE MULTIPLE IN UNA *Testudo graeca iberica* BICEFALA.

Palmieri C., Selleri P., Di Girolamo N., Montani A., Della Salda L.

REGISTRO DATI DIAGNOSTICI CETACEI SPIAGGIATI (RE.DA.CE.): UN NUOVO STRUMENTO PER LA GESTIONE DELLA SORVEGLIANZA SANITARIA DEI CETACEI SPIAGGIATI LUNGO LE COSTE DEL TERRITORIO NAZIONALE.

Pautasso A., Tittarelli . Pintore M.D., Iulini B., Longo A., Ru G., Bona C., Toffan A., Lombardi G., Fico R., Scholl F., Di Nocera F., Latini M., Ferri N., Petrella A., Pintore A., Macrì D., Mazzariol S., Mignone W., Casalone C.

CITOLOGIA LINFONODALE IN BOVINI: RISULTATI PRELIMINARI IN 88 SOGGETTI.

Perillo L., Macrì B., Caccamo G., Agricola S., Lombardo S.F., Passante C., Mazzullo G.

DETERMINAZIONE CITOFLUORIMETRICA DEL KI67 IN DIVERSI SOTTOTIPI CITOLOGICI DI LINFOMA CANINO.

Poggi A., Miniscalco B., Morello E., Riondato F.

PREVALENZA DELL'ULCERA ABOMASALE NEI VITELLI A CARNE BIANCA IN PIEMONTE.

Pregel P., Botta M., Botta M., Fiorito E., Orlando L., Cravero M., Casella P., Bona M., Valle D., Cumino P., Termini G., Cannizzo F.T., Appino S., Biolatti B.

UTILIZZO DELLA BIOPSIA ENDOMETRIALE COME METODO DI VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA RIPRODUTTIVA NELLE ASINE RAGUSANE.

Puleio R., Loria G.R., Tamburello A., Console A., Caracausi C., Mancuso R.

UN CASO DI CARCINOMA POLMONARE IN UNA BOVINA.

Puleio R., Loria G.R., Tamburello A., Messina F., Tumino G.

FIBROMA AMELOBLASTICO IN UN CAMOSCIO (*Rupicapra rupicapra*).

Scaglione F.E., Iussich S., Grande D., Carpignano M., Chiappino L., Sereno A., Ferroglio E., Bollo E.

CONTRIBUTO ANATOMO-ISTOPATOLOGICO E IMMUNOISTOCHEMICO SU UN RARO CASO DI EMANGIOSARCOMA EPITELIOIDE DEL CANE.

Sfacteria A., Lanteri G., Romeo I., Perillo L., Mazzullo G.

FENOTIPO MOLECOLARE DEI TUMORI MAMMARI DELLA GATTA: CORRELAZIONE TRA TUMORE PRIMARIO E RELATIVA METASTASI LINFONODALE

**Brunetti Barbara¹, Asproni Pietro², Beha Germana¹, Muscatello Luisa Vera¹, Millanta
Francesca², Poli Alessandro², Benazzi Cinzia¹, Sarli Giuseppe¹**

¹*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, via Tolara di Sopra 50 40064
Ozzano Emilia (BO).* ²*Dipartimento di Patologia Animale, Scuola di Medicina Veterinaria, Viale
delle Piagge 2, Pisa*

La caratterizzazione dell'espressione molecolare dei tumori mammari rappresenta la chiave di volta per lo sviluppo di efficaci modelli predittivi e per terapie mirate. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la relazione tra il fenotipo molecolare del tumore primario mammario e quello della metastasi linfonodale nella gatta. Ventuno casi di tumore mammario primario con le rispettive metastasi linfonodali sono stati selezionati e sottoposti a colorazioni immunohistochemiche con anticorpi anti-recettore per l'estrogeno (ER), -recettore per il progesterone (PR), -recettore 2 per il fattore di crescita epidermico (c-erbB-2), -citocheratine 5/6 (CK 5/6), -citocheratine 14 (CK 14), -citocheratina 19 (CK 19), -proteina p63 (P63). I tumori mammari sono stati classificati in 5 sottotipi: Luminal A, Luminal B, c-erbB-2 sovraespresso, basal-like and normal-like applicando l'algoritmo di Sassi et al. (2010), da noi modificato. In 12 casi su 21 (57%) vi è stata concordanza tra il profilo fenotipico del tumore primario e quello della relativa metastasi linfonodale. Nei rimanenti 9 casi è stata osservata una discordanza progressiva: con un peggioramento del profilo fenotipico nella metastasi linfonodale rispetto al tumore primario. La stima del fenotipo del tumore primario è risultata essere di scarso valore predittivo terapeutico per la relativa metastasi linfonodale, data l'ampia percentuale di casi con fenotipo discordante (43%). Per la pianificazione di una terapia mirata è quindi necessaria l'identificazione dei fenotipi in entrambi i siti tumorali, per evidenziarne le eventuali differenze.

Parole chiave: gatto, tumori mammari, metastasi, linfonodo, profilo fenotipico.

INTRODUZIONE

I tumori mammari della donna rappresentano una patologia molto eterogenea, in quanto possono presentare prognosi variabile e differenti risposte terapeutiche sebbene siano assimilabili allo stesso tipo istologico, grado e stadio tumorale. Queste differenze non sono ad oggi del tutto chiare, ma probabilmente sono da ricondurre alle caratteristiche proprie del clone neoplastico originario (Munirah et al., 2011). Nell'ultimo decennio i tumori mammari della donna sono stati classificati anche dal punto di vista dell'espressione molecolare, al fine di identificarne il comportamento prognostico e responsivo-terapeutico. L'individuazione del fenotipo è essenzialmente basata sulla presenza/assenza: dei recettori ormonali (estrogeno (ER) e/o progesterone (PR)), del recettore 2 per il fattore di crescita epidermico (c-erbB-2) e di markers basali quali le citocheratine (CK) 5/6, 14 e la p63. I principali sottotipi molecolari ottenuti sono: Luminal A, Luminal B, c-erbB-2 sovraespressanti, Normal-like e Basal-like (Sorlie et al., 2001). In Medicina Veterinaria questa classificazione molecolare è stata applicata solo di recente e unicamente nei tumori mammari del cane, identificando i medesimi sottotipi osservati in Medicina Umana (Gama et al., 2008; Sassi et al., 2010). Scopo del presente lavoro è stato: 1) definire i fenotipi molecolari nei carcinomi mammari della gatta e nelle relative metastasi linfonodali; 2) dimostrare l'esistenza del fenomeno di concordanza o discordanza del profilo molecolare tra tumore primario e metastasi linfonodale; 3) determinare il valore predittivo terapeutico del fenotipo molecolare stimato sul tumore primario

MATERIALI E METODI

Sono stati selezionati 21 carcinomi mammari di gatta e le relative metastasi linfonodali dall'archivio del Servizio di Anatomia Patologica del Dipartimento Scienze Mediche Veterinarie di Bologna e dal Dipartimento di Patologia Animale dell'Università di Pisa. I campioni erano disponibili come sezioni colorate con Ematossilina-Eosina, ottenuti da materiale fissato in formalina e conservato in blocchetti di paraffina. Le diagnosi istologiche sono state emesse secondo il sistema classificativo WHO (Misdorp et al., 1999). Per ogni campione di carcinoma mammario e relativa metastasi linfonodale sono state ottenute 7 sezioni seriali su cui sono stati utilizzati i seguenti anticorpi per le metodiche immunostochimiche: anticorpo anti-ER, -PR, -c-erbB-2, -CK5/6, -CK14, -CK 19, -P63. Le caratteristiche degli anticorpi sono riportate in tabella 1. Il metodo di valutazione è stato il seguente: per ER e PR i casi erano considerati

positivi (1) quando vi era una positività nucleare in più del 5% delle cellule tumorali e negativi (0) se inferiore a tale percentuale; per il c-erbB-2 erano considerati positivi se l'immunoreattività era membranosa dal 10 al 25% delle cellule tumorali (1), inferiore al 50% (2), superiore al 50% (3), se invece la positività era citoplasmatica o membranosa al di sotto del 10% i casi erano considerati negativi (0); Il P63 era considerato positivo (1) quando la positività era nucleare in più del 10% delle cellule tumorali, negativo (0) se inferiore. Le CK 5/6 e 14 erano considerate positive (1) con una positività in più dell'1% delle cellule tumorali, negative (0) se inferiore. I fenotipi molecolari sono stati individuati sulla base dell'algoritmo modificato proposto da Sassi et al., 2010.

RISULTATI

I 21 carcinomi mammari sono stati classificati in 6 carcinomi solidi e 15 carcinomi tubulo-papillari, la cui origine epiteliale è stata confermata in tutti i casi dalla positività alla CK 19. I risultati del pannello anticorpale utilizzato ed i fenotipi molecolari dei tumori mammari e delle rispettive metastasi linfonodali sono riassunti in tabella 2. Sia nei tumori primari che nelle relative metastasi linfonodali sono stati individuati solo 3 dei 5 fenotipi; Luminal B (Fig. 1), c-erbB-2 sovraespressante (Fig. 2) e Basal-like (Fig. 3). Non è stata trovata alcuna associazione statisticamente significativa tra la diagnosi istologica ed il fenotipo molecolare nel tumore primario (test del chi quadrato $P=0,46$). In 12 casi su 21 (57%) è stata rilevata concordanza (identico fenotipo molecolare tra tumore primario e metastasi), mentre nei restanti 9 casi il profilo molecolare è risultato discordante (profilo molecolare differente tra tumore primario e metastasi) (43%). Nei 15 casi di carcinoma tubulo-papillare, 10 hanno mostrato concordanza, mentre i rimanenti 5 discordanza; nei 6 carcinomi solidi, solo 2 casi sono risultati essere concordanti e 4 erano discordanti. Alcuna correlazione statisticamente significativa è stata trovata tra l'istotipo tumorale e la concordanza/discordanza fenotipica (test del chi quadrato $P=0,36$).

DISCUSSIONE

Attualmente questo è il primo studio sul profilo fenotipico dei tumori mammari della gatta. Da letteratura, nei tumori mammari felini sono stati effettuati studi unicamente in merito ai singoli marcatori quali c-erbB-2 e recettori ormonali quali ER e PR (Martin et al., 1984; Martin de las Mulas et al., 2002; Millanta et al., 2005a; Millanta et al., 2005b; Millanta et al., 2006; Rasotto et al., 2011). In merito al profilo molecolare dei recettori ormonali è

noto che la scarsa espressione dell'ER nei suddetti tumori denota una caratteristica di ormono-indipendenza tumorale (Millanta et al., 2005b). Altri studi sperimentali hanno evidenziato una maggiore espressione per il PR (con percentuali di positività dall'11 al 69%), suggerendo un possibile ruolo del progesterone come promotore precoce della crescita tumorale (Martin et al., 1984; Millanta et al., 2006). La sovra espressione del c-erbB-2 presenta risultati alquanto variabili con positività che variano da un 5,5% dei casi nello studio di Rasotto et al. (2011), a positività del 60% nello studio di Millanta et al. (2005a).

I fenotipi ottenuti nel tumore primario sono: Luminal B (52,4%), c-erbB-2 sovraesprimenti (38,1%) e Basal-like (9,5%). Nelle metastasi linfonodali i fenotipi molecolari ottenuti sono sovrapponibili a quelli del primario con una frequenza percentuale del c-erbB-2 sovraesprimente pari al 76,2%. La dominanza d'espressione di c-erbB-2 sia nel primario che nella metastasi dà luogo al fenotipo Luminal B, se è presente l'espressione di almeno uno dei due recettori ormonali e al fenotipo c-erbB-2 sovraesprimente, se assente l'espressione degli stessi. La prevalenza di quest'ultimo fenotipo, unitamente al dato che esso rappresenti un noto indice prognostico sfavorevole (Millanta et al., 2005a), induce a concludere che nel gatto vi sia la selezione precoce di popolazioni cellulari maligne. Analizzando i singoli marcatori e confrontando la loro espressione tra tumore primario e metastasi si evidenzia una notevole perdita di espressione di tutti i marcatori con assenza di riespressione di quest'ultimi nella metastasi se non espressi a livello di tumore primario.

Il confronto tra fenotipo molecolare del tumore primario e relativa metastasi linfonodale evince una concordanza del 57% ed una discordanza del 43% sul totale della casistica. La discordanza è intesa come un'instabilità fenotipica, dovuta a subpopolazioni cellulari che acquisiscono capacità metastatica durante la carcinogenesi.

CONCLUSIONI

In conclusione, nei tumori mammari della gatta e nelle relative metastasi linfonodali sono stati individuati tre fenotipi molecolari: Luminal B, c-erbB-2 sovraesprimenti e Basal-like. Inoltre, è stata dimostrata l'esistenza della concordanza e della discordanza tra il fenotipo del primario e della metastasi. L'analisi del valore predittivo-terapeutico del fenotipo stimato esclusivamente sul tumore primario è fallimentare nei casi discordanti in quanto la terapia è mirata solo sul tumore primario. Sulla base dei risultati ottenuti, è infine auspicabile l'utilizzo di una terapia anti-c-erbB-2 non solo nei

casi c-erbB-2 sovraesprimenti ma anche nei casi Luminal B associata ad una terapia anti-ormonale.

BIBLIOGRAFIA

- Gama A et al.: Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. *Virchows Arch* 2008, 453, 123-132
- Martin PM et al.: Animal models for hormone-dependent human breast cancer. Relationship between steroid receptor profiles in canine and feline mammary tumors and survival rate. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1984, 12(1):13-7.
- Martín de las Mulas J et al.: Progesterone receptors in normal, dysplastic and tumourous feline mammary glands. Comparison with oestrogen receptors status. *Res Vet Sci* 2002, 72(2):153-161.
- Millanta F et al.: Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Res Vet Sci* 2005b, 79:225-232
- Millanta F et al.: Overexpression of HER-2 in Feline Invasive Mammary Carcinomas: Immunohistochemical Survey and Evaluation of Its Prognostic Potential. *Vet Pathol* 2005a, 42:30-34
- Millanta F et al.: Steroid hormone receptors in normal, dysplastic and neoplastic feline mammary tissues and their prognostic significance. *Vet Rec* 2006, 158(24):821-4.
- Misdorp W et al.: Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and Cat. AFIP in cooperation with the American Registry of Pathology and the World Health Organization Collaborating Centre for Worldwide Adherence on Comparative Oncology. Washington DC 1999, p. 12-13, 25-27
- Munirah MA, et al.: Identification of different subtypes of breast cancer using tissue microarray. *Rom J Morphol Embryol* 2011, 52:669-677
- Rasotto R et al.: An immunohistochemical study of HER-2 expression in feline mammary tumours. *J Comp Pathol* 2011, 144, 170-179.
- Sassi F et al.: Molecular-based tumour subtypes of canine mammary carcinomas assessed by immunohistochemistry. *BMC Vet Res* 2010, 6, 5.
- Sorlie T et al.: Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Procs Natl Acad Sci USA* 2001, 98, 10869-10874

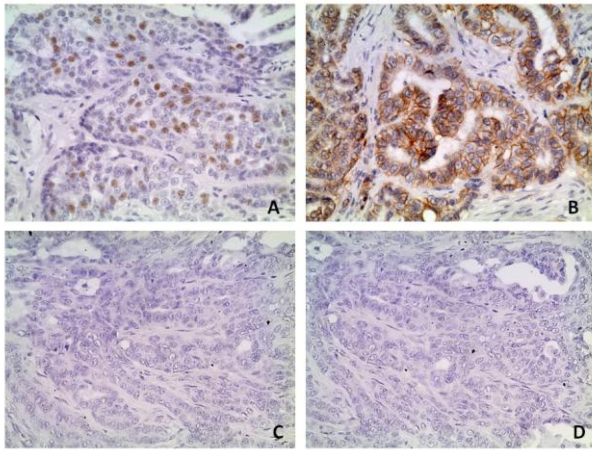


Figura 1: Fenotipo molecolare Luminal B. A) PR +, B) c-erbB-2 +, C) CK14 -, D) p63 -

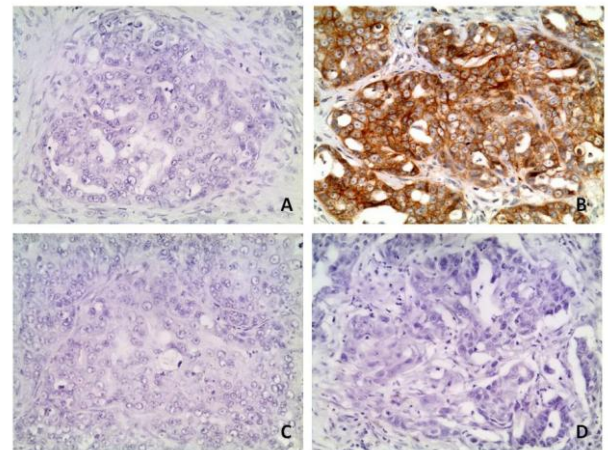


Figura 2: Fenotipo molecolare C-erbB-2 sovraesprimente. A) ER -, B) c-erbB-2 +, C) CK5/6 -, D) p63 -

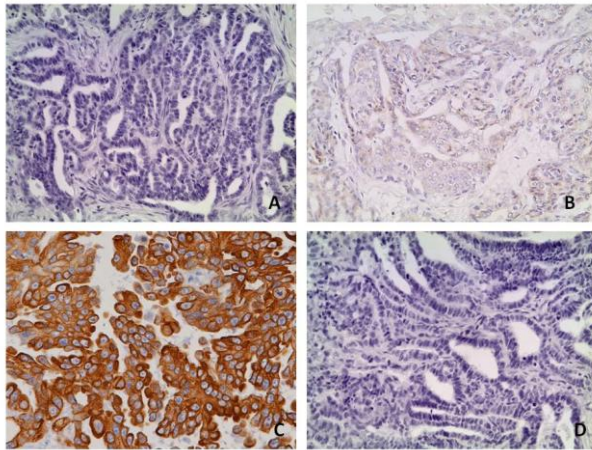


Figura 3: Fenotipo molecolare Basal-like. A) ER -, B) c-erbB-2 -, C) CK14 +, D) p63 +

	CLONE	PRODUTTORE	DILUIZIONE
ER	6F11	Novocastra Lab Ltd.,(Newcastle upon Tyne, UK)	1: 40
PR	PR88	Biogenex, (San Ramon, Ca)	1: 40
c-erbB-2	Policlo- nale	Dako, Glostrup, Denmark	1: 250
CK 5/6	D5/16B4	Zymed (South San Francisco, Ca)	1: 100
CK 14	Ab-1 (LL002)	NeoMarkers (Fremont, Ca)	1: 300
CK 19	BA17	Dako (Glostrup, Denmark)	1: 50
p63	4A4	Dako (Glostrup, Denmark)	1: 50

Tabella 1: Anticorpi primari, produttore e diluizioni di impiego.

TUMORE MAMMARIO PRIMARIO								METASTASI LINFONODALE						
ISTOTIPO	ER	PR	c-erbB-2	CK14	CK5/6	p63	FENOTIPO	ER	PR	c-erbB-2	CK14	CK5/6	p63	FENOTIPO
Carcinoma tubulo papillare	0	1	3	1	1	0	Luminal B	0	1	3	1	1	0	Luminal B
Carcinoma tubulo papillare	0	0	2	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	2	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	1	0	2	1	0	1	Luminal B	0	0	2	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	1	1	1	0	0	Luminal B	0	0	1	0	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma solido	0	1	2	1	0	0	Luminal B	0	0	2	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	1	0	3	1	1	0	Luminal B	0	0	2	0	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	0	0	1	0	0	Basal-like	0	0	0	1	0	0	Basal-like
Carcinoma tubulo papillare	0	0	1	1	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	1	0	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	0	2	1	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	2	1	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	0	2	1	1	1	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	1	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	0	3	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	3	1	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	1	1	1	1	0	Luminal B	0	0	0	1	1	0	Basal-like
Carcinoma solido	0	0	3	1	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	3	1	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma solido	0	1	3	1	0	0	Luminal B	0	0	3	0	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	1	3	1	1	1	Luminal B	0	0	3	1	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	0	2	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	2	1	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma solido	0	1	2	0	1	0	Luminal B	0	0	2	0	1	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma solido	0	1	2	1	1	1	Luminal B	0	0	2	1	1	1	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma solido	0	0	2	0	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente	0	0	2	0	0	0	c-erbB-2-sovraesprimente
Carcinoma tubulo papillare	0	1	2	1	1	0	Luminal B	0	1	1	1	1	0	Luminal B
Carcinoma tubulo papillare	0	0	0	1	0	0	Basal-like	0	0	0	1	0	0	Basal-like

Tabella 2: Istotipo, risultati immunistochemici, fenotipo molecolare nel tumore primario e nella metastasi a linfonodo e risultato (concordanza/discordanza) del loro confronto. Per la valutazione dei risultati immunistochemici si è applicato un sistema semiquantitativo: 0=negativo; 1=positivo; Per la valutazione del c-erbB-2: 0=0%; 1= Dal 10 al 25%; 2 <50%; 3 >50% delle cellule positive esprimenti positività membranosa

MOLECULAR PHENOTYPE IN MAMMARY TUMOURS OF QUEENS: CORRELATION BETWEEN PRIMARY TUMOUR AND LYMPH NODE METASTASIS

The molecular characterization of mammary tumours represents a new keystone for the development of effective predictive models and target therapies. The aim of this study was to evaluate the relationship between the molecular phenotype of feline mammary tumour and its related lymph node metastasis. Twenty-one mammary tumour samples and their lymph node metastasis were selected and stained by immunohistochemistry with anti-Estrogen Receptor (ER), -Progesterone Receptor (PR), -Human Epidermal growth factor Receptor 2 (c-erbB-2), -cytokeratin 5/6 (CK 5/6), -cytokeratin 14 (CK14), -cytokeratin 19 (CK 19) and -protein 63 (p63) antibodies. Mammary tumours were classified into five subtypes: Luminal A, Luminal B, c-erbB-2 over-expressing, Basal-like and Normal-like based on a Sassi et al. (2010) modified algorithm. A concordance between the primary tumour and its lymph node metastasis was detected in 12 out of 21 cases (57%). In the remaining nine cases a progressive discordance was observed as the molecular lymph node profile was worse than that in the primary tumour. The data suggest that in a high percentage of cases (43%), the phenotype of the primary tumour is not strictly predictive of the phenotype in the regional lymph node metastasis. The evaluation of tumour molecular phenotype in both sites is necessary to obtain a definitive identification of the tumour profile (or profiles) to plan an appropriate therapy that takes into account any revealed differences.

Key words: cat, mammary tumors, metastasis, node, phenotypic profile.

TUMORE MAMMARIO CANINO: ESPRESSIONE DEI RECETTORI DI ESTROGENO E PROGESTERONE IN DIVERSI SOTTOTIPI TUMORALI

Mainenti Marta, Rasotto Roberta, Zappulli Valentina

Università di Padova, Facoltà di Medicina Veterinaria, Dipartimento di Biomedicina Comparata e Scienze Alimentari.

I recettori estrogenici e progestinici (ER, PR) rivestono un importante ruolo prognostico nel tumore al seno. A fini prognostico-terapeutici e comparativi, diversi studi hanno valutato l'espressione di tali recettori nel tumore mammario canino (TMC), che è risultato prevalentemente di tipo ormone-dipendente. Il valore prognostico di ER e PR nel TMC è tuttavia ancora oggetto di controversie. Sebbene si riscontri una significativa variazione di espressione tra tessuto mammario sano e neoplastico, e tra tumore mammario benigno e maligno, mancano informazioni dettagliate relative all'espressione nei diversi sottotipi tumorali. Nel presente studio si è indagata mediante metodica immunoistochimica l'espressione di ER e PR in 12 tipi istologici di tumore mammario canino, di cui alcuni di recente classificazione (Goldschimdt et al., 2011), e nel tessuto sano circostante. Sono stati analizzati un totale di 113 campioni di TMC (34 benigni e 79 maligni) e 101 di tessuto sano, appartenenti a 68 femmine intere e 45 femmine non intere. Si è valutato inoltre l'effetto dell'ovariectomia e di diverse caratteristiche istopatologiche sull'espressione recettoriale e il loro valore prognostico. Il tipo istologico è risultato influenzare in modo altamente significativo l'espressione recettoriale di ER e PR sia in termini di percentuale di positività cellulare sia di intensità di segnale. In particolare: l'adenoma semplice, l'adenoma complesso, e il carcinoma tubulare semplice hanno mostrato i valori più elevati, mentre il carcinoma solido, il carcinoma anaplastico e il carcinoma comedonico, i valori più bassi. ER e PR non sono risultati tuttavia di valore prognostico. I risultati del presente studio suggeriscono l'importanza di tenere in considerazione la differenza di espressione recettoriale esistente tra le diverse classi istologiche, che potrebbe influenzare significativamente i risultati relativi ai livelli di espressione.

Parole chiave: recettore estrogeno, recettore progesterone, tumore mammario canino.

CANINE MAMMARY TUMOR: ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS EXPRESSION IN SPECIFIC TUMORAL HISTOTYPES

Estrogen and progesterone receptors (ER, PR) are important prognostic factors in human mammary tumors. Prognostic, therapeutic and comparative purposes have prompted the evaluation of hormonal receptors in canine mammary tumors (CMTs). However, ER and PR prognostic value in CMTs is still under debate. Differences in ER and PR expression among some histological subtypes have been observed but detailed information are lacking. The aim of the present study was to evaluate ER and PR expression by immunohistochemical technique in 12 CMTs histological subtypes, including some of recent classification (Goldschimdt et al., 2011), in comparison with the surrounding normal tissue. A total of 113 CMTs were analyzed; 68 belonging to intact females, 45 to spayed females. The effect of spaying status, some histopathological features on ER and PR expression and its prognostic value were also investigated. The histological subtype resulted to strongly influence ER and PR intensity of staining and percentage of positive tumor cells. Particularly, simple adenoma, complex adenoma and simple tubular carcinoma showed the highest ER and PR expression, whereas simple solid carcinoma, anaplastic carcinoma and comedonic carcinoma, the lowest. Neither ER nor PR expression was of prognostic significance. These results suggest that differences among histological subtypes should be taken into consideration whenever ER and PR are evaluated in CMTs.

Key words: estrogen receptor, progesterone receptor, canine mammary tumor.

IL RUOLO CONTROVERSO DELL'ONCOGENE HER-2 NEI TUMORI MAMMARI DEL CANE: STUDIO GENOMICO E PROTEOMICO

Burrai Giovanni P.^{1*}, De Miglio Maria R.², Tanca Alessandro³, Addis Maria F.³, Pagnozzi Daniela³, Polinas Marta¹, Rocca Stefano¹, Cubeddu Tiziana¹, Pirino Salvatore¹, Antuofermo Elisabetta¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Sassari. ²Dipartimento di Scienze Biomediche - Università degli Studi di Sassari. ³Porto Conte Ricerche, Tramariglio, Alghero, Italy.

Il tumore mammario del cane (CMT) è stato proposto come modello per lo studio del cancro al seno della donna. L'oncogene Her-2, al pari di quanto accade in medicina umana, è stato considerato come marker prognostico e potenzialmente terapeutico nel CMT. Tuttavia i numerosi studi immunostochimici non hanno fornito risultati univoci circa il ruolo dell'Her-2 nella cancerogenesi del CMT. Scopo del lavoro è stato quello di indagare, attraverso un approccio multidisciplinare, il ruolo dell'Her-2 nelle lesioni preneoplastiche e neoplastiche mammarie del cane. L'espressione proteica (IHC) e genica (qRT-PCR) di Her-2 è stata valutata in 9 carcinomi invasivi, 1 carcinoma duttale in situ, 7 adenomi, 3 lesioni preneoplastiche e 3 tessuti mammary sani utilizzando, rispettivamente, l'anticorpo policlonale Dako A0485 e primers specifici per il cane. All'IHC, la proteina Her-2 ha mostrato un'intensa e completa positività di membrana (iper-espressione) nel 22% dei carcinomi, spesso associata ad una reazione aspecifica nel citoplasma. I livelli di espressione dell'mRNA di Her-2 non hanno mostrato differenze significative tra adenomi e carcinomi. Tecniche di Western Immunoblotting eseguite su 3 carcinomi e 3 mammelle sane non hanno identificato la banda attesa di 137 kDa, corrispondente al peso molecolare di Her-2 nel cane. La spettrometria di massa tandem, eseguita sugli stessi tessuti, non ha rilevato l'espressione di Her-2 nei CMT, pur identificando altre proteine di membrana. I nostri risultati preliminari indicano una scarsa specificità dell'anticorpo policlonale Dako se utilizzato nel cane ed una mancata identificazione della proteina Her-2 nei CMT. Sono necessari ulteriori studi per determinare l'attendibilità diagnostica e prognostica di Her-2 nei tumori mammary del cane.

Parole chiave: Her-2, proteomica, RT-PCR, cane, tumore mammario.

THE CONTROVERSIAL ROLE OF HER-2 ONCOGENE IN CANINE MAMMARY TUMORS: GENOMIC AND PROTEOMIC STUDY

Canine mammary tumors (CMT) have been suggested as a model to study human breast cancer due to the great similarities existing for this disease in the two species. Although the oncogene Her-2 is considered prognostic and potentially therapeutic marker in CMT, the role of this protein in canine mammary carcinogenesis is still controversial. The purpose of our study was to clarify the role of Her-2 in preneoplastic and neoplastic mammary lesions. Immunohistochemical evaluation and qRT-PCR were performed in 9 carcinomas, 1 in situ carcinoma, 7 adenomas, 3 preneoplastic lesions and 3 normal mammary glands. A strong cell membrane staining was observed by IHC in 22% of carcinomas, although accompanied by a diffuse cytoplasmic staining. The levels of Her-2 mRNA did not show a significant difference among carcinomas and adenomas. Then, WB experiments performed in 3 simple carcinomas and 3 normal mammary glands did not produce the expected band at 137 kDa. The application of different proteomic approaches failed to detect Her-2 expression in the CMT samples. Although preliminary, our results suggest that further studies are needed to carefully assess the diagnostic and prognostic value of Her-2 in CMTs.

Key words: Her-2, proteomics, qRT-PCR, dog, mammary tumor.

ESPRESSIONE DELLE CONNESSINE 26, 32 e 43 NELLE NEOPLASIE MAMMARIE DELLA CAGNA

Martano Manuela, De Vico Gionata, Ceccarelli Dora, Restucci Brunella.

Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Napoli

Gli Autori valutano l'espressione immunohistochimica delle Connexine 26, 32 e 43, che rappresentano le componenti principali delle gap junction, in campioni di mammelle normali e neoplastiche di cagna. I risultati hanno evidenziato una graduale diminuzione della positività ed una alterazione nella distribuzione di tutte le connexine nelle neoplasie maligne. In particolare, la connexina 26, che nelle mammelle normali era espressa dalle cellule epiteliali con positività ristretta alla membrana citoplasmatica, nelle neoplasie maligne diminuiva progressivamente, fino a scomparire del tutto in quelle meno differenziate. La connexina 43, che nelle mammelle normali e neoplastiche benigne, risultava espressa soprattutto dalle cellule mioepiteliali, dagli endoteli vascolari e da poche cellule epiteliali con positività localizzata sulla membrana, nelle neoplasie maligne appariva espressa nel citoplasma di molte cellule epiteliali con aspetto diffuso. La connexina 32, assente nelle mammelle normali e nelle neoplasie benigne, in alcune neoplasie maligne risultava espressa, con positività citoplasmatica diffusa. I risultati ottenuti dimostrano alterazioni sia qualitative che quantitative dell'espressione delle connexine correlate alla malignità e al grado di differenziazione delle neoplasie. Tali aspetti, espressione di alterazione dei meccanismi di sintesi, assemblaggio e trasporto di tali proteine, che inevitabilmente si riflettono sulla comunicazione intercellulare mediata dalle gap junction, confermano l'importanza di tale sistema nel mantenimento dell'omeostasi cellulare e permettono di ipotizzare un coinvolgimento delle connexine, che ne sono parte integrante, nello sviluppo e nella progressione neoplastica anche in oncologia veterinaria.

Parole chiave: connexine, neoplasie mammarie, cane.

EXPRESSION OF CONNEXINS 26, 32 e 43 IN CANINE MAMMARY TUMOURS

The authors evaluated by immunohistochemistry, the expression of connexins 26,32 and 43, which play a role in the gap junction intercellular communication, in samples of normal and neoplastic canine mammary gland. The results showed a gradual decrease of the positivity and an alteration in the distribution of connexins in malignant tumours. In particular, connexin 26, showing a strong immunolabelling restricted to the cell membrane in normal breast and in benign tumours, in malignant tumours decreased progressively until it disappears completely in the less differentiated ones. The connexin 43, which in normal breast and benign tumors was expressed by myoepithelial cells, vascular endothelium and a few epithelial cells with membranous positivity, in malignant tumours was expressed in the cytoplasm of many epithelial cells. The connexin 32, absent in normal breast and benign tumours, was expressed in some malignancies, with diffuse cytoplasmic positivity. The results obtained show alterations in both qualitative and quantitative expression of connexins related to malignancy and degree of differentiation of tumours. These aspects, expression of changed synthesis, assembly and transport of these proteins, which inevitably reflect on the gap junction intercellular communication, confirm the importance of this system in maintaining the cellular homeostasis and allow us to hypothesize an involvement of connexins, which are an integral part, in the development and neoplastic progression also in veterinary oncology.

Key words: connexins, mammary tumours, dog.

MUCINOSI DUTTALE APOCRINA IN UN GATTO AFFETTO DA FOLLICOLITE MURALE MUCINOTICA DEGENERATIVA

Polinas Marta^{*}, Dedola Carla, Pinna Parpaglia Maria L., Sanna Marina A., Nuvoli Sara, Burrai Giovanni P., Pirino Salvatore, Antuofermo Elisabetta

Dipartimento di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Sassari

La follicolite murale mucinotica degenerativa (FMMD) e la mucinosi follicolare (MF) sono due rare forme di follicoliti mucinotiche descritte in gatti adulti, per le quali è stata suggerita un'etiologia immunitaria. Gli animali affetti mostrano alopecia progressiva ed un caratteristico aspetto clinico edematoso del muso, con conseguente restringimento delle aperture oculari. L'esito clinico risulta infausto sia nella FMMD, dove negli unici casi descritti gli animali venivano sottoposti ad eutanasia, sia nella MF, dove dopo pochi mesi i gatti sviluppavano un linfoma epiteliotropo. Dal punto di vista istopatologico, le due forme sono caratterizzate da deposizione follicolare di mucina, associata ad un infiltrato infiammatorio murale di tipo misto (FMMD) o linfocitario (MF). Il caso da noi descritto riferisce di un gatto comune europeo, maschio castrato di 16 mesi di età, con anamnesi di alopecia diffusa presente da circa tre settimane dalla nascita. Alla visita dermatologica il soggetto mostrava alopecia parziale del tronco e alopecia totale su testa e muso, con aspetto edematoso di quest'ultimo. Biopsie cutanee multiple venivano sottoposte a processazione istopatologica (E.E; Alcian Blu pH 2,5, Blu di Toluidina, P.A.S.) ed immunoistochimica (anti- CD3 e anti-Cytokeratin AE1/AE3). All'esame istopatologico si rilevava la presenza di abbondante mucina, positiva all'Alcian Blu, localizzata prevalentemente tra le cellule della parete duttale delle ghiandole apocrine ed in minor misura nella parete del follicolo. Si osservava, inoltre, un moderato infiltrato infiammatorio costituito da linfociti T (CD3+), macrofagi, granulociti eosinofili e rare cellule multinucleate, localizzato a livello follicolare murale (CK AE1/AE3+) e delle ghiandole sebacee. I risultati clinici ed istopatologici da noi riscontrati risultano assimilabili ad una forma di FMMD piuttosto che di MF, sia per la presenza di un infiltrato infiammatorio follicolare di tipo misto, che per il mancato sviluppo di linfoma. Tuttavia il nostro caso si distingue dalle forme di FMMD finora descritte per la presenza di mucinosi delle ghiandole apocrine, per la precoce comparsa dell'alopecia e per le buone condizioni generali mostrate dal soggetto a distanza di 2 anni dalla prima visita clinica. Riteniamo pertanto che debba essere presa in considerazione una differente modalità di presentazione clinica ed istopatologica della FMMD finora descritta.

Parole chiave: mucina, ghiandole apocrine, alopecia, gatto, Alcian Blu.

SWEAT GLAND MUCINOSIS IN A CAT WITH DEGENERATIVE MUCINOTIC MURAL FOLLICULITIS

Feline degenerative mucinotic mural folliculitis (DMMF) is a rare disease of adult cats, characterized by mural follicular mucin deposition and associated with follicular mixed inflammatory infiltrate. We describe a case of a 16 months old, Domestic cat, presented for progressive alopecia since 3 weeks after birth and characterized by a swollen appearance of the muzzle. Histopathological, examination of multiple skin biopsies revealed abundant mucin deposition in the ductal wall of the apocrine glands and mild mucin deposition in the follicular wall. A moderate follicular mixed inflammatory infiltrate was also present. The case we described showed apocrine gland mucinosis, an aspect not previously reported in association with this pathology, suggesting a different clinical and histopathological presentation of DMMF reported in the veterinary literature.

Keywords: mucin, sweat apocrine gland, alopecia, cat, Alcian Blue.

SARCOIDE EQUINO, PDGF β -R ED IMATINIB MESILATO: UN APPROCCIO DI MEDICINA TRASLAZIONALE

**Corteggio Annunziata, Altamura Gennaro, Roperto Sante, Roperto Franco, Borzacchiello
Giuseppe**

*Dipartimento di Patologia e Sanità animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli
Studi di Napoli Federico II*

Il sarcoide è la più comune neoplasia dermatologica degli equidi per la quale, al momento, non esiste ancora una terapia efficace al 100%. Studi precedenti effettuati da questo gruppo di ricerca hanno dimostrato il ruolo centrale svolto dal Papillomavirus bovino (BPV) nell'eziopatogenesi del sarcoide. In questo studio, gli Autori hanno valutato in un modello di colture cellulari derivate da sarcoide: 1) il legame dell'oncoproteina virale E5 al PDGF β -R e la sua attivazione; 2) il contributo dell'oncogene E5 all'attivazione del PDGF β -R; 3) l'attivazione del pathway di trasduzione del segnale Ras-MAP chinasi; 4) gli effetti dell'imatinib mesilato, un inibitore dei recettori ad attività tirosin-chinasica, sulla crescita cellulare. I risultati di questo studio dimostrano che l'oncoproteina E5 si lega fisicamente al PDGF β -R, determinandone l'attivazione e conseguente trasduzione del segnale via MAP chinasi. In particolare, la linea cellulare trasfettata con l'oncogene E5 mostra una maggiore attivazione del pathway dipendente dal PDGF β -R. L'impiego dell'imatinib mesilato induce una completa inibizione della fosforilazione del PDGF β -R determinando un arresto della proliferazione cellulare. Questo studio sottolinea l'importanza dell'oncogene E5 del BPV nel determinismo del sarcoide equino e contribuisce a disegnare lo scenario molecolare alla base di questa neoplasia. Inoltre, i dati ottenuti dall'impiego in vitro dell'imatinib mesilato hanno indotto gli autori a pianificare un trial clinico impiegando una crema ad uso topico a base di imatinib per la terapia del sarcoide, raggiungendo, in questo modo, un obiettivo di medicina traslazionale.

Parole chiave: BPV, equidi, imatinib, PDGF β -R.

EQUINE SARCOID, PDGF β -R AND IMATINIB MESYLATE: A TRANSLATIONAL APPROACH

Equine sarcoid is the most common dermatological neoplasia in equids. At the moment there is no 100% effective therapy. Studies by this research group have already demonstrated the important role of Bovine papillomavirus (BPV) in the etiopathogenesis of this tumour. In this study, the authors have evaluated in sarcoid derived cell cultures: 1) the physical binding between E5 and PDGF β -R and its activation (phosphorylation); 2) the role of E5 for PDGF β -R activation; 3) the activation of the signal transduction pathway Ras-Map kinase; 4) the biological effects of imatinib mesylate, a receptor tyrosine kinase inhibitor, on cellular growth. Our results show that E5 physically binds to the PDGF β -R whose phosphorylation induces the activation of the MAP kinase signal transduction pathway. Particularly, cells transfected with E5 show a higher activation of this pathway. Imatinib mesylate inhibits PDGF β -R phosphorylation inducing cell growth arrest. This study highlights the importance of BPV E5 oncogene in sarcoid carcinogenesis, contributing to the understanding of the molecular scenario of this neoplasia. The successful use of imatinib mesylate in vitro has allowed to set up a clinical trial to test the therapeutic effects of a dermatological cream containing imatinib with the aim of translating into patients this research results.

Key words: BPV, equids, imatinib, PDGF β -R

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLE PATOLOGIE DEL PESCE SPADA (*Xiphias gladius*): QUADRI ANATOMO-ISTOPATOLOGICI

Marino Fabio, Lanteri Giovanni, Mazzullo Giuseppe, Gaglio Gabriella, Macrì Battesimo

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, 98168 Messina, Italy

Il pesce spada (*Xiphias gladius*) è un teleosteo pelagico considerato di elevato valore in tutto il mondo. Lo scopo di questo lavoro è effettuare una rassegna delle patologie riscontrate in un decennio di osservazioni e valutare l'impatto tissutale indotto dai differenti agenti causali su esemplari di pesce spada pescati lungo le coste siciliane. Lo studio è stato condotto su organi e tessuti di novanta soggetti campionati all'atto della cattura, o all'atto del sezionamento effettuato in pescheria. Per l'esame istopatologico, i campioni tissutali ottenuti sono stati fissati in formalina tamponata al 10% e quindi processati routinariamente per l'inclusione in paraffina. Sono state repertate e documentate lesioni indotte da *Kudoa thyrsites*, *Fistulicula plicatus*, Anisakidi, *Hepatoxylon squali* e *Pennella instructa*. Le lesioni indotte dai mixosporidi consistevano in aree di colliquazione della muscolatura da cui gemeva materiale cremoso bianco-giallastro. Il cestode *F. plicatus* evocava una lesione da massa occupante spazio con atrofia della mucosa intestinale; di rado si poteva documentare lo scolice circondato da una reazione granulomatosa. Le lesioni da larve di nematodi Anisakidi erano riconducibili a granulomi con centro necrotico emorragico presenti nello spessore della parete dello stomaco. A livello delle sierose di differenti organi celomatici, quali fegato, cuore, intestino, si documentavano lesioni di natura granulomatosa dovute a localizzazioni profonde del copepode *P. instructa* o evocate dagli organi d'aggancio del trematode *H. squali*. L'interesse dei quadri su riportati nasce dai risvolti igienico-sanitari derivanti, dai potenziali rischi per il consumatore, nonché dalla valutazione dell'effettivo impatto delle patologie su una popolazione ittica minacciata.

Parole chiave: pesce spada; patologia; parassiti; istopatologia.

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGES OF DISEASES OF SWORDFISH (*Xiphias gladius*): ANATOMO-HISTOPATHOLOGICAL FEATURES

Swordfish (*Xiphias gladius*) is a pelagic teleostean representing worldwide one of the most valuable ichthyic species. Aim of this paper is to study tissue damage due to different pathogens of swordfish fished along sicilian coasts. The study was carried out on tissue specimens of 90 swordfish sampled after capture or during dissection at the fish shop. For the histological exam, samples were fixed in 10% buffered formalin and then processed using routine methods for paraffin embedding. Tissue changes due to *Kudoa thyrsites*, *Fistulicula plicatus*, Anisakis spp., *Hepatoxylon squali* and *Pennella instructa* were registered and studied. Lesions evoked by mixosporidia were colliquative changes of the musculature, from which a yellow-whitish material spontaneously oozed out. The tapeworm *F. plicatus* evoked a change due to a space occupying mass with atrophy of the intestinal mucosa; only occasionally the scolex was seen embedded within a granulomatous reaction. Tissue changes caused by nematode larvae were recognizable as necrotic hemorrhagic lesions surrounded by a granulomatous reaction located in the stomach wall. On the serosal surface of different coelomic organs, such as liver, heart, intestine, granulomatous lesions due to deep localizations of the copepod *P. instructa* or caused by the attachment organ of the parasite *H. squali* were also seen. The interest of the present report is due to the hygiene and health implications, potential risk for consumers and evaluation of real impact of diseases on an endangered ichthyic population.

Key words: swordfish; pathology; parasite; histopathology.

LESIONI PODALI NELLA CORNACCHIA GRIGIA (*Corvus corone cornix*)

Scaglione Frine Eleonora¹, Chiappino Laura¹, Sereno Alessandra¹, Ferroglio Ezio², Pasquetti Mario², Peano Andrea², Bollo Enrico¹

¹Dipartimento di Patologia Animale, Università degli Studi di Torino, Facoltà di Medicina Veterinaria, Via L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco, Italy. ²Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Università degli Studi di Torino, Facoltà di Medicina Veterinaria, Via L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco, Italy

Nell'ambito di una collaborazione tra la Regione Piemonte e la Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino, da Agosto 2008 a Febbraio 2011 sono state inviate ed esaminate 320 Cornacchie grigie (*Corvus corone cornix*) oggetto dei piani di contenimento adottati dalla Regione Piemonte. Gli animali sono stati sottoposti a esame necroscopico e sono stati registrati sesso, età e luogo di ritrovamento. Ottantanove (27,8%) uccelli presentavano lesioni crostose proliferative di diverso grado a livello delle zampe. Campioni di tessuto sono stati fissati in formalina tamponata 10% per gli esami istologici e congelati a -20°C per le indagini molecolari e culturali. Istologicamente le lesioni presentavano sottili filamenti settati ed erano presenti forme coccoidi PAS-positive. Campioni ottenuti dalle lesioni sono stati coltivati su agar sangue a 25 °C e 37 °C, ottenendo la crescita di piccole colonie grigiastre rilevate e circondate da un bordo di emolisi. È inoltre stata allestita una PCR per *Dematophilus* spp. (eseguita secondo Shaibu et al., 2010) che ha fornito risultati positivi per tutti i soggetti, permettendo di formulare una diagnosi di infezione da *Dematophilus* spp. La presente è la prima segnalazione di infezione naturale da *Dematophilus* spp. negli uccelli.

Ringraziamenti. Gli autori ringraziano il Centro di Referenza di Patologia Comparata “Bruno Maria Zaini”, Italia

Parole chiave: *Dematophilus* spp., Cornacchia grigia, *Corvus corone cornix*.

FOOT LESIONS IN WILD HOODED CROW (*Corvus corone cornix*)

In compliance with an animal containment program in Piedmont Region (northwest Italy), 320 Hooded crows (*Corvus corone cornix*) were collected from August 2008 to February 2011 in the frame of a scientific collaboration between the Piedmont Region and the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Turin (Italy). The animals were referred to the Department of Animal Pathology for a standard necropsy with the aim to evaluate their health status. Gender, age and capture area were recorded. Portions of skin from foot lesions were collected and fixed in 10% neutral buffered formalin for histological examinations or frozen at -20°C for molecular and cultural investigation. Eighty-nine (27.8 %) birds showed proliferative and scabby foot lesions with variable degrees of severity. Histologically, thin septated filaments and PAS-positive coccoid forms were observed. Specimens from scabs were cultured on blood agar at 25°C and 37°C, with the growth of small, grayish, raised colonies, surrounded by a rim of haemolysis. A PCR for *Dematophilus* spp. (performed according to Shaibu et al., 2010) showed positive results. These findings were consistent with a diagnosis of *Dematophilus* spp. To the authors' knowledge this is the first report of *Dematophilus* spp. infection in birds.

Acknowledgements. The authors gratefully acknowledge the “Centro di Referenza di Patologia Comparata “Bruno Maria Zaini”, Italy.

Keywords: *Dematophilus* spp., Hooded crow, *Corvus corone cornix*.

RED MARK SYNDROME IN TROTA IRIDEA (*O. mykiss*) ALLEVATA IN ITALIA: DESCRIZIONE ANATOMOISTOPATOLOGICA

Volpatti Donatella, Beraldo Paola, Giavenni Roberto, Bronzatti Paolo**, Sarli Giuseppe*,
Galletti Elena, Galeotti Marco**

*Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Udine. *Dipartimento di Scienze Mediche
Veterinarie, Università di Bologna. **Veterinario libero professionista*

La Red Mark Syndrome (RMS) è una dermatite che colpisce la trota iridea (*O. mykiss*), descritta per la prima volta in Scozia nel 2003; in Italia, da alcuni anni, la malattia è sporadicamente segnalata e colpisce soggetti adulti a temperature inferiori a 15°C. L'eziologia della malattia non è ancora stata accertata, anche se, di recente, un organismo rickettsia-like (RLO) è associato alle lesioni eritematose. Finalità di questo contributo è documentare alcuni episodi di malattia intercorsi, da maggio a dicembre 2011, in 4 allevamenti del nord Italia con morbosità tra il 10 e il 15%. Macroscopicamente le lesioni cutanee sono state classificate in: morfotipo I, lesioni poco estese e non rilevate, caratterizzate da scarsi fenomeni emorragici e desquamativi; morfotipo II, lesioni più estese, leggermente rilevate, con vari livelli di arrossamento e centralmente ulcerate; morfotipo III, lesioni molto estese, marcatamente emorragiche e rilevate, profondamente ulcerate. Campioni di cute di ciascun morfotipo e organi interni sono stati fissati in formalina tamponata al 4%/in Bouin per le indagini istologiche e in glutaraldeide al 2% per la TEM. Le lesioni infiammatorie, in sintesi, sono caratterizzate dal reclutamento di un forte infiltrato cellulare, costituito prevalentemente da linfociti, plasmacellule e macrofagi. La dinamica della lesione lascia ipotizzare un'origine nell'ipoderma e successiva progressione verso il derma e l'epidermide, con coinvolgimento del tessuto muscolare. Oltre alla descrizione delle lesioni, alcuni aspetti relativi alla eziopatogenesi della malattia saranno discussi.

Parole chiave: Red Mark Syndrome; trota iridea; lesioni cutanee; RLO; infiammazione.

RED MARK SYNDROME IN RAINBOW TROUT (*O. mykiss*) FARMED IN ITALY: ANATOMOHISTOPATHOLOGICAL DESCRIPTION

The Red Mark Syndrome (RMS) is a dermatitis affecting farmed rainbow trouts (*O. mykiss*), originally described in Scotland in 2003. Recently some sporadic outbreaks of RMS have been signaled also in Italy, where the disease affects adult fish reared at temperatures lower than 15°C. The etiology is still under investigation, although recently a rickettsia-like organism (RLO) has been associated with the skin lesions. The purpose of this paper is to document some Italian episodes of disease involving, from May to December 2011, 4 farms located in northern Italy, with a morbidity ranging between 10 and 15%. Macroscopically the skin lesions were classified as follows: morphotype I, flat and scarcely extended lesions, non-hemorrhagic and without desquamation; morphotype II, larger lesions, slightly raised, with varying degrees of redness and centrally ulcerated; morphotype III, very wide lesions, hemorrhagic and markedly ulcerated. Samples of skin and internal organs of each morphotype were fixed in 4% buffered formalin/Bouin for histology and in 2% glutaraldehyde for TEM. The inflammatory lesions, in brief, are characterized by the recruitment of a severe cellular infiltrate, consisting predominantly of lymphocytes, plasma cells and macrophages. The dynamic of the lesion development suggests an origin at the hypoderma level and a subsequent progression towards the dermis and epidermis, with the involvement of the muscular tissue. In addition to the description of the lesions, some aspects regarding the etiology of the disease will be discussed.

Key-words: Red Mark Syndrome; rainbow trout; skin lesions; RLO; flogosis.

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLE PATOLOGIE SPONTANEE NEL *Grampus griseus*: INUSUALI QUADRI

De Stefano Carmelo, Lanteri Giovanni, Pautasso Alessandra^o, Mignone Walter^o, Caracappa Santo^{oo}, Marino Fabio

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Messina. ^oIstituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta. ^{oo}Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri" - Palermo

Il Delfino di Risso (*Grampus griseus*) è un cetaceo della famiglia Delphinidae, presente nei mari tropicali e temperati di tutto il mondo. Il 9/02/2012 veniva segnalato dai Veterinari dell'Asp lo spiaggiamento di un esemplare sul litorale di Milazzo (ME). L'animale, in ottimo stato di nutrizione, era una femmina di 5/6 anni di età, lunga 3 metri e di circa 400 kg di peso. L'esame necroscopico è stato effettuato in loco. All'apertura della cavità addominale si potevano osservare tipici quadri di milze succenturiate irregolarmente distribuite, unitamente ad una ectasia vasale a livello dell'apparato genitale. A carico della cavità toracica risaltava la presenza di un grave versamento ematico, con entrambi i polmoni che apparivano collassati. Sulla superficie ventro-laterale del polmone sinistro, risaltava un'estesa lacerazione con margini imbrattati di sangue e scomparsa della normale struttura parenchimale. Sempre omolateralmente si potevano evidenziare una grave ectasia delle strutture vascolari che assumevano un decorso serpiginoso, e che confluivano in una formazione disposta lateralmente, piatta e di aspetto compatto e la presenza di due aree rilevate di colorito rosso scuro in cui, al taglio, era presente del materiale ematico. Alla sezione tutto il parenchima polmonare appariva infarcito di sangue, in parte coagulato. A livello cardiaco si documentava ectasia dei vasi coronarici con presenza di una sacca, verosimilmente di natura aneurismatica, ubicata a livello dell'apice del cuore. Vista la giovane età e lo stato di nutrizione del soggetto, unitamente alla modalità di spiaggiamento, e la negatività degli esami di laboratorio effettuati, riteniamo, dai quadri istopatologici da noi osservati, di poter sospettare una flogosi a livello polmonare che possa avere determinato un risentimento vascolare molto grave, unitamente ad alcune patologie inquadrabili nel novero delle anomalie congenite vascolari.

Parole chiave: *Grampus griseus*; istopatologia; aneurisma; polmonite

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE PATHOLOGY OF *Grampus griseus*: UNUSUAL FEATURES

Risso's dolphin (*Grampus griseus*) is a cetacean belonging to the family Delphinidae, present worldwide in tropical and temperate seas. The 9/02/2012 a subject stranded near Milazzo (ME) was found by the local Veterinary Service. The subject, in good body condition, was a female, 5/6 years old, 3 m in length and about 400 kg in weight. At necropsy, opening the abdomen, features characteristic of accessory spleens, irregularly distributed, as well as ectasic vessels in the genital system were seen. A large amount of blood was present in the thoracic cavity, where both lungs were collapsed. On the ventral-lateral surface of the left lung a large laceration with bloody margins and loss of the normal parenchymal architecture was seen. Additional findings were a severe ectasia of the vascular structures which appeared serpiginous and the presence of two prominent dark red areas, from which after cut bloody material oozed out. The whole lung parenchyma was engorged with abundant, partly clothed blood. In the heart an ectasia of the coronaries was found together with an aneurism located at the apex of the heart. Considering the age of the animal, the way in which it had stranded and the negativity of laboratory exams, we retain, on the basis of the histopathological findings, to suspect a pulmonary inflammation as a cause of severe vascular disturbances, in addition to some vascular congenital anomalies.

Key words: *Grampus griseus*; histopathology; aneurism; pneumonia

L'AZIONE COST FARM ANIMAL PROTEOMICS (FA1002)

Ceciliani Fabrizio

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica, Via Celoria 10, Università di Milano

Il COST è un framework intergovernativo nato come strumento a supporto della cooperazione tra scienziati e ricercatori in Europa. La funzione del COST è di ridurre la frammentazione degli investimenti della ricerca europea e creare network di ricerca multidisciplinari. Altri importanti obiettivi sono quelli di creare opportunità per giovani ricercatori, e di supportare l'integrazione di comunità di ricercatori, focalizzando i rispettivi investimenti nazionali. COST risponde ad esigenze di ampia rilevanza, utilizzando un approccio bottom-up. La proteomica è una tecnica che fornisce gli strumenti per descrivere i cambiamenti della espressione delle proteine, ed ha già avuto un forte impatto sulla ricerca biologica e biomedica. Il potenziale investigativo della proteomica in campo animale è enorme, e non ancora esplorato. Esiste una evidente esigenza di creare una rete di ricercatori focalizzata sulla salute degli animali da reddito, e sulla qualità e sicurezza dei prodotti da essi derivati. L'azione COST Farm Animal Proteomica coinvolge 25 nazioni europee, per un totale di circa 70 gruppi di ricerca coinvolti. I ricercatori che partecipano all'azione hanno organizzato le loro attività in tre Gruppi di lavoro (WG): WG1 – proteomica e salute animale. WG2 – Proteomica degli alimenti di origine animale. WG3 – Metodi avanzati in proteomica degli animali da reddito. L'obiettivo specifico dell'azione è di fornire metodi avanzati per studiare la salute ed il benessere animale, per incrementare la produzione animale e per valutare la qualità e la sicurezza degli alimenti di origine animale.

Parole chiave: proteomica, animali da reddito; salute e benessere animale; qualità e sicurezza degli alimenti di origine animale.

OUTLINE OF THE COST ACTION FARM ANIMAL PROTEOMICS (FA1002)

COST (European Cooperation in Science and Technology) is an intergovernmental framework for European Cooperation in Science and Technology, allowing the coordination of nationally-funded research on a European level. The aim of COST actions is reduce the fragmentation in European research investments and create multidisciplinary research networks. Other major aims include to provide networking opportunities for early career investigators and to support integration of research communities, focusing national research investments. COST addresses issues of global relevance, using a bottom-up approach (i.e. the researchers propose the topics). Proteomics offers the ability to define changes in protein expression. This advanced technology has already made a significant impact on biological and biomedical research, where long established collaborative initiatives have stimulated progress. There is an increasing awareness of the potential of proteomic technologies to study production animals but the use of proteomic strategies to investigate animal health and disease has been limited by the lack of international coordination and collaboration. The present COST Action built a network of the leading European scientists who are focused on farm animal proteomics. Twenty five EU countries are involved with seventy independent research groups. The researchers participating to the action organize their activity in three Working groups: WG1 – proteomic and animal health, WG2 – Proteomics of food of animal origin, WG3 - Advancing Methodology for Farm Animal Proteomics. The specific aim of our Action is to provide advanced analytical tools to study animal health and welfare, to enhance animal production and to assess food quality and safety related to the protein in food produced from animal origin.

Keywords: proteomics, farm animal, animal health & welfare, systems biology, food quality & safety.

IL LINFOMA NASALE DEL GATTO: VALUTAZIONE CITOLOGICA, ISTOLOGICA E IMMUNOISTOCHEMICA

Santagostino Sara Francesca¹, Mortellaro Carlo Maria², Avallone Giancarlo¹, Caniatti Mario¹, Forlani Annalisa¹, Roccabianca Paola¹

¹Dipartimento di Patologia Animale Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Italia. ²Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Italia

Il linfoma è il tumore primario nasale più comune nel gatto; tuttavia, i dati pubblicati sulle patologie nasali in generale ed in particolare sul linfoma nasale nei gatti, sono pochi. In questo studio sono state esaminate biopsie endoscopiche di 156 lesioni nasali feline. Le biopsie sono state fissate in formalina e processate routinariamente. Si evidenziavano 35 linfomi, 23 neoplasie epiteliali e 17 sarcomi, mentre in 79 casi si osservavano processi non neoplastici. In 26 casi, i linfomi erano classificati clinicamente come nasali primari, in 6 casi come nasali-nasofaringei e in 3 come rinofaringei. In 26/35 linfomi erano disponibili campioni citologici colorati con May Grünwald-Giemsa. Ai casi di linfoma veniva applicata la classificazione WHO. Si eseguivano inoltre colorazioni immunoistochimiche per CD20, CD3, FeLVp27, FeLVgp70 e Calicivirus. La maggioranza dei gatti era di razza Comune Europea (n=28), con età media di 10,5 anni (range 1-19) e di sesso maschile (F/M=0,54). I linfomi avevano crescita diffusa (31) o nodulare (4). In 6 casi si osservava epiteliotropismo. La distribuzione dei citotipi era di 13 linfomi a piccole cellule, 12 a grosse cellule, 6 a medie cellule, 1 centrocitico-centroblastico di I grado e 3 plasmocitomi. La concordanza diagnostica tra citologia ed istologica era del 50%. In 30 casi si evidenziava un fenotipo B. In 21 casi si osservava positività ad antigeni di FeLV. L'esame necroscopico era eseguito in 4 gatti; in un caso il tumore era limitato al rinofaringe, mentre negli altri era dimostrata una progressione con coinvolgimento degli organi interni. Nonostante la classificazione ed il fenotipo abbiano permesso di diagnosticare entità diverse, la maggioranza dei linfomi era caratterizzata da comportamento aggressivo e prognosi sfavorevole.

Parole chiave: linfoma, gatto, naso, fenotipo, FeLV.

FELINE NASAL LYMPHOMA: CYTOLOGICAL, HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS

Lymphomas are the most common primary nasal tumors in cats. Few reports on feline nasal diseases and nasal lymphomas are currently available. Nasal endoscopic biopsies of 156 cats were analyzed; all samples were formalin-fixed and routinely processed. Lymphomas (35), epithelial neoplasias (23), sarcomas (17) and non neoplastic process (79) were diagnosed. Lymphomas were primary nasal in 26 cats, nasal and nasopharyngeal in 6 and only nasopharyngeal in 3. In 26/35 cases cytology was also available. Lymphomas were classified according to the WHO criteria. Immunohistochemistry for CD20, CD3, FeLVp27, FeLVgp70 and Calicivirus was performed. Most cats were DSH (n=28), with a mean age of 10,5 years (range 1-19) and a male prevalence (F/M=0,54). Lymphomas were diffuse (31) or nodular (4). Epitheliotropism was observed in 6 cases. Cytotypes of lymphomas were 13 small cell lymphomas, 12 large cell types, 6 medium sized, 1 centrocitic-centroblastic grade I and 3 plasmacytomas. Cytology and histology were in agreement in 50% of cases. B cell phenotype was observed in 30 cases and a FeLV positivity was detected in 21 cases. Necropsy was performed in 4 cats; in one cat lymphoma was limited to the nasopharynx while internal organ invasion was evidenced in the other 3. Despite a variable cytotype and phenotype, most lymphomas demonstrated an aggressive clinical course and poor prognosis.

Keywords: lymphoma, cat, nose, phenotype, FeLV.

POLIPI LINFOIDI E LINFOMI A LOCALIZZAZIONE RETTALE IN 4 CANI

Mezzalira Giorgia, Baldassarre Valeria, Trotta Michele, Rondena Marco

Laboratorio D'Analisi Veterinarie San Marco, Via Sorio 114/C, 35141 Padova

In medicina umana i polipi linfoidi rettali o della giunzione ano rettale sono neoformazioni benigne singole o multiple composte da tessuto linfoide sottomucosale iperplastico, tipici dell'infanzia; presentano eziologia virale, familiare o sono secondari ad immunodeficienza. Istologicamente la diagnosi differenziale è rappresentata dai linfomi del MALT. Nel cane le neoformazioni rettali sono generalmente di origine epiteliale, essendo, in tale specie, i MALTomi tipici del piccolo intestino e più raramente localizzati nel colon. Recentemente è stato inoltre descritto un caso di poliposi colon rettale amartomatosa con ganglioneuromatosi. La presente segnalazione riguarda 4 casi di neoformazioni polipoidi rettali o ano-rettali solitarie o multiple riferiti al laboratorio di analisi veterinarie 'San Marco' di Padova, dal 2008 ad oggi, di altrettanti cani di giovane età. Sono state effettuate colorazioni con ematossilina eosina, colorazioni immunoistochimiche con CD 3 e CD 20 e indagine genetica su BCR/TCR per clonalità linfoide. Tre di questi casi istologicamente erano riferibili ad iperplasie linfoidi, una delle quali atipica, ed uno a linfoma. L'indagine immunoistochimica nei tre casi di iperplasia o sospetta tale ha rilevato la presenza di una popolazione mista con prevalenza di linfociti B. Il quarto caso era quasi esclusivamente composto da cellule a fenotipo B. L'indagine genetica sui recettori antigene specifici ha indicato un picco monoclonale BCR solo nel caso di iperplasia linfoide atipica, mentre i restanti tre casi sono risultati essere formati da popolazioni policlonali B e T. In seguito a tali risultati le diagnosi finali sono state di due polipi linfoidi, un linfoma B monoclonale ed un linfoma B policlonale. Questo studio permette di inserire tra le diagnosi differenziali delle neoformazioni rettali canine, oltre alle forme epiteliali, i polipi linfoidi e i linfomi; inoltre ha permesso di identificare due casi di linfomi a localizzazione primaria rettale, uno dei quali policlonale.

Parole chiave: polipo; linfoide; linfoma; retto; cane.

RECTAL LYMPHOID POLYPS AND LYMPHOMAS IN FOUR DOGS

In human beings, lymphoid polyps (LP) are submucosal tumors formed of hyperplastic lymphoid tissue mostly of them occurring in the lower rectum. LP occur mostly in children as a consequence of viral infections, immunodeficiency or as a familial disease. LP must be differentiated from low grade MALToma. In dogs, rectal neoplasias are commonly of epithelial origin. Here we describe four cases of canine rectal neoformations referred to the Private Laboratory of Veterinarian Analysis San Marco of Padua. Histologically three out four were consistent with LP, one of which atypical, and one was consistent with lymphoma. Immunohistochemistry in the first three cases revealed the presence of a mixed lymphoid population with B-cell prevalence. The fourth case was almost entirely composed by B cells. Genetic investigations for BCR and TCR clonality were then performed. Two cases of lymphoid hyperplasia were composed by a polyclonal B and T cell population whereas the atypical lymphoid hyperplasia was formed by a monoclonal B cell proliferation and a polyclonal T cell population. The fourth case, that histologically and at the immunohistochemistry was consistent with lymphoma, resulted to be made by a polyclonal B cell population. LP and primary lymphoma should be considered in the list of differential diagnosis in polypoid rectal disease also in dog.

Key words: polyp; lymphoid; lymphoma; rectum; dog.

LIPOSARCOMA MIXOIDE SPLENICO PRIMARIO IN DUE CANI

Forlani Annalisa¹, Avallone Giancarlo¹, Stefanello Damiano², Palmieri Chiara³, Santagostino Sara Francesca¹, Roccabianca Paola¹

¹Dipartimento di Patologia Animale Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Itali. ²Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Itali. ³School of Veterinary Science, University of Queensland, Gatton Campus, QLD

I sarcomi non vascolari/non linfoidi (SNVNL) rappresentano il 23-34% dei tumori primari splenici del cane. Il liposarcoma splenico è molto raro rappresentando il 2-6% dei SNVNL. Il liposarcoma è più frequentemente una neoplasia sottocutanea per la quale sono state riportate le varianti istologiche differenziata, mixoide e pleomorfa, mentre a livello splenico non sono riportate le varianti. In due cani, un incrocio maschio di 8 anni ed un Bouledogue francese femmina di 15 anni venivano evidenziate rispettivamente una massa splenica rotondeggiante di 15 cm e una massa bilobata di 7,5 x 6 cm. In sezione le neoplasie presentavano superficie traslucida, gelatinosa e mucoide. Si eseguivano istologia, colorazioni istochimiche, immunoistochimiche e microscopica elettronica. L'istologia evidenziava, in entrambi i casi, cellule neoplastiche organizzate in fasci, frammiste ad abbondante matrice extracellulare. Le cellule neoplastiche erano fusate con citoplasma debolmente eosinofilo, che occasionalmente conteneva vacuoli a margini netti ed otticamente vuoti. L'indice mitotico era di 0,1 e 1,6, rispettivamente. Sulla base della morfologia si poneva una diagnosi di mixosarcoma di II grado in entrambi i casi. La matrice extracellulare era Alcian-Blue positiva e PAS negativa. I vacuoli citoplasmatici erano Oil-red O positivi. Le cellule neoplastiche erano vimentina positive ed actina, desmina, fattore VIII ed S100 negative. In un caso la microscopia elettronica evidenziava cellule adipose a vari stadi maturativi. Due mesi post splenectomia il primo cane veniva soppresso e l'autopsia evidenziava metastasi epatiche disseminate e linfonodali del tumore primario. Solo le analisi aggiuntive permettevano la diagnosi di liposarcoma mixoide.

Parole chiave: cane; istochimica; microscopia elettronica; liposarcoma mixoide; milza.

PRIMARY SPLENIC MYXOID LIPOSARCOMA IN TWO DOGS

Nonvascular-nonlymphoid (NVNL) sarcomas represent 23-34% of canine primary splenic sarcomas. Splenic liposarcoma accounts for 2-6% of NVNL. Liposarcomas commonly arise in the subcutaneous fat and are classified in three histologic variants: differentiated, myxoid and pleomorphic. No histological subtyping has been described for splenic cases. Two dogs, a mongrel 8-year-old male and a Bouledogue 15-year-old female presented with a splenic round mass of 15 cm and a bilobed mass of 7,5 x 6 cm. On cut section both tumours had a translucent, gelatinous and mucous surface. Histology, histochemistry, immunohistochemistry and electron microscopy (EM) (1 case) were performed. Histology was characterized by neoplastic cells organized in loose bundles admixed with abundant extracellular matrix. Neoplastic cells were spindle, with lightly eosinophilic cytoplasm occasionally containing sharply demarcated clear vacuoles. Mitotic index was 0,1 and 1,6, respectively. Morphology was consistent with myxosarcoma of grade II in both cases. Matrix was Alcian-Blue positive and PAS negative. Vacuoles were Oil red O positive. Neoplastic cells were vimentin positive and actin, desmin, Factor VIII, S100 negative. In one case, EM evidenced adipose cells at different maturative stages. Two months post-splenectomy the first dog was euthanized and necropsy revealed disseminated hepatic metastases and lymph node involvement. Ancillary techniques were necessary for the diagnosis of myxoid liposarcoma.

Keywords: dog; histochemistry; electron-microscopy; myxoid liposarcoma; spleen.

INDAGINE SULLA PREVALENZA DI COPV IN PAPILOMI E CARCINOMI SQUAMOSI ORALI DEL CANE

Porcellato Ilaria, Brachelente Chiara, Guelfi Gabriella, Mechelli Luca

Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari - Sezione Patologia ed Igiene Veterinaria- Università degli Studi di Perugia - Via S. Costanzo, 4 06126, Perugia

COPV (Canine Oral Papillomavirus) è la causa della papillomatosi orale nel cane. Secondo alcuni studi questo virus sarebbe implicato anche nell'insorgenza di carcinomi squamosi (CS) orali nella stessa specie; tuttavia non è ancora stato chiarito se la sua presenza giochi un ruolo fondamentale, se l'infezione sia da considerare secondaria alle neoplasie stesse o, ancora, se rappresenti solo un *innocent bystander*. In medicina umana, molti dei HPV (Human Papilloma Virus) sono stati classificati in *high-risk* e *low-risk* a seconda della capacità di esprimere una progressione neoplastica maligna delle lesioni papillomavirus-indotte. Le conoscenze in medicina veterinaria su COPV non sono invece sufficienti per tentare una classificazione in una di queste categorie. Lo studio che abbiamo condotto ha avuto la finalità di valutare la presenza di COPV nei papillomi virali (PV), nei papillomi squamosi (PS) e nei CS del cane al fine di acquisire ulteriori dati circa il suo reale coinvolgimento nella patogenesi di questi specifici eventi neoplastici. A tal fine, sono stati presi in considerazione 40 casi, di cui 12 PV, 6 PS e 22 CS, tutti con localizzazione orale. In un primo momento un'indagine immunohistochimica ha confermato, nella maggior parte dei casi, la diagnosi istopatologica di PV, mentre PS e CS non hanno mostrato positività specifiche. I campioni sono stati poi valutati tramite real time-PCR. Sono state disegnate a tal fine delle sonde sulla sequenza nota di COPV, preferendo zone con bassa omologia di sequenza con altri papillomavirus. L'indagine non ha evidenziato DNA appartenente a COPV nei campioni negativi all'immunohistochimica. Da quanto emerso in questo studio, COPV non è presente nei PS e nei CS. Sebbene il numero di campioni sottoposto ad indagine possa ritenersi limitato, è possibile ipotizzare che COPV rappresenti un papillomavirus *low-risk*, non essendo risultato presente nei CS. Tuttavia, sono in corso ulteriori ricerche che potrebbero confermare in maniera più approfondita tale ipotesi.

Parole chiave: COPV; papillomavirus; cane; papilloma; carcinoma squamoso.

INVESTIGATION ON COPV PREVALENCE IN ORAL PAPILOMAS AND SQUAMOUS CELL CARCINOMAS OF DOGS

Canine Oral Papillomavirus (COPV) is the cause of oral papillomatosis in dogs. It is not clear yet if the virus plays a key role in the pathogenesis of oral squamous cell carcinomas (SCC), if the infection is favored by the neoplastic microenvironment, or if the virus can be considered as an innocent bystander. In human medicine, some of HPVs (Human Papilloma Viruses) are classified into high-risk and low-risk, according to the probability of malignant transformation of papillomavirus-induced tumors. At present, data on COPV are not sufficient for a classification in one of these two categories. In this study we investigated the presence of DNA of COPV in both viral papillomas (VP), squamous papillomas (SP) and SCC. 40 samples were examined: 12 VPs, 6 SPs and 22 SCCs, all localized in the oral cavity. First, immunohistochemistry was carried out and SPs and SCCs were all negative. Samples were then tested with real-time-PCR using probes for COPV, revealing no positivity in SPs and SCCs. According to our results, COPV is not present in SPs and in SCCs. As the number of samples tested is small, it can be suggested that COPV may be classified as low-risk papillomavirus, having found no positivity in SCCs. However, further studies are necessary to substantiate this hypothesis.

Keywords: COPV; papillomavirus; dog; papilloma; squamous cell carcinoma.

LUCI E OMBRE DI UN REGISTRO TUMORI ANIMALI: STIMA DELL'INCIDENZA DELLE NEOPLASIE SPONTANEE NEI CANI RESIDENTI IN VENETO

Vascellari Marta^a, Capello Katia^a, Baioni Elisa^b, Bortolotti Laura^a, Lanari Manuela^a, Trolese Matteo^a, Carminato Antonio^a, Mutinelli Franco^a

^aIstituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, (PD). ^bIstituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta

L'Istituto Zooprofilattico delle Venezie gestisce dal 2005 un registro tumori del cane nelle province di Venezia e Vicenza, con l'obiettivo di produrre dati attendibili di incidenza e di prevalenza della patologia neoplastica spontanea del cane, specie che vive a stretto contatto con l'uomo e ne condivide numerosi fattori di rischio ambientali. Per la rilevazione dei casi incidenti è stata creata una rete di collaborazione con le strutture veterinarie cliniche, impegnate a segnalare al laboratorio i casi di neoplasia rilevati nei soggetti residenti nel territorio oggetto di studio; sono stati registrati i referti di campioni istologici e citologici prelevati in sede chirurgica, autoptica e bioptica. Per definire correttamente la popolazione di cani residenti nel territorio di studio è stato utilizzato un metodo di stima basato su un modello di cattura-ricattura, utilizzando come fonti indipendenti i dati dell'anagrafe canina regionale e i risultati di un'indagine telefonica attuata su un campione di 2460 famiglie residenti nel territorio regionale. I tassi di incidenza (n di casi/100000 cani in 84 mesi) sono stati calcolati su tutto il territorio di studio e confrontati con l'incidenza stimata in aree più ristrette di entrambe le province, selezionate sulla base di criteri che ne garantissero la completezza della casistica. L'incidenza totale dei tumori per le province di Vicenza e Venezia è risultata di 314 casi ogni 100000 cani/anno, mentre l'incidenza nelle aree selezionate è risultata di 377 per l'area vicentina e 382 per l'area veneziana. I cani di razza pura hanno un tasso di incidenza più alto rispetto ai meticci (area vicentina – RR: 1,65 (IC95%:1,52-1,80); area veneziana – RR: 1,38 (IC95%: 1,21-1,58)). I tumori con tassi di incidenza più alti sono i tumori mammari, i tumori testicolari, i sarcomi dei tessuti molli, il mastocitoma e il linfoma. I tassi di incidenza stratificati per classe di età, evidenziano un picco nelle classi dagli 8 ai 14 anni. A parità di struttura di popolazione, la differenza nella stima dei tassi di incidenza in aree geografiche differenti per estensione dimostra che differenti fattori possono influire sulla corretta rilevazione dei casi incidenti. La rilevazione dei tassi in aree circoscritte e ben delimitate da aree cuscinetto è più rappresentativa del reale peso di questa patologia nella popolazione animale rispetto alla rilevazione in ambiti territoriali più vasti.

Parole chiave: tumori; incidenza; cani; registro.

POPULATION-BASED INCIDENCE OF SPONTANEOUS TUMOURS IN DOGS LIVING IN VENETO REGION

In April 2005, a population-based tumour registry of dogs living in Venice and Vicenza provinces (Italy) was established, to estimate incidence of spontaneous tumours in the study area.

The capture-recapture method was used to estimate the canine population. Two independent sources were considered: the official regional canine demographic registry (capture) and data from a telephone survey, performed on a random sample of 2,460 families, stratified by provinces (recapture). Incidence rates (IRs) were calculated as the annual rate per 100,000 dogs, in the study period (84 months). This study provides an accurate estimation of the canine population in the study area, as well as epidemiological data about spontaneous tumour incidence in dogs. Information from cancer registries can support studies of cause and prevention, as well as diagnosis, and survival of different tumour entities.

Keywords: cancer; incidence; dogs; registry.

PRODUZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI UN ANTICORPO POLICLONALE ANTI-AMILOIDE SERICA A BOVINA

Ceciliani Fabrizio, Soler Vasco Laura*, Grilli Guido, Roccabianca Paola, Santagostino Sara Francesca, Restelli Laura, Greppi Carlo^o, Sartorelli Paola

*Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, e CISMA - Centro Interdipartimentale di Studi sulla Ghiandola Mammaria, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10, Milano. *Livestock-Nutrition-Quality Division, Bioscience Engineering Faculty, Catholic University Leuven, Kasteelpark Arenberg 30, Heverlee, Belgium. ^o A.S.L. Cremona, U.O. Area B - Pandino*

La amiloide serica A (SAA) è la principale proteina di fase acuta negli animali domestici ed è coinvolta nello sviluppo dell'amiloidosi, dal momento che una sua persistente sovraespressione è correlata allo sviluppo di questa patologia. La valutazione della concentrazione serica della SAA viene eseguita tramite un test ELISA, poco specifico ed affidabile. Sono pochi gli anticorpi anti-SAA utilizzabili a questo fine, dal momento che la SAA è una proteina molto conservata fra le specie, ma soprattutto la sua struttura secondaria è instabile, e tende a precipitare producendo aggregati insolubili che ne impediscono una buona presentazione antigenica. Il risultato è un pool di anticorpi con una bassa sensibilità e specificità. L'obiettivo di questo studio è stato di produrre anticorpi policlonali nei confronti di una specifica sequenza della SAA, presente nei ruminanti ma non nel coniglio. La sequenza antigenica è stata prodotta come multiple antigenic presenting peptide, e quindi inoculata in conigli. Il contenuto di IgG è stato purificato e la sensibilità e specificità sono stati analizzati mediante western blotting su siero di ruminanti (capre, bovini e bufali) ed immunostochimica, utilizzando tessuti amiloidotici. L'anticorpo riconosce in modo specifico e con alta sensibilità il siero di tutti e tre i ruminanti, e reagisce con i depositi di amiloide presenti nel rene congelato, ma non nella milza dopo fissaggio in formalina. Gli ulteriori sviluppi di questo progetto consisteranno nella utilizzazione dell'anticorpo in saggi immunometrici.

Parole chiave: proteine di fase acuta; bovino; serum amyloid A; amiloidosi; bovino.

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF A POLYCLONAL ANTIBODY AGAINST BOVINE SERUM AMYLOID A

Serum amyloid A (SAA) is an acute phase protein so named due to its involvement in reactive Amyloid A amyloidosis. From a clinical perspective, SAA is also a biomarker in almost all farm animal species investigated so far. The assessment of SAA concentration in cow serum has been carried out until today using commercially available multispecies ELISA, with neither reliable nor specific results. Few suitable cross-reacting antibodies are available at the moment. A number of major obstacles in the production of a specific antibody against SAA have been identified, including the high degree of homology in SAA primary structure and the instability of the protein, leading SAA to precipitate once inoculated with formation of insoluble aggregates hampering a right presentation of the antigens. The aim of this study was to produce a polyclonal antibody towards a bovine SAA-specific amino acid insert, which is present in ruminants, but not in rabbits. A specific peptide was synthesized as multiple antigens presenting peptide and rabbits were immunized. Total IgG content was then purified from hyperimmune serum, and the antibody sensitivity and specificity were analyzed by western blotting against cow, water buffalo and goat serum, as well as immunohistochemistry on amyloidotic tissues. The antibody recognized with very high sensitivity and specificity, serum from all the three ruminant species. By immunohistochemistry, the antibody reacted with amyloid deposits in bovine renal frozen tissue but was unreactive for amyloid after formalin fixation and paraffin embedding of renal and spleen bovine tissue samples. Further development of this project includes the utilization of the anti-ruminant SAA antibody in immunometric assays.

Keywords: acute phase proteins; cow; serum amyloid A; cow.

EFFETTO DELLA SIALILAZIONE DELL'ALFA-1-GLICOPROTEINA ACIDA SULL'ATTIVITA' FAGOCITARIA DI LEUCOCITI FELINI

Rossi Gabriele, Capitani Letizia, Cecilian Fabrizio, Paltrinieri Saverio

*Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria - Sezione di Patologia
Generale Veterinaria e Parassitologia - Università degli Studi di Milano*

Nella patogenesi della peritonite infettiva felina (FIP) gioca un ruolo fondamentale la risposta immunitaria e fagocitaria. La alfa-1-glicoproteina acida (AGP) è una proteina altamente glicosilata e l'entità della glicosilazione influenza l'attività immunomodulatoria. L'AGP in corso di FIP è iposialilata mentre nei gatti esposti al coronavirus che non sviluppano malattia è ipersialilata, quindi l'ipotesi è che la glicosilazione influenzi la risposta fagocitaria dei neutrofili e dei monociti. Scopi del lavoro: messa a punto di un metodo di citometria a flusso per valutare la fagocitosi nel gatto e valutare se l'AGP felina iposialilata altera l'attività fagocitaria dei leucociti di gatto. A questo scopo è stata purificata l'AGP da sieri di gatto con concentrazione di AGP normale e con concentrazione di AGP compatibile con FIP ed è stato valutato il tipo di sialilazione. Sono stati prelevati 16 campioni di sangue da gatti sani, 10 dei quali per la messa a punto e la validazione del metodo citofluorimetrico e 6 per valutare l'attività fagocitica con e senza incubazione con AGP a differente sialilazione. Il metodo è preciso per la valutazione dei neutrofili attivati (CV medio \pm SD: 10,5 \pm 7,5%) meno per quella dei monociti (CV medio \pm SD: 15,8 \pm 15,6%). Rispetto ai campioni di controllo, l'incubazione con l'AGP felina iposialilata deprime la fagocitosi sia neutrofilica che monocitaria anche se è evidente un'elevata variabilità individuale soprattutto per quest'ultima. Conclusioni: la depressione dell'attività fagocitaria dei neutrofili indotta dalla AGP iposialilata potrebbe contribuire alla patogenesi della FIP.

Parole chiave: fagocitosi; AGP; sialilazione; citometria a flusso; leucociti felini.

EFFECT OF ALPHA-1-ACID GLYCOPROTEIN ON PHAGOCYtic ACTIVITY OF FELINE LEUKOCYTES

The immune response of the host and the phagocytic activity are cornerstones in the pathogenesis of Feline Infectious Peritonitis (FIP). Alpha—1- acid glycoprotein (AGP) transiently increases and is hyper-sialylated in clinically healthy cats infected with the coronavirus (FCoV) and conversely it is hyposialylated in cats with FIP. AGP is a heavily glycosylated protein and changes of its glycan moiety influences its immunomodulatory activities. The hypothesis of this study is that the hyposialylation of AGP recorded in cats with FIP could increase the susceptibility to FCoV by altering the phagocytic responses of granulocytes or monocytes. To this aim AGP was purified from feline sera with normal and high concentration of AGP and the degree of sialylation was evaluated. 16 blood samples were collected by healthy cats to set up the method (10 cases) or to assess the phagocytic responses in the presence or in the absence of feline AGP (6 cases). The precision of the method was high (CV mean \pm SD: 10.5 \pm 7.5%) for activated neutrophils but low (CV mean \pm SD: 15.8 \pm 15.6%) for monocytes. Compared with controls, hyposialylated AGP depresses the phagocytic activity of both neutrophils and monocytes, even if the high individual variability of monocyte responses could affect the interpretation of these latter results. In conclusion, the depression of phagocytic activity induced by hyposialylated AGP could play a role in the pathogenesis of FIP.

Key words: phagocytosis; AGP; sialylation; flow cytometry; feline leukocytes.

IL MORBO COITALE MALIGNO IN ITALIA: QUADRI ANATOMO-ISTOPATOLOGICI ED IMMUNOISTOCHEMICI IN CAVALLI NATURALMENTE INFETTI

Di Francesco Gabriella, Pascucci Ilaria, D'Angelo Anna Rita, Marruchella Giuseppe, Scacchia Massimo

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", via Campo Boario, 64100, Teramo, Italia.

Il morbo coitale maligno (MCM) è una malattia degli equidi sostenuta da *Trypanosoma equiperdum*, un protozoo flagellato. A differenza delle altre tripanosomosi, la trasmissione del MCM avviene per contatto diretto durante il coito, senza richiedere l'intervento di insetti vettori. Nel maggio 2011, dopo oltre un decennio, il MCM è stato nuovamente segnalato in Italia. La malattia è stata dapprima sospettata in uno stallone della provincia di Catania, quindi confermata dal "Centro Studi Malattie Esotiche" (CESME) presso l'Istituto "G. Caporale" di Teramo. Tra il 23 maggio ed il 16 giugno 2011, l'indagine epidemiologica ha permesso di rilevare 5 focolai d'infezione in Sicilia ed in Campania. Successivamente, le attività di sorveglianza poste in essere su tutto il territorio nazionale hanno individuato 2 focolai (Campania e Puglia), epidemiologicamente non correlati né fra di loro né con in precedenti. Sette cavalli, a seguito dell'aggravarsi della sintomatologia clinica riferibile al terzo stadio di MCM, sono stati abbattuti e sottoposti a necropsia. Una vasta gamma di tessuti sono stati prelevati e processati per le indagini morfologiche. Le lesioni più significative hanno coinvolto la cute, i genitali esterni, il sistema immunoemopoietico, le ghiandole mammarie, il sistema nervoso periferico e le articolazioni, con caratteri analoghi alle poche descrizioni disponibili in letteratura. L'immunoistochimica ha dimostrato la presenza di *T. equiperdum* nelle tipiche lesioni cutanee. Le esperienze maturate forniscono un utile contributo alla conoscenza del MCM, patologia raramente descritta nei suoi aspetti lesivi e la cui patogenesi mostra tuttora molti punti oscuri. I risultati ottenuti permettono di correlare le manifestazioni cliniche con le lesioni. Le indagini immunoistochimiche si propongono quale valido ausilio nello studio della patogenesi del MCM.

Parole chiave: morbo coitale maligno; *Trypanosoma equiperdum*; lesioni; immunoistochimica.

DOURINE IN ITALY: PATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FINDINGS IN NATURALLY INFECTED HORSES

Dourine is a parasitic disease of equines caused by the flagellate protozoan *Trypanosoma equiperdum*. Unlike other trypanosomosis, dourine is not transmitted by invertebrate vectors but during breeding of infected mares. After more than a decade, dourine re-occurred in Italy in May 2011. The disease was first suspected in a stallion living near Catania (Sicily), and diagnosis was then confirmed by the "Italian Reference Centre for Animal Foreign Diseases" (CESME, Teramo, Italy). The epidemiological investigations detected 5 outbreaks of dourine in Sicily and Campania regions. Furthermore, the national surveillance plan identified 2 epidemiologically unrelated outbreaks of dourine in Southern Italy (Campania and Puglia regions). Seven horses showed severe clinical signs and were then euthanized and submitted for necropsy. A wide range of tissue samples were collected and routinely processed for histopathological and immunohistochemical studies. Lesions mainly affected skin, external genitalia, hematopoietic system, udder, peripheral nervous system and joints. Immunohistochemistry demonstrated *T. equiperdum* antigens within skin plaques. This work extends the knowledge about dourine, which is rarely described and whose pathogenesis is largely unknown. Clinical signs correlated with gross and microscopic lesions. Immunohistochemistry represents a valuable tool in order to investigate dourine pathogenesis.

Key words: dourine; *Trypanosoma equiperdum*; lesions; immunohistochemistry.

LA PATOGENESI DELLA SCRAPIE OVINA DOPO INFEZIONE SPERIMENTALE INTRA-TONSILLARE

Cancedda Maria Giovanna¹, Di Guardo Giovanni², Chiocchetti Roberto³, Demontis
Francesca¹, Marruchella Giuseppe², Sorteni Caterina³, Di Donato Guido², Macciocu Simona¹,
Contu Claudia¹, Ligios Ciriaco¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna; Sassari. ²Università degli Studi di Teramo,
Dipartimento di Scienze Biomediche Comparete; Teramo. ³Università degli Studi di Bologna,
Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie; Bologna

In questo studio abbiamo verificato l'ipotesi che la proteina prionica patologica (PrP^{Sc}) possa raggiungere il sistema nervoso centrale (SNC) direttamente dalle tonsille palatine (TP) tramite la via nervosa e/o tramite quella linfo-ematogena. A tal fine, agnelli di 40 giorni di età, inoculati monolateralmente per via intra-tonsillare con 50 µl di un omogenato al 25% ottenuto da encefali di pecore affette da scrapie classica, sono stati sacrificati ed esaminati a differenti periodi post-inoculo (pi). Mediante metodi immunostochimici ed immunobiochimici, la PrP^{Sc} è stata evidenziata esclusivamente nella TP inocolata e nel linfonodo retrofaringeo mediale ipsilaterale di 3 agnelli a 3 mesi pi. Negli agnelli sacrificati successivamente l'accumulo di PrP^{Sc} ha interessato un numero crescente di tessuti linfo-reticolari (LR), con depositi di PrP^{Sc} rilevati anche nelle placche del Peyer a 7 mesi pi. Nel SNC, il più precoce accumulo di PrP^{Sc} è stato osservato monolateralmente nella *substantia reticularis* della regione dell'*obex* a 9 mesi pi. L'esperimento è ancora in corso e nessun soggetto ha manifestato segni neurologici a 14 mesi pi. Questi risultati suggeriscono che, a partire dalle TPs, la PrP^{Sc} può raggiungere il SNC in un periodo di tempo molto simile a quello riportato per gli agnelli infettati sperimentalmente *per os*. Inoltre, la monolateralità dei primi depositi di PrP^{Sc} nell'encefalo indica che la neuroinvasione, almeno nella fase iniziale, avverrebbe per via nervosa. Infine, i nostri dati suggeriscono che le vie parasimpatica vagale e simpatica splanchnica non rappresenterebbero le sole vie nervose tramite le quali la PrP^{Sc} raggiungerebbe il SNC.

Parole chiave: scrapie; tonsilla palatina; PrP^{Sc}; ovino.

OVINE SCRAPIE PATHOGENESIS AFTER EXPERIMENTAL INTRA-TONSILLAR INFECTION

We tested herein the hypothesis that PrP^{Sc} may colonize the central nervous system (CNS) directly from palatine tonsils (PTs), either travelling along the nervous system and/or by the lympho-haematogenous route. To test this, we injected monolaterally 50 µl of a 25% brain homogenate from classical scrapie-affected sheep into the PT of 40 days-old lambs, which were then euthanized and examined serially starting from 7 days post-inoculation (pi). By means of PrP^{Sc} immunohistochemistry and Western-blotting investigations we firstly detected PrP^{Sc} within the inoculated PT and in the ipsilateral medial retropharyngeal lymph node in 3 lambs at 3 months pi. In the subsequently euthanized lambs, PrP^{Sc} deposition occurred in other lymphoid tissues, with the ileal Peyer's patches being colonized by PrP^{Sc} at 7 months pi. Within the CNS, the earliest PrP^{Sc} deposition was detected monolaterally in the *substantia reticularis* of the *obex* region at 9 months pi. The experiment is still ongoing and no clinical signs have been observed at 15 months pi in any animal. In the case of intra-tonsillar infection, our data support a preliminary PrP^{Sc} replication in loco-regional lymphoid tissues from which an "autonomous" neuroinvasion process is likely to develop, in a time span similar to that reported in orally infected lambs. In addition, the monolateral aspect of the early PrP^{Sc} deposition in the *obex* region indicates that PrP^{Sc} gains access to CNS exclusively by the neural route, at least in the first neuroinvasion steps. Finally, our results suggest that the parasymphathetic vagal and sympathetic splanchnic nerves could not represent the unique nervous route by which the PrP^{Sc} enters the CNS.

Key words: scrapie; palatine tonsil; PrP^{Sc}; sheep.

STUDIO DELLA RISPOSTA INFIAMMATORIA ED IMMUNITARIA CUTANEA IN CASI DI BESNOITIOSI BOVINA SPONTANEA

Lepri Elvio¹, Brachelente Chiara¹, Porcellato Ilaria¹, Sforza Monica¹, Filippini Giovanni², Comazzi Stefano³, Oevermann Anna⁴, Mechelli Luca¹, Vitellozzi Giovanni¹

¹Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali ed Alimentari, Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia. ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche. ³Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano. ⁴Neurocenter, Department of Clinical Research and Veterinary Public Health, Vetsuisse Faculty, University of Bern

La besnoitiosi bovina è una malattia protozoaria sostenuta da *Besnoitia besnoiti*; sebbene l'infezione possa estendersi a molti animali, la malattia clinica caratterizzata dalle tipiche lesioni cutanee è piuttosto rara. Lo scopo del lavoro è quello di esaminare 9 casi di besnoitiosi spontanea, valutando gli aspetti istopatologici, la caratterizzazione immunofenotipica della risposta immunitaria cutanea e le modificazioni delle popolazioni leucocitarie ematiche. Le indagini immunistochemiche sono state condotte con i seguenti anticorpi: CD3, CD4, CD8 (linfociti T); CD20 (linfociti B), Foxp3 (regulatory T cells - Tregs); WC1 (γ - δ T cells); MAC387, Lysozyme, CD68, MHCI, MHCII (macrofagi-cellule dendritiche); IFN- γ . Sangue intero in EDTA proveniente da 6 soggetti è stato esaminato mediante analizzatore automatizzato laser per la determinazione dell'esame emocromocitometrico e mediante citometria a flusso per la determinazione delle sottopopolazioni leucocitarie utilizzando i seguenti anticorpi: CD4, CD8, TCR gamma-delta, WC1 e CD21. L'esame istopatologico della cute ha evidenziato un numero variabile di cisti particolarmente nel derma superficiale, dove raggiungevano il numero di circa 50 per campo a piccolo ingrandimento. Le cisti dermiche, sia degenerate che vitali, erano associate ad una reazione infiammatoria cronica con pattern istologico variabile e formata da linfociti e macrofagi, con un numero inferiore di plasmacellule e di granulociti eosinofili. Occasionalmente erano presenti anche cellule epitelioidi e cellule giganti multinucleate. L'esame emocromocitometrico non ha mostrato alterazioni numeriche di rilievo mentre l'esame delle popolazioni leucocitarie ha mostrato spesso una diminuzione della percentuale di T helper CD4+ con frequente inversione del rapporto CD4/CD8. Durante l'esame istopatologico sono emerse alcune differenze nella associazione tra grado di parassitismo, gravità e tipologia del processo infiammatorio e sua caratterizzazione immunofenotipica.

Parole chiave: bovino; besnoitiosi; dermatite; immunistochemica; citometria a flusso.

STUDY OF CUTANEOUS IMMUNE AND INFLAMMATORY RESPONSE IN CASES OF SPONTANEOUS BOVINE BESNOITIOSIS

Aim of the work is to investigate clinical spontaneous cases of bovine besnoitiosis by the means of histological and immunohistochemical methods on skin samples and blood from affected animals. Histologically there was a great variability of the parasite burden (up to 50 cysts / 10x field) and the lesions graded from none to multifocal to diffuse lymphoplasmacytic to granulomatous dermatitis, focused around both viable and degenerated cysts. The inflammatory cells were mainly T lymphocytes and macrophages in interstitial and granulomatous patterns, respectively. No haematological alterations were found except for a frequent decrease of CD4 + lymphocytes often with CD4/CD8 ratio lower than 1. Some differences have been observed among different pattern of histopathological lesions, immunophenotype of infiltrating cells and disease severity.

Key words: bovine; besnoitiosis; dermatitis; immunohistochemistry; flow cytometry.

IDENTIFICAZIONE IMMUNOISTOCHEMICA DI CELLULE DERIVATE DALLA MEMBRANA AMNIOTICA DI PLACENTA UMANA DOPO TRAPIANTO IN UTERO DI RATTE GRAVIDE

Antuofermo Elisabetta¹, Burrai Giovanni P.¹, Farigu Serafina¹, Demontis Maria P.¹, Pasciu Valeria¹, Anania Vittorio¹, Parolini Ornella², Varoni Maria V.¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Sassari. ²Fondazione Poliambulanza Istituto Ospedaliero - Brescia - Centro di Ricerca "E. Menni"

La placenta umana, un organo con la funzione primaria di garantire gli scambi nutritivi tra madre e feto, si è recentemente rivelata una fonte di cellule staminali di notevole interesse vista l'assenza di problemi etici nel suo utilizzo. La membrana amniotica della placenta umana a termine è costituita da cellule epiteliali (hAEC) e da cellule stromali mesenchimali (hAMC), popolazioni eterogenee all'interno delle quali si è dimostrata la presenza di cellule progenitrici e staminali in grado di differenziare verso linee mature della linea ecto-, meso- ed endo-dermica. Le hAEC e le hAMC, presentano, inoltre, una ridotta immunogenicità e proprietà immunomodulatorie, sia controllando la proliferazione dei linfociti T che bloccando la differenziazione da monociti a cellule dendritiche. Lo scopo del lavoro è stato quello di identificare la presenza di cellule isolate dalla membrana amniotica umana dopo trapianto in feti di ratte gravide. Lo xenotrapianto è stato effettuato inoculando un pool di 2×10^5 cellule amniotiche (hAEC e hAMC) ottenute da placenta umana nel sacco gestazionale di 2 femmine di ratto Sprague-Dawley a 14 giorni di gravidanza. Dopo 24h dall'inoculo, le ratte sono state sacrificate e 25 feti con i rispettivi annessi embrionali sono stati sottoposti a processazione istopatologica. Sezioni seriali sono state colorate in ematossilina eosina e sottoposte ad analisi immunoistochimica con anticorpo anti-HLA Class I ABC (Abcam 70328). Il 20% dei feti ha mostrato una immunopositività di membrana all'anticorpo anti-HLA Class I, a carico dell'amnios e della cavità encefalica, rispettivamente nel 16% e nel 4% dei soggetti esaminati. Sebbene preliminari, i nostri risultati dimostrano che è possibile identificare la presenza di cellule amniotiche umane in tessuti/organi dopo xenotrapianto. Tuttavia, per valutare le proprietà di attecchimento delle cellule derivate da placenta umana dopo trapianto, risultano necessari un maggior numero di animali ed un'analisi temporale sino a 20 giorni dopo l'inoculo.

Parole chiave: membrana amniotica; xenotrapianto; ratto; immunoistochimica.

IMMUNOHISTOCHEMICAL IDENTIFICATION OF HUMAN AMNION PLACENTA CELLS AFTER IN UTERO TRASPLANTATION IN RATS

The human placenta has recently become of great interest as a source of stem cells. Human amniotic epithelial (hAEC) and mesenchymal stromal cells (hAMC) display key features of pluripotent stem cells and are capable to differentiate into the cells of all three germ layers. Moreover, hAEC and hAMC present immunogenicity and immunomodulatory properties. The purpose of this study was to track human amniotic cells after *in utero* transplantation in rats by immunohistochemistry. Xenotransplantation was performed by injection of each fetus with 2×10^5 cells (hAEC and hAMC) in 2 rats at day 14th of pregnancy. Rats were sacrificed 24h after cells injection and 25 fetuses were processed for histopathology and subjected to immunohistochemistry (anti-HLA Class I ABC). Human amniotic cells were detected in 20% of the fetuses, mostly in the amnion membrane (16%) and in one case in the brain (4%). Our preliminary results demonstrate the feasibility of tracking human amniotic cells after xenotransplantation. Further studies are necessary to understand the engraftment properties of human placenta-derived cells.

Key words: amniotic membrane; xenotransplantation; rat; immunohistochemistry.

ANALISI ISTOLOGICA DI TESSUTO DISCALE ERNIATO PRELEVATO CHIRURGICAMENTE. STUDIO PRELIMINARE SU 18 CANI

**Beha Germana, Pisoni Luciano, Mandrioli Luciana, Bombardi Cristiano, Muscedere Daniele,
Del Magno Sara, Cinti Filippo, Benazzi Cinzia**

*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, via Tolara di Sopra 50 40064
Ozzano Emilia (BO)*

Le ernie dei dischi intervertebrali costituiscono ad oggi una patologia debilitante e dolorosa, che colpisce prevalentemente razze canine condrodistrofiche. La valutazione sia della tipologia di lesione (estrusione e protrusione) che della localizzazione del materiale erniato viene comunemente effettuata con risonanza magnetica a cui segue intervento chirurgico. La necessità di una graduazione istologica del tessuto discale prelevato ha costituito lo scopo di questo lavoro, preliminarmente basato sulla messa a punto di una metodica semiquantitativa per la definizione di gradi di degenerazione delle varie componenti del disco (nucleo polposo e anello fibrocartilagineo). In sede di chirurgia per ernia, diagnosticata con diagnostica per immagini avanzata, su 18 cani di età compresa tra i 3 ed i 13 anni, di entrambi i sessi, condrodistrofici e non, nei tratti cervicali e toraco-lombari, sono stati prelevati frammenti di materiale erniario, i quali sono stati sottoposti ad esame istologico (sezioni colorate con E-E e Gruber). I primi risultati hanno permesso di graduare sia per il nucleo che per l'anello le variazioni di densità cellulare e le lesioni strutturali, secondo una metodica mutuata dalla Medicina Umana. Il grading ha previsto, inoltre, la quantificazione dell'infiammazione e della calcificazione, in quanto presenti a livello di nucleo in 10 casi. Tutti i frammenti analizzati mostravano degenerazione di gravità variabile. Per confermare la validità del grading, e quindi l'entità delle lesioni, sono stati prelevati e sottoposti ad esame istologico 3 frammenti di materiale discale prelevato da soggetti deceduti esenti da patologie erniarie.

Parole chiave: cane; grading istologico; dischi intervertebrali; ernia; emilaminectomia.

INTRODUZIONE

Le ernie dei dischi intervertebrali costituiscono ad oggi una patologia debilitante e dolorosa, che colpisce prevalentemente razze canine condrodistrofiche. La valutazione sia della tipologia di lesione (estrusione e protrusione) che della localizzazione del materiale erniato viene comunemente effettuata con risonanza magnetica a cui segue intervento chirurgico. Da un punto di vista istologico il disco sano si compone dall'interno verso l'esterno delle seguenti strutture: nucleo polposo, matrice gelatinosa ricca in collagene e proteoglicani; anello fibroso, costituito da una serie di lamelle concentriche di fibre collagene ed elastiche (Bray e Burbidge, 1998a); tessuto cartilagineo disposto cranialmente e ventralmente rispetto al nucleo ed in contatto con i corpi vertebrali adiacenti. In caso di ernia, il tessuto erniato prelevato presenta molteplici alterazioni istologiche. La necessità di una graduazione istologica delle alterazioni del tessuto discale prelevato in seguito ad ernia ha costituito lo scopo di questo lavoro, preliminarmente basato sulla messa a punto di una metodica semiquantitativa per la definizione di gradi di degenerazione delle varie componenti del disco (nucleo polposo e anello fibrocartilagineo). Come parametri di riferimento per valutare l'entità della lesione sono stati presi in considerazione le variazioni di densità cellulare, le lesioni strutturali (secondo uno scoring umano modificato da Weiler et al. 2011), l'infiammazione e la calcificazione.

MATERIALI E METODI

Diciotto razze canine condrodistrofiche e non, con caratteristiche riportate in tabella 1, sono state sottoposte ad intervento chirurgico presso la Sezione di Chirurgia del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna, sulla base della diagnosi di ernia accertata mediante diagnostica d'immagine avanzata. In sede intra-operatoria il chirurgo ha classificato l'ernia in funzione della posizione del materiale erniario in: estrusione (le lamelle esterne dell'anello si rompono ed il materiale fuoriesce nel canale vertebrale) o protrusione (le lamelle interne dell'anello vengono lacerate mentre quelle più esterne rimangono integre ed il materiale crea un rigonfiamento verso l'esterno). I frammenti prelevati di materiale erniario sono stati processati e le sezioni sono state colorate con ematosilina-eosina (E-E) e colorazione speciale di Gruber (Gruber et al., 2007). Come controllo è stato prelevato e sottoposto ad esame istologico, materiale discale proveniente da 3 soggetti, di sesso maschile, età compresa tra i 6 e 8 anni,

deceduti ed esenti da patologie erniarie. All'esame istologico è stato associato lo studio immunohistochimico con l'utilizzo degli anticorpi anti-CD3 e anti-CD79, per evidenziare la natura della componente infiammatoria, dove presente. Per l'applicazione dello score di degenerazione istologica del materiale prelevato sono stati presi i seguenti parametri:

alterazioni della densità cellulare (0= nessuna proliferazione, 1= due condrociti connessi; 2= più condrociti formanti un gruppo (da 3-7); 3= gruppi costituiti da 8-15 condrociti; 4= gruppi con più di 15 condrociti) (modificato da Weiler et al., 2011)

alterazioni strutturali delle fibre collagene (0= non presenti; 1= presenza di fessurazioni (modificato da Weiler et al., 2011)

cellule infiammatorie (0= non presenti; 1= raramente presenti e <5%; 2= presenti e <50%; 3= presenti e > 50%)

calcificazione (0= non presente; 1= raramente presente e <5%; 2= presente e <50%; 3= presente e > 50%).

Il punteggio di alterazioni discali varia in totale da 0-12.

RISULTATI

I risultati ottenuti con E-E su tutti i 18 campioni di tessuto erniato e sui 3 tessuti discali normali sono stati riportati in tabella 2. La valutazione delle alterazioni strutturali del collagene dell'anello fibroso sono state effettuate sia con la colorazione E-E sia con la colorazione speciale di Gruber (Fig. 2) ed i risultati ottenuti mediante entrambe le colorazioni sono sovrapponibili (tabella 2). Sui preparati di nucleo polposo colorati con E-E, dove presente l'infiltrato infiammatorio (14 casi su 18) è stato effettuato uno studio morfologico che ha permesso il riconoscimento e la presenza di numerosi macrofagi, alcuni carichi di pigmento emosiderinico (Fig. 1F), e linfociti. L'immunohistochimica ha mostrato positività verso entrambi gli anticorpi con uniformità di risultati. I dati clinici hanno permesso di evidenziare che i casi d'ernia estrusa (16 casi) erano presenti soprattutto in cani di piccola e media taglia e mostravano un andamento acuto-iperacuto. I casi di protrusione erniaria erano e hanno colpito cani di grossa taglia con andamento cronico.

DISCUSSIONE

I cambiamenti degenerativi nella composizione del nucleo polposo, da ricondurre ad una riduzione di acqua nel nucleo stesso (Bray e Burbidge, 1998b), e dell'anello fibroso possono portare alla formazione di ernie che ad oggi, sono classificate in: Hansen tipo I, estruse, che

prevalentemente colpiscono le razze condrodistrofiche; Hansen tipo II, protruse che colpiscono prevalentemente le razze noncondrodistrofiche. Hansen nel 1952, oltre a classificare le ernie, ha descritto le alterazioni anatomo-patologiche sia del nucleo polposo che dell'anello fibroso differenziando le razze condrodistrofiche da quelle non condrodistrofiche. Nelle prime il nucleo andava incontro, nella maggioranza dei casi, a metaplasia condroide con sostituzione quasi totale del tessuto gelatinoso in tessuto cartilagineo. La separazione e l'identificazione dei vari tessuti nel disco (nucleo ed anello) risultava meno evidente. Nelle razze non condrodistrofiche, invece, le strutture discali vanno prevalentemente incontro a metaplasia fibrosa con perdita dell'architettura concentrica e disorganizzazione delle fibre collagene. I risultati preliminari hanno dimostrato che l'applicazione di diversi parametri per lo studio del tessuto erniato ha portato alla formulazione di punteggi finali diversi tra loro, non necessariamente correlati alla predisposizione di razza (condrodistrofici o non) (Hansen, 1952), ma piuttosto al diverso grado di modificazione riscontrate nelle strutture discali. La metaplasia fibrosa, elencata tra le alterazioni tipiche del nucleo polposo delle razze non condrodistrofiche, è stata riscontrata solo in 6 su 14 casi di cani non condrodistrofici, è risultata sempre associata alla metaplasia condroide (Fig. 1C), ed ad un grado da moderato ad alto di flogosi (Fig. 1E). Si è deciso quindi, di segnalare solamente i 6 casi con metaplasia fibrosa (Fig. 1D), ma non di inserire quest'ultima nel parametro dello scoring. Per quanto riguarda le alterazioni strutturali dell'anello fibroso i criteri di valutazione si sono limitati al riconoscimento della presenza o assenza delle fessurazioni tra le fibre collagene, avvalendosi in particolare della colorazione speciale di Gruber che le colora in rosso, poiché il limite incontrato ha riguardato principalmente l'irregolarità in termini quali-quantitativi dei prelievi chirurgici (Fig. 2C-D). Mettendo in relazione il grado di presenza dell'infiltrato infiammatorio nel nucleo con il grado della densità cellulare, intesa come formazione di gruppi di cellule cartilaginee nel nucleo, si è ottenuto un rapporto inversamente proporzionale. Questo potrebbe essere dovuto, come già noto in Medicina Umana, all'azione di riassorbimento che esercita l'infiltrato infiammatorio sul nucleo polposo stesso (Doita et al., 1996). Nel presente

studio, in associazione all'infiltrato infiammatorio nel nucleo polposo, è stata riscontrata la presenza di numerosi capillari (presumibilmente neoformati), sia nella porzione erniata del nucleo polposo che tra le fibre collagene dell'anello fibroso (Fig. 2E-F). La presenza dell'infiltrato infiammatorio è da imputare a componenti antigeniche del nucleo polposo stesso, che una volta erniato nel canale vertebrale entra in contatto con il sistema immunitario, stimolando una risposta autoimmune (Tohmura et al., 1994). Si ipotizza che la proliferazione di piccoli vasi consegua sia alla reazione infiammatoria sia alla degenerazione discale che sembra avvengano simultaneamente (Ito et al., 1996). La natura dell'infiltrato infiammatorio nei nostri casi è in accordo con lo studio di Arai et al. (1999) che riconosce ai linfociti (prevalentemente linfociti T) (Fig. 1G) ed ai macrofagi (Fig. 1F) un ruolo nell'assorbimento del nucleo, andando questo a stimolare una reazione infiammatoria.

CONCLUSIONI

In conclusione l'analisi preliminare ha permesso d'impostare uno scoring semi-quantitativo per la valutazione di alterazioni sia del nucleo che dell'anello fibroso che permetta di identificare la gravità istologica delle lesioni, indipendentemente dai fattori predisponenti o dalla tipologia di ernia. L'obiettivo è di aumentare la casistica, di applicare lo scoring elaborato per poi mettere a confronto il decorso clinico, validandone l'efficacia e proporre l'impiego in abbinamento a parametri clinici, per fornire indicazioni utili per la gestione del follow-up. Tuttavia è doveroso specificare che la natura stessa del prelievo intraoperatorio rappresenta un forte limite, in quanto consente di valutare le alterazioni tissutali solo sui frammenti erniati di disco intervertebrale.

BIBLIOGRAFIA

Bray e Burbidge, 1998a. J Am Anim Hosp Assoc 34:55-63; Weiler et al., 2011. BMC Res Notes 4:497; Bray e Burbidge, 1998b. J Am Anim Hosp Assoc 34:134-44; Gruber et al., 2007. Biot & Hist 77:81-83; Hansen HJ, 1952. Acta Orthop Scand: Suppl 11: 1-117; Ito et al., 1996. Spine 21: 230-234; Tohmura et al., 1994. Clin Orthop Surg 29:413-21; Arai et al. 1999. J. Orthop Sci 5:229-31.

N°	RAZZA	SESSO	ETA'	TIPO ERNIA	SEDE
1	Pastore Tedesco (NC)	M	8a 10m	protrusione	T11-T12
2	Shih-Tzu (C)	F	3a 4m	estrusione	T11-T12
3	Bassotto (C)	F	5a 10m	estrusione	T12-T13
4	Dalmata (NC)	M	13a 6m	estrusione	C6-C7
5	Corso (NC)	M	6a 7m	protrusione	T13-L1
6	Maltese (NC)	M	10a 11m	estrusione	T12-T13
7	Pastore Tedesco (NC)	S	11a 2m	estrusione	C5-C6
8	Barboncino (C)	F	9a	estrusione	T13-L1
9	Pastore Tedesco (NC)	F	6a 7m	estrusione	T11-T12
10	Bassotto (C)	M	6a 7m	estrusione	T12-T13
11	Meticcio (NC)	S	13a 11m	estrusione	T13-L1
12	Pinscher (NC)	M	8a 3m	estrusione	C4-C5
13	Meticcio (NC)	S	7a	estrusione	T12-T13
14	Meticcio (NC)	M	4a 6m	estrusione	T12-T13
15	Meticcio (NC)	M	3a 3m	estrusione	L2-L3
16	Beagle (NC)	F	5a 1m	estrusione	L4-L5
17	Cocker Spaniel (NC)	M	8a	estrusione	L2-L3
18	Meticcio (NC)	F	6a 5m	estrusione	C3-C4

*C= razza condrodistrofica, NC= razza non condrodistrofica; °M= maschio, F= femmina, S= sterilizzato

Tabella 1. Segnalamento e anamnesi

	N°	DENSITA' CELLULARE	ALTERAZIONI STRUTTURALI E-E/GRUBER	INFIAMMAZIONE	CALCIFICAZIONE	PUNTEGGIO
TESSUTO NORMALE	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
TESSUTO PATOLOGICO	1	4	0	0	2	6
	2	2	1	3	2	8
	3	3	NP	2	1	6
	4	1	1	1	0	3
	5	2	1	2	1	6
	6	2	1	2	1	6
	7	2	1	1	2	6
	8	3	NP	0	0	3
	9	1*	1	3	2	7
	10	2	NP	0	1	3
	11	2*	NP	2	1	5
	12	2*	1	1	1	5
	13	2*	1	2	2	7
	14	1	1	3	3	8
	15	4	NP	0	1	5
16	1*	NP	3	3	7	
17	1*	1	3	2	7	
18	1	1	1	2	5	

*= metaplasia fibrosa; NP= non presente. I parametri per la valutazione delle alterazioni a carico dell'anello fibrocartilagineo hanno preso in considerazione soltanto la presenza o meno di fessurazioni comprese tra i fasci di fibre collagene. Per la valutazione del livello percentuale di estensione dei fenomeni di calcificazione ed infiammazione (punto 3 e 4) sono stati considerati solo frammenti di nucleo polposo in grado di occupare completamente un campo osservabile ad un ingrandimento pari a 10x

Tabella 2. Valutazione istologica delle alterazioni in tessuti sani (3) e patologici (18)

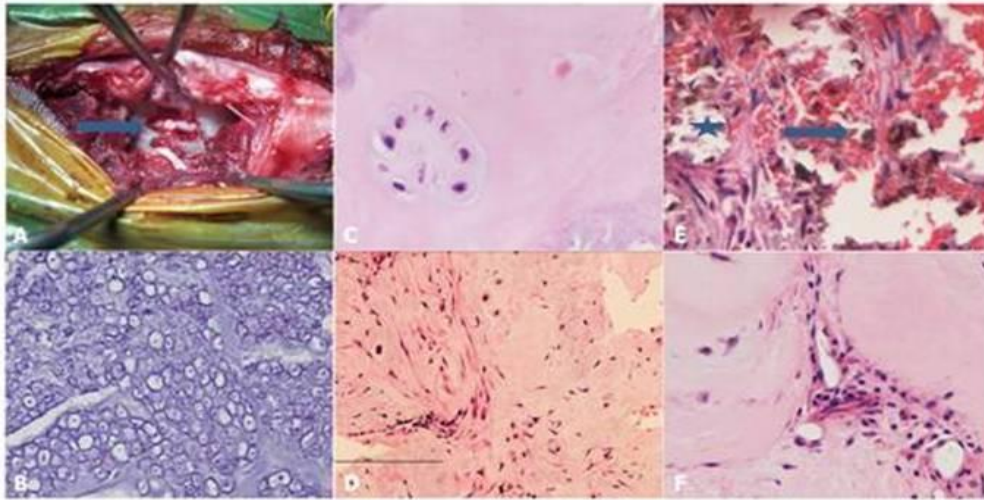


Figura 1. Nucleo polposo

A= sede intraoperatoria, nucleo polposo erniato (freccia); B= nucleo polposo di un soggetto non affetto a patologie discali. E-E 10x; C= metaplasia condroide, 10 condrociti formanti un gruppo. E-E 40x; D= metaplasia fibrosa. E-E 40x; E= macrofagi carichi di emosiderina (freccia) ed aree di calcificazione (*). E-E 40x; F= infiltrato infiammatorio costituito prevalentemente da linfociti. E-E 40x

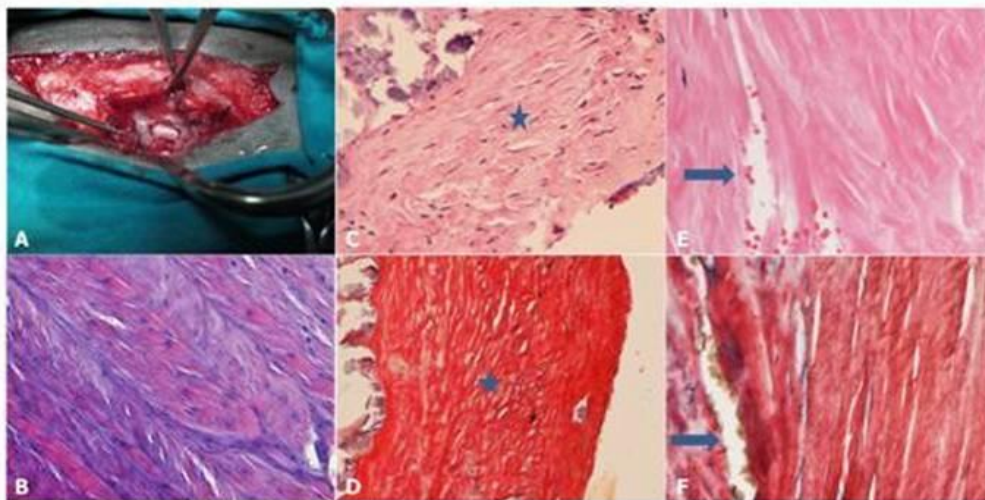


Figura 2. Alterazioni dell'anello fibroso

A= sede intra-operatoria, anello fibroso lacerato; B= anello fibroso prelevato da un soggetto non affetto da patologie discali. E-E 10x; C= fessurazioni delle fibre collagene (*). E-E 20x; D= fessurazioni delle fibre collagene (*) colorate in rosso con la colorazione speciale di Gruber (in blu vengono colorati i proteoglicani, in giallo gli eritrociti ed in blu-nero i nuclei). Gruber 40x; E= presenza di vasi tra le fibre collagene (freccia). E-E 40x; F= evidenza di vasi tra le fibre collagene (colorate in rosso) con presenza di eritrociti (colorati in giallo) (freccia). Gruber 40x

HISTOLOGICAL ANALYSIS OF SURGICAL INTERVERTEBRAL DISC HERNIATION TISSUE. PRELIMINARY STUDY ON 18 DOGS

Intervertebral disc herniation is a debilitating and painful disease, which is most common in canine chondrodystrophic breeds. The evaluation of the types of lesion (extrusion and protrusion) and the location of the herniated material is commonly carried out with magnetic resonance imaging followed by surgery. Aim of the present study was to develop a semi-quantitative grading method for degeneration of the various

component of the disc (nucleus and annulus). During surgery, fragments of herniation material were collected for histological examination (the final sections stained with HE and Gruber) from 18 dogs, diagnosed for discal hernia with advanced imaging diagnostic. The dogs were aged between 3 and 13 years, of both sex, chondrodystrophoid and nonchondrodystrophoid, and the sections were collected in the cervical and thoracolumbar regions. The preliminary results have allowed us to grade the alterations in cell density and structural lesions (based on a human medicine method) both in the nucleus and annulus. In addition, the grading was applied also to inflammation and calcification, present in the nucleus in 10 cases. All the analyzed fragments were affected by various degrees of degeneration. To confirm the efficacy of the scoring and the extent of the lesions, 3 fragments of disc material were collected from deceased subjects, unaffected by disc herniation, and histologically examined.

Key words: dog; histological grading; intervertebral disc; herniation; hemilaminectomy.

REAZIONE AVVERSA A FARMACO, CUTANEA ED EPATICA, IN UN CONIGLIO DOMESTICO

Bongiovanni Laura ¹, Selleri Paolo², Della Salda Leonardo¹

¹Department of Comparative Biomedical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Teramo, Piazza Aldo Moro, 45 - 64100 Teramo, Italy. ²Centro Veterinario Specialistico – Clinica per Animali Esotici, Via Sandro Giovannini 53, 001378 Roma, Italy

Il presente lavoro descrive un caso di reazione avversa cutanea ed epatica in un coniglio, verosimilmente associata alla somministrazione di farmaci. Un coniglio maschio di 2 anni di età è stato portato a visita con costipazione intestinale ed è stata intrapresa una terapia sintomatica, costituita da terapia fluida sottocutanea con Ringer lattato, meloxicam e metoclopramide. Due giorni più tardi l'animale ha sviluppato a carico dell'addome edema sottocutaneo con comparsa di un'estesa lesione bollosa, che rapidamente si è evoluta in una lesione necrotica. Cinque giorni dopo aver iniziato la terapia il coniglio è morto. All'esame necroscopico, oltre alle lesioni cutanee, sono state osservate delle lesioni biancastre multifocali a carico del fegato. All'esame istopatologico le lesioni cutanee erano caratterizzate da necrosi epidermica a tutto spessore, follicolite murale necrotizzante, dermatite eosinofila multifocale, vasculite cell poor; mentre a carico del fegato sono stati osservati necrosi coagulativa acuta primariamente centrolobulare, grave atrofia multifocale degli epatociti, ectasia dei sinusoidi. Tali lesioni, unitamente al momento dell'insorgenza dei segni clinici, erano fortemente indicativi di una reazione avversa a farmaco (ADR, adverse drug reaction). Questa può presentare un'ampia varietà di segni clinici e mimare quasi tutti i tipi di dermatosi. In caso di sospetto di ADR un'accurata storia clinica è necessaria per raggiungere la diagnosi. Tra i farmaci somministrati il meloxicam, farmaco antinfiammatorio non-steroideo, è comunemente utilizzato per il controllo del dolore nel coniglio. Anche se non è mai stato finora associato ad ADR in questa specie, la sua somministrazione è stata recentemente associata a manifestazioni cutanee in un cane.

Parole chiave: reazione avversa a farmaco; cute; fegato; coniglio.

CUTANEOUS AND HEPATIC ADVERSE REACTIONS FOLLOWING DRUG ADMINISTRATION: A CASE OF A PET RABBIT

The present report describes a case of cutaneous and hepatic adverse reactions very likely related to drug administration in a rabbit. A 2 year-old castrated male rabbit with intestinal constipation was examined. Symptomatic treatment was initiated, consisted of subcutaneous fluid with Ringer's Lactate, meloxicam and metaclopramide. Two days later the animal developed subcutaneous oedema and a large bullous skin lesion on the abdomen, that rapidly evolved to necrotic lesion. Five days after receiving therapy, the rabbit died. On necropsy, no macroscopic abnormalities were detected, except for the skin lesions and hepatic multifocal white foci. Histopathologically, skin showed full thickness epidermal necrosis, necrotizing destructive mural folliculitis, dermal eosinophilic infiltrate, cell poor vasculitis, whereas liver exhibited multifocal primarily centrilobular and acute hepatic coagulative necrosis, multifocal severe atrophy of hepatocytes, ectasic sinusoids.

Pathological findings, together with the time of the onset of clinical signs, were strongly suggestive of adverse drug reaction (ADR). Meloxicam is a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) commonly used for the control of the pain in rabbits, for our knowledge, never been associated with ADR in this specie, but recently reported most probably associated with cutaneous manifestation in a dog. Adverse drug reactions may present a wide variability of clinical symptoms and may mimic almost any dermatosis. In these situations an accurate clinical history is necessary to achieve the diagnosis.

Key words: adverse drug reaction; skin; liver; rabbit.

CONDRITE AURICOLARE FELINA: RICONTRI CLINICI, ISTOLOGICI E IMMUNOISTOCHIMICI

Carminato Antonio, Vascellari Marta, Mutinelli Franco

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, (PD)

La Policondrite Recidivante (RPC) è una rara malattia caratterizzata da episodi ricorrenti di infiammazione delle cartilagini ed è considerata una malattia immuno-mediata del collagene di tipo II. Si presenta un caso di un gatto femmina di 6 anni, FeLV positivo, con gonfiore e prurito di entrambi i padiglioni auricolari, ipertermia (T° 39,8) e moderata anemia (Hct 15,6% e Hgb 7,2 g/dl). Nessun miglioramento clinico si riscontrava in seguito a terapia antibiotica e antinfiammatoria con corticosteroidi (prednisolone acetato 0,5 mg/Kg sid per os). L'esame istologico, eseguito in seguito a parziale asportazione delle pinne auricolari, evidenziava assottigliamento e perdita di basofilia di entrambe le cartilagini auricolari con infiltrazione di granulociti neutrofili e di macrofagi in sede pericondrale. La colorazione immunoistochimica per il collagene di tipo II evidenziava importante perdita di matrice cartilaginea. Il quadro esaminato era riconducibile a condrite auricolare di probabile origine autoimmune. Si instaurava una terapia corticosteroidica a dosaggi immunosoppressivi (2 mg/Kg sid per dieci giorni e a seguire 1,5 mg/Kg sid) con ottima risposta clinica. Dopo un mese di terapia l'HCT era aumentato a 26,3%, e l'Hgb era nei limiti della norma a 9,1 g/dl con regressione delle lesioni dermatologiche. Solamente 14 casi di condrite auricolare sono riportati in letteratura veterinaria. Nell'uomo la RPC è caratterizzata da infiammazioni ricorrenti del tessuto cartilagineo dell'orecchio, delle articolazioni, dei bronchi e anche di altre strutture anatomiche ricche di proteoglicani. Anche nell'uomo la manifestazione auricolare rappresenta il riscontro più comune riconducibile a RPC. Oltre il 30% dei pazienti umani con RPC soffre di una sottostante malattia autoimmunitaria, come il Lupus eritematoso sistemico o di alterazioni ematologiche immunomediata. Il caso di condrite auricolare qui riportato presenta analogie con la RPC descritta nell'uomo in quanto oltre all'interessamento auricolare presenta manifestazioni cliniche sistemiche (quali febbre e anemia). La risposta alla terapia corticosteroidica immunosoppressiva ed il riscontro immunoistochimico avvalorano l'ipotesi eziopatogenetica autoimmunitaria di questa entità patologica.

Parole chiave: policondrite recidivante; collagene tipo II; gatto.

FELINE AURICULAR CHONDRITIS: CLINICAL, HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FINDINGS

The Relapsing Polychondritis (RPC) is a rare disease characterized by recurrent episodes of inflammation of the cartilage and is considered an immune-mediated disease of type II collagen. A case of a 6 years old female cat, FeLV positive, with swelling and itching in both ears, hyperthermia (39.8° T) and moderate anemia (Hct 15.6% and Hgb 7.2 g/dl) is presented. Since no clinical improvement was found after medical treatment, surgical removal of both auricular pinnae was performed. Histology and immunohistochemistry were consistent with immune-mediated auricular chondritis. Immunosuppressive corticosteroid treatment showed complete remission of skin lesions and haematological findings. In humans, the PRC is characterized by recurrent inflammation of ear cartilage, joints, bronchus and also of other anatomical structures rich in proteoglycans. Response to immunosuppressive corticosteroid therapy and immunohistochemical findings support the hypothesis of autoimmune etiology of feline auricular chondritis.

Key words: relapsing polychondritis; type II collagen; cat.

CORIOCARCINOMA OVARICO NON GESTAZIONALE MURINO: DESCRIZIONE ISTOLOGICA ED IMMUNOISTOCHEMICA DI DUE CASI INSORTI IN ANIMALI GENETICAMENTE MODIFICATI

Castiglioni Vittoria^{1,2}, Farhang Ghahremani Morvarid³, Goossens Steven³, Ardizzone Michele⁴, Radaelli Enrico^{1,2}

¹*Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria (DIPAV), Facoltà di Medicina Veterinaria, via Celoria 10, 20133 Milano, Italy.*

²*Mouse and Animal Pathology Laboratory, Fondazione Filarete, viale Ortles 22/4, 20139 Milano, Italy.* ³*VIB - Department of Molecular Biomedical Research (DMBR), Vascular Cell Biology Unit, Ghent University, Technologiepark 927, B-9052 Ghent – Belgium.* ⁴*Non Clinical Development, Global Toxicology, Merck Serono Research and Development, RBM S.p.A. – Istituto di Ricerche Biomediche "A. Marxer", Via Ribes 1 - 10010 Colletterto Giacosa (TO) - Italy*

Il coriocarcinoma non gestazionale dell'ovaio è un raro tumore che origina dalle cellule germinali e che solitamente colpisce soggetti di età inferiore ai 20 anni. Tale entità è estremamente rara negli animali con casi spontanei segnalati in macachi e topi B6C3F1. Il presente lavoro descrive due casi di coriocarcinoma ovarico primario unilaterale in topi nullipari adulti con delezione condizionale Tie-2-dipendente di Trp53 ad entrambi gli alleli. Gli animali affetti derivavano dallo stesso ceppo murino caratterizzato da un background genetico misto prevalentemente composto da C57BL/6 e FVB/N. In entrambi i casi, l'ovaio colpito appariva parzialmente sostituito dalla neoplasia con focale invasione della borsa ovarica. Il tumore era costituito da lacune vascolari delineate da cellule giganti trofoblastiche marcatamente anaplastiche. Immunohistochimicamente, le cellule neoplastiche erano diffusamente positive per folate binding protein (comprovando la diagnosi di coriocarcinoma) e negative per p53. Secondo gli autori, questo è il primo lavoro che descrive lo sviluppo di coriocarcinomi ovarici in un ceppo murino diverso dal B6C3F1. Non è chiaro se tali tumori si siano sviluppati in seguito alla manipolazione genetica o se debbano essere considerati lesioni incidentali. A favore dell'ipotesi secondo cui la delezione condizionale di Trp53 possa aver contribuito alla crescita neoplastica, recenti studi dimostrano come le cellule germinali primordiali murine (la popolazione cellulare da cui tale neoplasia ha origine) esprimano Tie-2. La completa mancanza di espressione di p53 in entrambi i tumori suggerirebbe inoltre come la perdita di Trp53 possa effettivamente aver avuto luogo nelle cellule neoplastiche.

Parole chiave: coriocarcinoma; ovaio; topo; p53.

NON GESTATIONAL CHORIOCARCINOMA OF THE OVARY IN MICE: IMMUNOISTOLOGICAL DESCRIPTION OF TWO CASES FROM GENETICALLY ENGINEERED ANIMALS

Non-gestational choriocarcinoma of the ovary (NGCO) is a rare tumor of germ cell origin that usually affects individuals younger than 20 years of age. NGCO is extremely infrequent in nonhuman species with spontaneous cases reported in macaques and B6C3F1 mice. The present work describes two cases of primary unilateral ovarian choriocarcinoma in adult nulliparous female mice genetically engineered to carry null mutant Trp53 (p53) alleles in Tie-2 expressing cells. Both the animals were from the same strain maintained on mixed genetic background primarily composed of C57BL/6 and FVB/N. In both cases, affected ovary was partially replaced by an unencapsulated neoplasm focally invading the adjacent ovarian bursa. The tumor consisted of irregular blood-filled lacunae lined by anaplastic trophoblastic giant cells. Immunohistochemically, neoplastic cells were diffusely positive for folate binding protein (further confirming the diagnosis of ovarian choriocarcinoma) and invariably negative for p53. To the Author's knowledge, this is the first report of ovarian choriocarcinoma in a mouse strain different from B6C3F1. It is unclear whether or not the tumors here described resulted from the specific genetic manipulation or should be rather regarded as incidental lesions. Supporting the notion that conditional loss of Trp53 may have contributed to tumor development, recent studies demonstrate how primordial mouse germ cells (the specific cell population from which NGCO originates) constitutively express Tie-2. In this context, complete lack of p53 expression in both the tumors examined may suggest that Tie-2-driven deletion of Trp53 has actually occurred in neoplastic cells.

Keywords: choriocarcinoma; ovary; mouse; p53.

ATTIVITÀ ANTIBATTERICA DELLA PROTEINA DI FASE ACUTA BOVINA ALPHA1-GLICOPROTEINA ACIDA

Ceciliani Fabrizio, Martino Pieranna, Bronzo Valerio, Sartorelli Paola

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, e CISMA - Centro Interdipartimentale di Studi sulla Ghiandola Mammaria, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10, Milano

Le proteine di fase acuta svolgono importanti funzioni immunomodulatorie, e per almeno una di loro, la Serum Amyloid A, è stata dimostrata una funzione antibatterica diretta. Il nostro gruppo ha precedentemente dimostrato che l'alpha1-glicoproteina acida (AGP) bovina è una potente proteina immunomodulatoria e può modulare la fagocitosi dei batteri Gram-negativi. Non esiste alcuna informazione sul diretto coinvolgimento dell'AGP nel killing batterico. Lo scopo di questo lavoro è stato di valutare l'attività diretta di killing dell'AGP. La proteina AGP è stata purificata all'omogeneità, e differenti concentrazioni, a partire da quella in cui AGP è presente in condizioni fisiologiche nel siero bovino (0.3 mg/ml) fino alla concentrazione in cui è presente in condizioni di fase acuta (0.9 mg/ml) sono state coincubate con una concentrazione di 106 UFC x ml di *E. coli* (Gram-negativi) e *S. aureus* (Gram-positivi), in piastre ELISA per 2 ore a 37°C. Una volta terminata l'incubazione, i batteri vitali sono stati quantificati mediante semina a diverse concentrazioni. Gli esperimenti sono stati condotti in triplicato, per 15 repliche. Albumina e PBS sono stati utilizzati come controllo negativo. I risultati dimostrano che AGP è in grado di uccidere sia *E. coli* che *S. aureus* quando utilizzata non solo ad alte concentrazioni (0.9 mg/ml) ma anche a concentrazioni intermedie (0.6 mg/ml). In conclusione, i risultati evidenziano che AGP svolge non solo importanti funzioni immunomodulatorie durante la risposta sistemica all'infiammazione, ma può anche partecipare direttamente alla immunità innata dell'organismo attraverso l'uccisione diretta dei patogeni.

Parole chiave: proteine di fase acuta; bovino; alpha1-glicoproteina acida; *E. coli*; *Staphylococcus aureus*.

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE BOVINE ACUTE PHASE PROTEIN ALPHA1-ACID GLYCOPROTEIN

The aim of the investigation is to assess the antibacterial properties of bovine AGP. Beside their importance as biomarkers, acute phase proteins fulfill also immunomodulatory functions such as opsonization of bacteria. Some of them, such as SAA, have also direct killing capabilities.

We already demonstrated that AGP is a powerful immunomodulatory protein, and can modulate the phagocytosis of Gram-negative cells. No information is available about the direct commitment of AGP in direct killing of bacteria such as SAA. With this study we want to investigate the capability of AGP to directly kill the bacteria. The protein was purified to homogeneity, and different concentration ranging from the non pathological serum concentration (0.3 mg/ml), up to the acute phase reaction concentration (0.9 mg/ml), were co-incubated with a concentration of 106 CFU x ml of *E. coli* (Gram-negative) and *S. aureus* (Gram-positive), in a 96 well plates for 2hrs at 37°C. After incubation, viable bacteria were quantified by plating 1 – 10 – and 100- fold dilutions. Experiments were carried out in triplicate for 15 times. Albumin and PBS were utilized as negative controls. The results showed that high concentrations of AGP can kill both *E. coli* and *S. aureus*. Also an intermediate concentration (0.6 mg/ml) is rather effective. Lower concentrations are less effective. In summary, the data presented in this communication confirm that AGP, as other acute phase proteins, fulfill not only important functions of signaling and immunomodulation during the systemic response to inflammation, but can also have important activities in participating in innate immune defense of the organism by directly killing invading pathogens.

Key words: acute phase proteins; cow; alpha1-acid glycoprotein; *E. coli*; *Staphylococcus aureus*.

CETACEI SPIAGGIATI E PRIONI

Cocumelli Cristiano¹, Eleni Claudia¹, Meoli Roberta¹, Barbaro Katia¹, Terracciano Giuliana², Fichi Gianluca², Ascione Fortuna¹, Parmigiani Raffaella¹, Palmerini Tiziana¹, Mazzariol Sandro³, Di Francesco Cristina Esmeralda⁴, Di Guardo Giovanni⁴

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) delle Regioni Lazio e Toscana, Roma. ²IZS delle Regioni Lazio e Toscana, Pisa. ³Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Università di Padova. ⁴Dipartimento di Scienze Biomediche Compare, Università di Teramo

La recente descrizione di un caso di malattia da prioni in un tursiope (*Tursiops truncatus*) ha suscitato l'interesse a ricercare in maniera accurata l'isoforma patologica della proteina prionica (PrPSc) nel tessuto cerebrale e nel tessuto linfoide di cetacei spiaggiati lungo le coste del Lazio e della Toscana dal 2007 ad oggi. Dei 30 animali in esame, 23 erano stenelle (*Stenella coeruleoalba*), 5 erano tursiopi e 2 erano grampi (*Grampus griseus*). Le indagini microscopiche non hanno messo in evidenza lesioni spongiformi classicamente associate a malattia da prioni, mentre 4 esemplari mostravano segni di encefalite. Su tutti i soggetti sono state effettuate prove immunoistochimiche (IHC) mirate alla rilevazione della PrPSc. Le indagini in IHC non hanno ad oggi messo in evidenza depositi di PrPSc nei tessuti indagati; sono in corso ulteriori indagini in Western blot per confermare i suddetti risultati. Al contrario, una decisa immunoreattività si è ottenuta nei confronti della proteina prionica cellulare (PrPC), sia nel tessuto nervoso che nella milza ed in più distretti linfonodali delle diverse specie considerate. Il pattern di distribuzione e di immunoreattività nei confronti della PrPC suggeriscono il coinvolgimento delle cellule follicolari dendritiche, elementi chiave nella patogenesi delle malattie prioniche. Nonostante i risultati negativi ottenuti nelle prime fasi di studio, la possibilità di sviluppo di malattie prioniche nei cetacei rimane un evento biologicamente plausibile ed argomento di grande rilevanza, il cui significato deve essere approfondito sia per chiarire la biologia dei prioni in ambiente acquatico, sia la possibilità di trasmissione intra/interspecifica ai fini della conservazione dei cetacei.

Parole chiave: prioni; malattia da prioni; encefalopatia spongiforme trasmissibile; delfini; cetacei.

STRANDED CETACEANS AND PRIONS

The recent description of a prion disease (PD) case in a free-ranging bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) prompted us to carry out an extensive search for the “disease-associated” isoform (PrPSc) of the cellular prion protein (PrPC) in the brain and in a range of lymphoid tissues from 23 striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*), 5 bottlenose dolphins and 2 Risso's dolphins (*Grampus griseus*) found stranded between 2007 and 2012 along the Italian coastline. Three striped dolphins and one bottlenose dolphin showed microscopic lesions of encephalitis, with no evidence of spongiform brain lesions being simultaneously detected in any of the 30 free-ranging cetaceans investigated herein. Nevertheless, we could still observe a prominent PrPC immunoreactivity in the brain as well as in lymphoid tissues from these dolphins. Although immunohistochemical and Western blot investigations yielded negative results for PrPSc deposition in all tissues from the dolphins under study, the reported occurrence of a spontaneous PD case in a wild dolphin is an intriguing issue and a matter of concern for both prion biology and intra/inter-species transmissibility, as well as for cetaceans' conservation medicine.

Key words: prions; prion diseases; transmissible spongiform encephalopathies; dolphins; cetaceans.

MONITORAGGIO DELLE PRINCIPALI PATOLOGIE INFETTIVE A CARATTERE NEUROLOGICO IN ALLEVAMENTI SUINICOLI DELLA PROVINCIA DI CUNEO

Corbellini Debora¹, Careddu Maria Elena¹, Pautasso Alessandra¹, Sona Bruno², Varello Katia¹, Niosi Giusy¹, Pistone Giancarlo¹, Pintore Maria Domenica¹, Trisorio Silvia¹, Peletto Simone¹, Caramelli Maria¹, Casalone Cristina¹, Iulini Barbara¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, via Bologna 148 - 10154 Torino. ²ASL CNI Servizio Veterinario SC Sanità Animale

Il monitoraggio delle principali patologie infettive costituisce un requisito fondamentale per una corretta gestione dell'allevamento suino e per garantire il benessere degli animali allevati e la sicurezza alimentare. Nel presente progetto, al fine di evidenziare la presenza di agenti batterici e virali in aziende suinicole del cuneese, nel periodo 2008-2011 sono state esaminate le carcasse di 65 suini deceduti con sintomatologia nervosa e provenienti da 30 allevamenti. Dagli animali studiati sono stati prelevati campioni di Sistema Nervoso Centrale (SNC) e di vari organi; il materiale è stato in parte fissato in formalina al 10% per l'esame neuro-istopatologico ed immunoistochimico, e in parte refrigerato e congelato per l'esame colturale e biomolecolare. All'esame neuropatologico è stata evidenziata nel 52% dei soggetti la presenza di una meningo-encefalite purulenta, nel 21% una meningo-encefalite non suppurativa, nell'11% una meningo-encefalite di tipo misto e nel 16% assenza di lesioni. Quadri infiammatori con infiltrati linfocitari e/o granulocitari sono stati anche osservati a livello di polmone e di milza nel 71% dei soggetti, di intestino nel 54% e di fegato nel 38% dei casi esaminati. *S. suis* è stato isolato nel SNC del 55% dei suini ed *E. coli* nel 23% dei soggetti; inoltre nel 35% dei casi, questi batteri sono stati evidenziati anche in altri siti anatomici. Nel 52% dei suini è stata osservata la presenza di altre specie batteriche come *Proteus* spp. o *Pasteurella multocida*. Gli esami immunoistochimici eseguiti, su tutti i casi oggetto di studio, con anticorpi specifici per *S. suis* sierotipo 2 e per PCV2 hanno evidenziato positività rispettivamente nel 37% e nel 3% dei campioni. Mediante indagini di tipo biomolecolare è stato riscontrato il genoma di PCV2 nell'11% dei casi e di PRRSV nel 23%. Tutti gli animali esaminati sono risultati negativi per il Virus di Aujeszky. Dai risultati ottenuti da questa indagine emerge l'importanza di identificare i patogeni presenti nelle diverse fasi di allevamento, al fine di elaborare misure preventive, controlli ed interventi di profilassi e garantire pertanto il benessere animale e la salute umana.

Parole chiave: suino; infezione; SNC.

MONITORING OF NEUROLOGICAL INFECTIOUS DISEASES IN PIGS COMING FROM THE PROVINCE OF CUNEO

Infectious diseases are responsible for important clinical problems and major economic losses in the swine industry. In this study, a combination of bacterial culture, histopathological, immunohistochemical and molecular examinations was applied to a range of tissues from 65 pigs with neurological signs. Neuropathological examination has revealed the following types of meningo-encephalitis: suppurative (52%), non suppurative (21%), mixed (11%). No lesions were present in 16% of pigs. Inflammatory infiltrates were also observed in lung and spleen (71%), in gut (54%) and in liver (38%). Bacterial culture of the CNS has shown the presence of *S. suis* in 55% of cases and of *E. coli* in the 23%; in 35% of animals these bacteria have also been found in other anatomical sites. The immunohistochemical techniques for *S. suis* serotype 2 and for PCV2 have shown positivity in 37% and 3% of samples. Molecular methods have revealed the presence of PCV2 and PRRSV genome in 11% and in 23% of cases. All animals tested were negative for the virus of Aujeszky. These findings highlight the importance of knowledge of the pathogens present in farms, in order to develop preventive controls measures and to ensure animal welfare and human health.

Key words: pig; infection; CNS.

MENINGO-ENCEFALITE EQUINA DA *Halicephalobus gingivalis*: CONTRIBUTO CASISTICO NELL'AMBITO DEL PIANO DI SORVEGLIANZA WEST NILE DISEASE

Di Francesco Gabriella¹, Savini Giovanni¹, Maggi Alessandro², Cavaliere Nicola³, D'Angelo Anna Rita¹, Marruchella Giuseppe¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", via Campo Boario, 64100, Teramo, Italia. ²Veterinario Libero professionista, Foggia. ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, via Manfredonia 20, Foggia, Italia

Nel febbraio 2012, un cavallo maschio di 7 anni (Purosangue Arabo x Quarter Horse), residente in una scuderia sita in provincia di Foggia, ha manifestato una grave sindrome neurologica a rapida evoluzione. Impossibilitato a mantenere la stazione quadrupedale, il cavallo è stato sottoposto ad eutanasia. In accordo con quanto previsto dal piano di sorveglianza nazionale della West Nile disease (WND), vari campioni tessutali, sia refrigerati (sangue, encefalo, midollo spinale cervicale e lombare, cuore e milza) sia fissati in formalina al 10% (encefalo e midollo spinale), sono stati inviati al "Centro Studi Malattie Esotiche, presso l'Istituto "G. Caporale" di Teramo, per gli accertamenti diagnostici del caso. Gli esami virologici per le più comuni malattie neurologiche equine non hanno evidenziato presenza di infezioni virali. Istologicamente, si è osservata la presenza di manicotti perivascolari, particolarmente evidenti in corrispondenza del ponte e del mesencefalo. All'interno dei vasi sanguigni, negli spazi perivasali, nel parenchima cerebrale, nello spessore delle meningi, nonché nel liquido fissativo utilizzato (formalina) si osservavano numerosi corpi parassitari morfologicamente riferibili ad *Halicephalobus gingivalis*. Quanto sopra ha consentito di formulare la diagnosi di meningo-encefalite da *Halicephalobus gingivalis*. Le esperienze qui descritte confermano che le encefaliti parassitarie devono essere tenute in debita considerazione nella diagnosi differenziale delle encefalopatie equine e sottolineano l'utilità dell'approccio multidisciplinare per la risoluzione del quesito diagnostico.

Parole chiave: cavallo; meningo-encefalite; *Halicephalobus gingivalis*; West Nile disease; sorveglianza.

EQUINE MENINGO-ENCEPHALITIS BY *Halicephalobus gingivalis*: A CASE REPORTED WITHIN THE SURVEILLANCE PLAN FOR WEST NILE DISEASE

On February 2012, a 7 years-old male horse (Arabian x Quarter Horse) residing near Foggia (Southern Italy) showed a severe, rapidly progressive neurological disorder. The horse permanently recumbent on the floor was euthanized. As established by the national surveillance plan for West Nile disease (WND), a number of tissue samples, refrigerated (blood, brain, cervical and lumbar spinal cord, heart and spleen) or fixed in 10% neutral buffered formalin (brain and spinal cord), were sent to the "Italian Reference Centre for Animal Foreign Diseases" (CESME, Institute "G. Caporale", Teramo, Italy) for diagnostic investigations. All virological tests for detecting viruses responsible of the most common horse neurological infections were negative. Microscopically, scattered perivascular inflammatory infiltrates were seen within the pons and midbrain. Furthermore, several nematodes were detected within blood vessels, perivascular spaces, brain parenchyma, meninges, as well as within the fixative sediment. On the basis of their morphological features, such parasites were classified as *Halicephalobus gingivalis*. Pathological findings allowed us to diagnose parasitic meningo-encephalitis by *Halicephalobus gingivalis*. The present report confirms that halicephalobosis should be considered in the differential diagnosis of equine encephalopathy and underscores the usefulness of a multidisciplinary approach to problem solving in veterinary medicine.

Key words: horse; meningo-encephalitis; *Halicephalobus gingivalis*; West Nile disease; surveillance.

MORBILLIVIRUS E CETACEI, UN RAPPORTO IN CONTINUA EVOLUZIONE

Di Guardo Giovanni¹, Di Francesco Cristina Esmeralda¹, Eleni Claudia², Cocumelli Cristiano², Scholl Francesco², Casalone Cristina³, Mignone Walter⁴, Tittarelli Cristiana⁴, Di Nocera Fabio⁵, Leonardi Leonardo⁶, Fernandez Antonio⁷, Mazzariol Sandro⁸

¹Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Medicina Veterinaria, Teramo. ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) delle Regioni Lazio e Toscana, Roma. ³IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino. ⁴IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Imperia. ⁵IZS del Mezzogiorno, Salerno. ⁶Università degli Studi di Perugia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Perugia. ⁷Università degli Studi di Las Palmas, Facoltà di Medicina Veterinaria, Gran Canaria, Isole Canarie, Spagna. ⁸Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Biomedicina Comparata e di Scienza degli Alimenti, Padova

Dopo l'epidemia da Cetacean Morbillivirus (CeMV) del 1990-'92 fra le stenelle striate (*Stenella coeruleoalba*) del Mediterraneo sono state segnalate, lungo le coste spagnole, casi d'infezione morbillivirale caratterizzati da un'encefalite non purulenta subacuto-cronica. Le stenelle colpite mostravano lesioni simili a quelle della "panencefalite subacuta sclerosante" dell'uomo e dell'"encefalite del cane vecchio". Una situazione analoga si è verificata a seguito dell'epidemia da CeMV che fra il 2006 e il 2008 ha interessato la popolazione mediterranea di stenelle striate, unitamente a quella dei globicéfali (*Globicephala melas*). Infatti, oltre alla descrizione di un singolare caso di encefalite morbillivirale in un giovanissimo esemplare di *S. coeruleoalba* rinvenuto spiaggiato nel 2009 sulle coste laziali, le indagini immunoistochimiche e biomolecolari (RT-PCR) hanno permesso di accertare la presenza dell'infezione morbillivirale in 2 stenelle striate rinvenute spiaggiate nel 2011 (1 sul litorale campano, 1 sul litorale laziale), nonché in 1 tursiope (*Tursiops truncatus*) rinvenuto spiaggiato nel 2011 sulle coste laziali e in 2 esemplari di balenottera comune (*Balaenoptera physalus*) rinvenuti spiaggiati sempre nel 2011 (1 sul litorale toscano, 1 sulle coste della Sardegna). D'interesse è risultata, in 2 stenelle e 1 tursiope, la presenza di antigene e/o di genoma morbillivirale esclusivamente in sede cerebrale, con contestuale riscontro di un'encefalite non purulenta in 2 di essi (1 stenella e 1 tursiope). La presenza di genoma virale interessava invece più tessuti (polmone, milza e linfonodi) nei 2 esemplari di *B. physalus*, in 1 dei quali le indagini immunoistochimiche e biomolecolari (PCR) ci hanno consentito di diagnosticare una coinfezione da *Toxoplasma gondii*. Questi risultati concordano con quelli riportati nelle stenelle striate rinvenute spiaggiate sulle coste spagnole dopo le epidemie del 1990-'92 e del 2006-2008.

Parole-chiave: Morbillivirus; patologia comparata; cetacei.

MORBILLIVIRUS AND CETACEANS, A CONTINUOUSLY EVOLVING RELATIONSHIP

The Cetacean Morbillivirus (CeMV) epidemics of 1990-'92 and 2006-2008 among Mediterranean striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) were followed by peculiar cases of morbilliviral infection (MI) in striped dolphins stranded along the Spanish coastline. Affected cetaceans showed a subacute-to-chronic, non-suppurative encephalitis, with brain lesions resembling those of human "subacute sclerosing panencephalitis" and "old dog encephalitis". Brain was the only tissue in which morbilliviral antigen and/or genome could be detected in these dolphins. Beside the case of morbilliviral encephalitis in a young striped dolphin beached in 2009 along the Latium sea coast of Italy, we observed 5 additional MI cases in 2 striped dolphins, 1 bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and 2 fin whales (*Balaenoptera physalus*), all of which found stranded in 2011 along the Italian coastline. Noteworthy, 2 striped dolphins and 1 bottlenose dolphin showed immunohistochemical (IHC) and/or biomolecular (RT-PCR) evidence of morbilliviral antigen and/or genome exclusively in their brain, with 1 striped dolphin and 1 bottlenose dolphin also exhibiting a non-suppurative encephalitis. Furthermore, simultaneous IHC and PCR evidence of a *Toxoplasma gondii* coinfection was found in 1 fin whale.

Our results are in agreement with those reported in striped dolphins stranded along the Spanish coastline after the MI epidemics of 1990-'92 and 2006-2008.

Key words: Morbillivirus; cetaceans; comparative pathology.

MESSA A PUNTO DI UN SAGGIO ELISA PER LA VALUTAZIONE DEI LIVELLI SIERICI DI AGP IN CAPRE E BOVINI

Dilda Francesca ¹, Soler Vasco Laura ², Restelli Laura ¹, Grilli Guido ¹, Lecchi Cristina ^{1,3}, Ceron J ², Sartorelli Paola ^{1,3}, Mavromati Jani ⁴, Cecilian Fabrizio ^{1,3}

¹Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, via Celoria 10, 20133 Milano, Italy. ²Università di Murcia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Ospedale Clinico Veterinario, Campus Espinardo 30100, Murcia (Spain). ³CISMA Centro Interdipartimentale di Studi sulla Ghiandola Mammaria, Università degli Studi di Milano, via Celoria 10, 20133 Milano, Italy. ⁴Veterinary Medicine Faculty, Agricultural University of Tirana, Albania

L'AGP è una lipocalina con un ruolo nella regolazione della risposta infiammatoria. Lo scopo di questo studio è produrre anticorpi policlonali contro l'AGP bovina per allestire un saggio ELISA che permetta di valutarla a livello sierico nelle capre e nei bovini. Gli anticorpi sono stati prodotti seguendo le procedure standard, utilizzando AGP bovina purificata come immunogeno, purificandoli per affinità e biotinilandoli con un kit commerciale. La specificità e la sensibilità degli anticorpi sono state valutate attraverso Western blotting e ELISA indiretta. Lo sviluppo e la validazione del saggio è stato determinato attraverso: sviluppo e ottimizzazione delle condizioni: scelta della concentrazione ottimale dell'anticorpo di cattura e di quello di detection, tempo d'incubazione, curva standard e diluizione ottimale dei campioni; validazione analitica, che comprende la valutazione della precisione, accuratezza e sensibilità del saggio; validazione clinica: effettuata valutando le concentrazioni di AGP in capre sane (n=17) e capre con patologie (n=33, 17 affette da brucellosi e 16 da CAEV). La validazione analitica mostra una precisione intra e intersaggio intorno al 15% sia per campioni con alti che con bassi livelli di AGP ed un'accuratezza tra il 96-100%. Il saggio mostra una buona sensibilità, in quanto il limite di detection è pari a 0.062 µg/mL, e presenta un buon intervallo di misurazione (2.5 µg/mL-0.062 µg/mL). Non sono state individuate differenze significative tra i livelli di AGP degli animali sani e quelli malati, indicando che l'AGP non è un buon marcatore per valutare lo stato di salute in questi animali.

Parole chiave: ELISA; AGP; capra; bovino.

DEVELOPMENT OF A HIGHLY SENSITIVE SANDWICH ELISA TO QUANTIFY THE GOAT AND BOVINE AGP IN SERUM

The present study describes the production of rabbit polyclonal antibodies (pAb) against bovine alpha-1-acid glycoprotein (AGP), an acute phase protein, and their utilization in a sandwich ELISA to quantify the goat and bovine AGP concentrations in serum. The specific anti-AGP pAbs were produced following standard protocols using pure bovine AGP as immunogen, purified from hyperimmune serum by protein G affinity chromatography and biotinylated using a commercial kit. The specificity and sensitivity of the antibodies was assessed by Western blotting and indirect ELISA. The development and validation of the ELISA included the following steps: development and optimization of the assay conditions, including the selection of the optimal concentration of capture and detection antibodies, incubation times, standard curve conditions and sample dilution; analytical validation: including the evaluation of assay precision, accuracy, assay range and sensitivity; clinical validation: by investigating the differences in serum AGP concentrations healthy goats (n=17) and diseased goats (n=33; 17 suffering from Brucellosis and 16 infected by CAEV). The analytical validation results of the optimized assay showed an intra and interassay precision around 15% for samples with high and low AGP content, while the accuracy of the assay was between 96-100% for low and high AGP content samples. The ELISA showed a good sensitivity (the analytical limit of detection was 0.062 µg/mL) and assay range (2.5 µg/mL-0.062 µg/mL), allowing for the measurement of any sample after the optimal dilution ratio. No statistically significant differences were found in serum AGP levels of the investigated healthy and diseased animals, indicating that AGP is not a good health status biomarker in goat.

Keywords: ELISA; AGP; goat; cow.

LEISHMANIA INTRACELLULARE IN TRE DIFFERENTI NEOPLASIE CANINE

Ferro Silvia¹, Benali Silvia Lucia¹, Palmieri Chiara²

¹Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova.

²School of Veterinary Science, University of Queensland, Gatton Campus

La simultanea presenza di leishmaniasi e di lesioni neoplastiche è già stata descritta in letteratura sia nell'uomo che nel cane. Questo studio descrive la presenza di *Leishmania* spp. in associazione a tre tumori di diversa origine: in particolare amastigoti di *Leishmania* spp. sono stati identificati nel citoplasma delle cellule neoplastiche in un linfoma T, un fibrosarcoma e un adenoma corticosurrenalico. Le indagini immunohistochimica ed ultrastrutturale hanno confermato la presenza del protozoo nel citoplasma di cellule atipiche ed in occasionali elementi neoplastici in mitosi. In letteratura, sono presenti solo due studi nella specie canina in cui è stata osservata la presenza di *Leishmania* nel citoplasma delle cellule neoplastiche. Il dato innovativo di questo studio è l'associazione – mai descritta precedentemente - tra il protozoo e neoplasie di diversa istogenesi. Per quanto al momento i dati presenti in letteratura siano insufficienti a spiegare la relazione esistente tra l'infezione e lo sviluppo di lesioni neoplastiche, riteniamo che si possa escludere che tale compresenza sia unicamente casuale. Infine in questo studio, per la prima volta nel cane, viene descritto l'utilizzo in immunohistochimica dell'anticorpo KMP-11 che potrebbe diventare un utile strumento da impiegarsi nella diagnostica istopatologica di routine per confermare la presenza di tale agente eziologico.

Parole chiave: *Leishmania*; cane; neoplasia; KMP-11.

THREE CASES OF CANINE TUMORS WITH LEISHMANIA-LADEN NEOPLASTIC CELLS

Concurrent leishmaniasis and neoplasia, although rare, have been already reported in humans and dogs. This study describes the presence of this protozoon within the cytoplasm of neoplastic cells in three different tumors. Specifically, *Leishmania* amastigotes were detected by immunohistochemistry (IHC) in a T cell lymphoma, a fibrosarcoma and a corticosurrenalic adenoma. Furthermore transmission electron microscopy examination confirmed the intracytoplasmic localization of amastigotes within the neoplastic cells and in occasional mitotic cells. Only two papers have been published in dog describing similar features, but the new interesting finding of this study is the association – never reported before – between this protozoon and neoplasms with different histogenesis. Despite currently it is not possible to explain the relationship between the parasitic infection and the neoplastic disease, we rule out that the co-existence of the *Leishmania* and neoplasia is merely coincidental. Finally, for the first time the anti-KMP11 antibody is used to detect *Leishmania* amastigotes in canine tissue by IHC: it could become a powerful diagnostic tool to confirm the presence of the parasite, especially when barely detectable.

Key words: *Leishmania*; dog; neoplasia; KMP-11.

VALUTAZIONE BIOCHIMICA ED ELETTROFORETICA DELLE HDL NEL VITELLO: DIFFERENZA CON I VALORI DELL'ADULTO E CORRELAZIONE CON PROTEINE INFIAMMATORIE

Giordano Alessia^{1,2}, Rossi Gabriele¹, Moretti Pierangelo², Venturini Monica², Paltrinieri Saverio^{1,2}

¹*Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Milano.*

²*Laboratorio Centralizzato, Azienda "Polo Veterinario di Lodi", Università degli Studi di Milano*

La correlazione tra infiammazione e lipoproteine HDL è stata rilevata in diverse specie, incluso il bovino adulto, ma non nel vitello. La conoscenza del migliore metodo di misurazione delle HDL (elettroforesi o biochimica) e dei rapporti tra HDL e infiammazione aumenterebbe le informazioni su patogenesi e diagnosi di infiammazione del vitello. Questo studio ha lo scopo di indagare i rapporti tra infiammazione e HDL nel vitello ed è stato eseguito su sangue di 20 bovini adulti campionati a 3 e 30 giorni dal parto nell'ambito del progetto ProZoo, e di 50 vitelli (38 sani, 12 con infiammazione). Sui sieri di vitello sono stati misurati colesterolo HDL (HDLcol), aptoglobina (Hp) e paraoxonasi (PON). Su tutti i sieri la percentuale di HDL (HDL%) è stata calcolata dopo elettroforesi. Sono stati confrontati i valori di adulti e vitelli sani e di vitelli sani e malati (U Mann Withney test) ed è stata indagata la correlazione tra HDLcol, HDL%, PON e Hp nei vitelli (Spearman test). Nel vitello, HDL% (77.6±8.6%) è inferiore a quella dell'adulto. Nei malati diminuiscono HDL% (61.0±22.1%; P<0.05) e HDLcol (22.8±11.6 vs. 41.5±11.2 g/dL; P<0.001). La PON è correlata con HDLcol sia nei sani che nei malati e con HDL% solo nei malati. La Hp non è correlata a HDLcol e correla con HDL% negativamente nei sani e positivamente nei malati. In conclusione, il lipidogramma del vitello, diverso da quello dell'adulto, rileva diminuzioni di HDL associate a infiammazione, correlando meglio di HDLcol con la PON, marker infiammatorio indicativo di ossidazione.

Parole chiave: lipoproteine ad alta densità (HDL); vitello; infiammazione.

BIOCHEMICAL AND ELECTROPHORETIC ANALYSIS OF HDL IN CALVES: DIFFERENCE WITH ADULT COWS AND CORRELATION WITH INFLAMMATION

The correlation between inflammation and HDL lipoproteins, has been demonstrated in several species, including adult cows but not in calves. The information about the correlation between HDL and inflammation and about the best method to determine HDL (biochemistry vs. electrophoresis) would increase our knowledge on pathogenesis and diagnosis of inflammation in calves. This study is aimed to investigate the correlation between inflammation and HDL in calves. To this aim, blood samples were collected from 20 adult cows, sampled 3 and 30 days post-partum within the ProZoo project, and from 50 calves (38 healthy and 12 with inflammation). Cholesterol-HDL (HDLcol), haptoglobin (Hp) and paraoxonase (PON) were measured in calves. Lipoprotein electrophoresis was run on all the samples, to calculate the percentage of HDL (HDL%). Values from adults and healthy calves and from healthy and sick calves were compared with the U Mann Withney test and the correlation between HDLcol, HDL%, PON and Hp in calves was investigated (Spearman test). HDL% in calves (77.6±8.6%) is lower than in adults. Sick calves show a decrease of both HDLcol (22.8±11.6 vs. 41.5±11.2 g/dL; P<0.001) and HDL% (61.0±22.1%; P<0.05). PON correlates with HDLcol both in sick and in healthy calves and with HDL% in sick calves. Hp does not correlate with HDLcol and correlates with HDL% negatively in sick calves and positively in healthy calves. In conclusion, the lipidogram of calves differs from that of adults and reveals decreases of HDL associated with inflammation, with a better correlation with markers suggestive of oxidative damage such as PON.

Keywords: high density lipoproteins (HDL); calf; inflammation.

SINGOLARE REPERTO DI DERADELFO CEFALO-TORACO-ONFALOPAGO IN AGNELLI

Lanteri Giovanni¹, Macrì Francesco¹, Caracappa Santo², De Stefano Carmelo¹, Mazzullo Giuseppe¹

¹*Diartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria, Polo Universitario dell'Annunziata, 98100 Messina, Italy.* ²*IZS Sicilia, Via G. Marinuzzi, 3, 90129 Palermo, Italy*

Le malformazioni congenite negli animali da reddito sono state da sempre oggetto di poca attenzione, sia per lo scarso interesse da parte degli allevatori, che per la complessità di studio spesso correlata ai singoli casi. I gemelli congiunti, ad esempio, ben noti nella letteratura umana, rappresentano a tutt'oggi eventi rari in ambito scientifico veterinario e, per questo, spesso causa di discordanze patogenetiche. Nel presente lavoro, vengono descritti i quadri anatomico-patologici e radiografici di un caso di gemellarità congiunta in feti di agnelli maschi, meticci, abortiti ed occasionalmente occorsi alla nostra osservazione. All'esame radiografico total body in proiezione ventro-dorsale, si evidenziava un'unica ampia cassa toracica; il neurocranio era interrotto da diverse suture craniche; si osservava, inoltre, la parziale fusione delle due strutture orofaringee. L'esame esterno mostrava la quasi totale fusione di due soggetti (A e B), l'uno speculare all'altro, con 8 arti in situ e normoconformati. La testa si articolava a livello occipitale con due distinte colonne vertebrali contenute in un unico collo. L'ampia gabbia toracica risultava dalla totale fusione dell'emicostato destro di un soggetto al sinistro dell'altro, e viceversa, attraverso giuntura sternale. La fusione addominale proseguiva lungo la linea alba sino ad arrivare ad un'unica struttura ombelicale; da qui, l'addome si divideva in due distinte strutture. L'esame interno della cavità addominale mostrava la presenza di tutti gli organi esattamente replicati; soltanto l'apparato gastro-enterico, singolo, sdoppiava a livello di digiuno terminando in due retti separati. Infine, l'apertura del torace mostrava la presenza di 4 polmoni e due cuori, comunicanti tramite fusione vascolare. L'allontanamento del calvarium evidenziava una singola cavità cranica, contenente un cervello, un cervelletto e un unico midollo allungato che si sdoppiava successivamente in due distinti midolli spinali. La malformazione veniva classificata come deradelfo cefalo-toraco-onfalopago. La stessa rappresenta un evento rarissimo in teratologia umana; non di meno, dalla letteratura in nostro possesso non ci risultano casi sovrapponibili a questo, sia per particolarità di alterazioni organiche che di segnalamento nella razza ovina. Come già rimarcato da altri autori è importante definire la patogenesi di tale malformazione quale difetto di separazione e non più quale difetto di "fusione" monozigotica.

Parole chiave: agnelli; deradelfo; cefalotoraconfalopago; gemelli congiunti

A CASE OF DERADELPHUS CEPHALO-THORACO-OMPHALOPAGUS IN TWO LAMBS

Large animals congenital defects have always been scarcely investigated both for the lack of interest from farmers and for the complexity of their study, often related to individual cases. Conjoined twins, for example, are well known in the human literature, but to date represent rare events in the scientific and veterinary context and often represent a cause of pathogenetic discrepancies. The present work describes the pathologic and radiographic findings of a case of twin male crossbreed lamb occasionally occurred to authors' observation. Total body x-ray in v.d. projection showed a large thorax; partial fusion of the oropharyngeal structures was seen. The external examination showed an almost complete fusion of two opposite mirror-like twins (A & B), with 8 limbs, normally placed and developed. The head was joint at the occipital level with two separate spinal columns contained in a single neck. The lambs were joined through the midline up to the umbilicus, where they divided. Internal examination of the abdominal and thoracic cavities showed the presence of all organs exactly replicated; only the gastro-enteric tract was single up to the jejunum, from where it duplicated ending in two separated rectum, and two separated hearts communicating through a vascular fusion. Also the CNS was single and medulla oblongata duplicated in two separate spinal cords. The twinning was classified as deradelphus cephalo-thoraco-omphalopagus. It represents a very rare event in human teratology and not reported, to date, in veterinary literature. According to other authors, it is important to define the pathogenesis of such malformation as a "failure of separation" and no longer as a defect of monozygotic fusion.

Key words: lambs; deradelphous; cephalo-thoraco-omphalopagus; conjoined twins.

UN CASO DI OSTEOSARCOMA FIBROBLASTICO OMERALE IN UN LEONE (*Panthera leo*)

Leonardi Leonardo¹, Lepri Elvio¹, Friedrich Klaus², Olivieri Oliviero³, Mechelli Luca¹

¹Dipartimento di Scienze Biopatologiche e Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia. ²Fondazione Bioparco di Roma, Piazzale del Giardino Zoologico n. 1, 00100 Roma. ³Dipartimento di Patologia, Diagnostica e Clinica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia

L'osteosarcoma è il tumore osseo più frequente in tutte le specie animali, uomo compreso. Rari sono i casi di osteosarcoma spontanei negli animali esotici e c.d. non "convenzionali". Scopo di questo lavoro è quello di descrivere un caso di osteosarcoma fibroblastico omerale in un leone, detenuto in cattività presso un parco privato della provincia di Perugia. L'animale di sesso femminile (non sterilizzato), di circa 16 anni di età, di circa 200 Kg. di peso e regolarmente vaccinato fino ai 5 anni di età, ha manifestato i primi sintomi di malattia circa 9 mesi prima della sua morte. L'esame macroscopico della massa neoplastica, localizzata a carico del terzo prossimale dell'omero di dx mostrava un tumore di dimensioni di 26 x 12 x 10 cm, a superficie liscia irregolare, di colore brunastro, di consistenza ferma e con superficie di taglio dello stesso colore rosso scuro irregolare, di aspetto multilobulare, poco vascolarizzata e non emorragica e con aree di focale calcificazione. La crescita espansiva del tumore coinvolgeva ed invadeva anche i compartimenti epifisari circostanti, la membrana sinoviale, la capsula articolare ed i legamenti. Istologicamente il tumore appariva essenzialmente costituito da una popolazione di cellule sarcomatose, caratterizzate da forma fusiforme, pleomorfismo marcato, ipercromatismo nucleare con nucleoli prominenti e indice mitotico di media entità. Sulla base delle caratteristiche istopatologiche del tumore la diagnosi istopatologica definitiva è stata quella di osteosarcoma fibroblastico omerale.

Parole chiave: osteosarcoma; *Panthera leo*; fibroblastico; omero.

A CASE REPORT OF HUMERAL FIBROBLASTIC OSTEOSARCOMA IN A LION (*Panthera leo*)

Osteosarcoma is the most frequent malignant bone tumor in all animals species and rarely is described in exotic and "non conventional" animals. A case of spontaneous humeral fibroblastic osteosarcoma in a lion (*Panthera leo*) housed in a private park in Perugia is reported. A 16 years old, female non sterilized lion, around 200 Kg. of body weight, vaccinated for the most common infectious feline diseases, was visited for the first time 9 months before death for mild lameness and pain of the humerus. Afterward a big mass grown in the proximal humerus and it reached a large size of 26 x 12 x 10 cm and show features of irregular smooth brown surface, firm and rubbery in fibrous areas, sometimes gritty to stone-hard in more densely osteogenic white areas. The mass was poorly vascularized, not hemorrhagic or cystic but was necrotic in some periferic neoplastic areas. The cut surface show a multilobulated mass with permeation and breached of the bone's humeral cortex with periosteal production of reactive bone. The characterizing feature of the tumor was represented by medium grade sarcoma cells producing osteoid and woven bone with extensive osteoblastic differentiation associated with the production of collagen and a strong components of fibroblastic cells associated with diffuse activation of osteoclastic reactive giant cells. Neoplastic cells appeared large, pleomorphic and hyperchromatic with prominent nucleoli and mild grade of mitotic index. In the areas where the tumor was more intensely osteogenic and sclerotic the cells appeared scarce, small, with slender nuclei and dense chromatin with no mitoses. There was a presence of diffuse moderate inflammatory cells with storiform patterns of arrangement of fibroblasts. Based on the rate growth of the lesion and histopathological findings a final diagnosis of fibroblastic osteosarcoma was given.

Key words: osteosarcoma; *Panthera leo*; fibroblastic; humerus.

RUOLO DELL'ESAME ANATOMO-ISTOPATOLOGICO NELLA DIAGNOSI DELLE PIÙ COMUNI PATOLOGIE APISTICHE

Maiolino Paola¹, De Leva Giovanna¹, Carbone Sabrina², Carella Francesca³, Martano Manuela

¹Dipartimento di Patologia e Sanità animale- Settore di Anatomia Patologica. ²Libero Professionista. ³Dipartimento di Scienze Biologiche, Università degli Studi di Napoli Federico II

Da diversi anni gli apicoltori si sono trovati ad affrontare gravi episodi di mortalità nelle colonie di api. Le cause di questo fenomeno sono molteplici: pratiche apistiche errate, cambiamenti climatici, smog, malattie dovute a batteri, miceti, parassiti e virus. Dal momento che del tutto sconosciute risultano le alterazioni indotte dai diversi agenti eziologici a livello di cellule, tessuti ed organi, abbiamo ritenuto opportuno valutare con indagini anatomico-istopatologiche le lesioni indotte da questi, su esemplari adulti e larve di ape. Campioni di api sono stati prelevati e processati per l'esame anatomico-istopatologico secondo le metodiche routinarie. L'esame anatomico-patologico ha permesso di evidenziare alterazioni anatomiche comuni a numerose patologie quali: anomalie nella formazione degli arti, della testa e delle ali, riduzione della crescita, addome rigonfio e ano imbrattato di feci. L'esame istopatologico ha permesso di identificare strutture istologiche normali nelle api nei vari stadi di sviluppo e, in un solo caso e in maniera del tutto casuale, di evidenziare, all'interno del corpo di una larva maschio macroscopicamente sana, numerose ife fungine del genere *Ascospheera apis*, agente eziologico della Covata calcificata. A nostro avviso, la dimensione del corpo e degli organi degli insetti, in molti casi rende difficile l'evidenziazione di eventuali alterazioni morfologiche a carico degli organi e degli apparati (esame anatomopatologico) mentre più facile risulta l'identificazione delle alterazioni morfologiche e funzionali che si verificano a carico delle cellule e dei tessuti (esame istopatologico). Tali osservazioni sembrano essere confermate dai risultati del nostro studio e sottolineano l'importanza dell'esame istologico nella diagnosi delle più comuni patologie delle api e soprattutto nella diagnosi precoce, requisito essenziale per evitare la rapida diffusione di numerose malattie infettive contagiose.

Parole chiave: api; patologie; esame anatomico-istopatologico.

ROLE OF PATHOLOGICAL EXAMINATION IN THE DIAGNOSIS OF THE MOST COMMON HONEY BEE DISEASES

For several years an increase in honey bee mortality has been reported in several countries. Bad beekeeping practices, climate changes, smog, pollution from pesticides, diseases caused by bacteria, fungi, parasites, viruses are considered the main causes. In order to provide useful information on the mechanisms by which these agents can induce disease, we considered appropriate to assess anatomical and histopathological investigations. Samples of bees were collected and processed with routine histological method. Anatomical examination has shown changes, common to many honeybee diseases, such as abnormalities of the limbs, head and wings, reduced growth, swollen abdomen. Histopathological examination has allowed the identification of normal histological structures in honey bees in various stages development and, in one case, has permitted to identify within the body of a male larva, numerous fungal hyphae of *Ascospheera apis*, causative agent of the chalk brood. Our results confirm the importance of the histopathological examination in the honey bee diseases, in which body and organs size makes difficult the identifying of any anatomical changes, thus allowing the early diagnosis of most common honey bee diseases, essential to prevent the spread of many infectious diseases.

Key words: honey bees; diseases; pathological examination.

CRISTALLI INTRATUBULARI NEL RENE DI UN PESCE ORNAMENTALE (*Carassius auratus*): POTENZIALE ESPRESSIONE DI ACCUMULO DI MELAMINA CIANURATA?

Mandrioli Luciana¹, Sirri Rubina¹, Brachelente Chiara², Ghiotto Stefano¹, Bettini Giuliano¹

¹*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna.* ²*Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari, Università degli studi di Perugia*

L'aggiunta nel mangime di melamina per aumentare il tenore proteico è una grave frode nota anche agli allevatori del settore ittico, al pari di quanto segnalato in altre realtà produttive. Nel rene di un pesce ornamentale (*Carassius auratus*), soppresso per una neoplasia cutanea (schwannoma), è stata istologicamente riscontrata la presenza di cristalli intratubulari. disposti radialmente a occupare il lume intratubulare lungo l'asse nefronale, birifrangenti in luce polarizzata, di colore giallo-verdognolo all'EE. È stato applicato un pannello istochimico (Alizarina S, von Kossa, Oil-Red-O-72) per caratterizzare la natura dei cristalli, e i risultati sono stati confrontati con quelli di una precedente sperimentazione in cui era stata somministrata melamina/acido cianurico in esemplari di trota iridea (*Onchorynchus mykiss*). Sono state eseguite inoltre indagini ultrastrutturali. I cristalli intratubulari erano disposti radialmente ad occupare il lume intratubulare lungo l'asse nefronale, erano birifrangenti in luce polarizzata, di colore giallo-verdognolo all'EE. Nei controlli positivi (trota) i cristalli di melamina cianurata erano di colore arancio intenso con ORO72, e non colorati con Alizarina S e von Kossa. Nel rene di carassio i cristalli hanno acquisito una colorazione debole solamente con il metodo Von Kossa (sali di calcio). L'ipotesi causale della sofisticazione di mangime per pesci ornamentali è stata pertanto esclusa, mentre possono essere prese in considerazione cause nutrizionali o metaboliche.

Parole chiave: *Carassius auratus*; istochimica; rene; cristalli; melamina cianurata.

INTRODUZIONE

L'aggiunta nel mangime di melamina, molecola ricca in azoto pari al 66% del peso molecolare, è una grave frode nota anche agli allevatori del settore ittico, al pari di quanto segnalato in altre realtà produttive. Nelle specie ittiche finora oggetto di prove sperimentali è stata dimostrata una buona tollerabilità alla presenza di cristalli di melamina cianurata grazie alle peculiarità fisiologiche rappresentate da una intrinseca elevata capacità rigenerativa del parenchima renale e dall'escrezione dei cataboliti azotati tramite il filtro branchiale (Reimschuessel *et al.*, 2008).

Nel rene di un pesce ornamentale, soppresso in quanto portatore di uno schwannoma, all'esame istologico sono stati accidentalmente riscontrati cristalli intratubulari, le cui caratteristiche fisico-chimiche hanno suggerito una identificazione morfologica e strutturale riferibile a melamina cianurata. Non erano stati eseguiti trattamenti antibiotici o con altre molecole durante la permanenza nell'acquario di stabulazione; il soggetto era stato alimentato con mangime commerciale.

MATERIALI E METODI

Campioni di rene posteriore sono stati fissati in formalina tamponata al 10% e processati secondo metodica di routine. Alcune sezioni sono state inoltre sottoposte a colorazione Oil-Red-O protratta per 72 ore (ORO72), metodo von Kossa e Alizarina S a pH 4,2 per caratterizzare la tipologia dei cristalli secondo le metodiche proposte da Schmalzried *et al.* (1993) e Mazzi (1977). I risultati istochimici sono stati confrontati con quelli di una precedente prova sperimentale basata sulla somministrazione orale di melamina/acido cianurico in esemplari di trota iridea (*Onchorynchus mykiss*). L'allestimento dei campioni per la microscopia elettronica a trasmissione (TEM) ha previsto la disidratazione, inclusione in resina epossidica, polimerizzazione e taglio all'ultramicrotomo di sezioni semifini, colorate con blu di toluidina; si è proceduto in seguito al taglio di sezioni ultrafini all'ultramicrotomo. Le sezioni così ottenute, poste su griglie di rame, contrastate con acetato di uranile e citrato di piombo, sono state osservate con microscopio elettronico a trasmissione 208 Philips (Eindhoven, Holland).

RISULTATI

Nel controlli positivi (reni di trota) e nel rene di carassio i cristalli sono risultati di colore giallo-verdognolo, disposti per lo più radialmente a occupare il lume intratubulare lungo l'asse nefronale (Fig. 1A,B); a carico dell'epitelio tubulare sono stati osservati segni di degenerazione cellulare di grado lieve/moderato. Al microscopio a luce polarizzata in entrambi i casi i cristalli intratubulari sono risultati birfrangenti (Fig. 1C,D). La colorazione ORO72 ha evidenziato in arancione intenso i cristalli nel rene di trota (Fig. 2E), mentre nel rene di carassio i cristalli non si sono colorati (Fig. 2F). La colorazione von Kossa non ha evidenziato positività nel rene di trota (Fig. 2G) mentre ha colorato debolmente in nero i cristalli nel rene di carassio (Fig. 2H); infine, l'Alizarina S a pH 4,2 ha dato esito negativo in entrambi i casi (Fig. 2I,L).

La TEM eseguita solo sul tessuto renale di carassio ha evidenziato nel lume intratubulare numerose lacune di forma tondeggianti interpretabili come stampi di cristalli di ossalato di calcio asportati dalla resina durante il taglio delle sezioni ultrafini; sempre all'interno del lume è presente materiale da globulare ad aghiforme. Sono presenti, inoltre, segni di degenerazione dell'epitelio tubulare (Fig. 3).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'aspetto istologico e la birifrangenza dei cristalli intratubulari sia nel rene di carassio che nei controlli positivi di trota hanno fatto supporre inizialmente una composizione chimica riferibile a melamina cianurata.

La colorazione ORO72, modificata rispetto alla metodica tradizionalmente impiegata per svelare i lipidi, ha permesso di confermare un contenuto di melamina cianurata nei reni di trota, escludendo invece questo tipo di accumulo nel rene di carassio. Questa particolare colorazione infatti è stata proposta come metodo istochimico di elezione per evidenziare i cristalli contenenti melamina che si producono nei tubuli renali dei soggetti alimentati con mangime contaminato/addizionato in modo fraudolento (Dalen *et al.*, 2009). Questo metodo è stato applicato con efficacia anche in prove sperimentali su tilapia (*Oreochromis mossambicus*), pesce gatto americano (*Ictalurus punctatus*), trota iridea (*Onchorynchus mykiss*), salmone atlantico (*Salmo salar*) e walking catfish (*Clarius batrachus*) (Reimschuessel *et al.*, 2008; Reimschuessel *et al.*, 2010; Pirarat *et al.*, 2012).

Il metodo di von Kossa, che si basa sulla fissazione da parte dei sali di calcio dell'argento

metallico ottenuto per riduzione dal nitrato mediante esposizione alla luce solare o ultravioletta, colora in nero fosfati, carbonati, ossalati di calcio (Thompson *et al.*, 2008). Questa colorazione ha permesso di evidenziare solo nel rene di carassio la presenza di precipitati di calcio. La colorazione istochimica con il rosso di Alizarina S, che determina la formazione di complessi antrachinonici con i sali di calcio, evidenzia, se condotta a pH 4.2, solo carbonati e fosfati di calcio, e non gli ossalati (Mazzi, 1977). Nel rene di carassio questa colorazione ha escluso un contenuto in fosfati e carbonati, supportando invece la presenza di ossalati di calcio. Non è stato tuttavia possibile eseguire colorazioni specifiche per ossalati per l'esaurimento del materiale a disposizione.

La TEM è risultata uno strumento utile alla conferma dei depositi di cristalli anche se, come già evidenziato da altri autori, risulta difficile conservare l'integrità dei cristalli di ossalato di calcio, che rimangono non penetrabili dalla resina e vanno incontro a distacco durante il sezionamento delle ultrafini lasciando delle lacune nel tessuto (Dykstra e Hackett, 1979).

Esclusa l'ipotesi di una sofisticazione del mangime con melamina, la diagnosi è stata quindi orientata verso una nefrocalcinosi da ossalato di calcio, che nei pesci può essere provocata da una carenza alimentare di vitamina B6 (Smith *et al.*, 1974).

BIBLIOGRAFIA

- Dalen AW (2009). Proposed protocol for dead animals with suspected per-food associated nephrotoxicity. Diagnostic Center for Population and Animal Health, Michigan State University (<http://www.aavld.org>).
- Dykstra MJ, Hackett RL (1979). Ultrastructural events in early calcium oxalate crystal formation in rats. *Kidney International* 15, 640-650.

- Mazzi (1977). Manuale di tecniche istologiche e istochimiche. Piccin Editore, Padova.
- Pirarat N, Katagiri T, Chansue N, Pongpornpisit A, Endo M, Maita M (2012). The pathological effects of melamine and cyanuric acid in the diet of walking catfish (*Clarius batrachus*). *Vet Pathol* doi:10.1016/j.jcpa.2011.12.008
- Reimschuessel R, Giesecker CM, Miller, RA, Ward J, Boehmer J, Rummel NG, Heller DN, Nohetto C, Hemakanthi de Alwis GK, Bataller N, Andersen WC, Turnipseed SB, Karbiwnyk CM, Duane Satzger R, Crowe JB, Wilber NR, Reinhard MK, Roberts JF, Witkowski MR (2008). Evaluation of the renal effects of experimental feeding of melamine and cyanuric acid to fish and pigs. *AJVR* 69, 1217-1228.
- Reimschuessel R, Evans E, Andersen WC, Turnipseed SB, Karbiwnyk CM, Mayer TD, Nohetto C, Rummel NG, Giesecker CM (2010). Residue depletion of melamine and cyanuric acid in catfish and rainbow trout following oral administration. *J Vet Pharmacol Therap* 33, 172-182.
- Schmalzried TP, Jasty M, Rosenberg A, Harris WH (1993). Histologic identification of polyethylene wear debris using Oil Red O stain. *J Appl Biomater* 4, 119-125.
- Smith CE, Brin M, Halver JE (1974). Biochemical, physiological, and pathological changes in pyridoxine-deficient rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J Fish Res Board Can* 31, 1893-1898.
- Thompson ME, Lewin-Smith MR, Kalasinsky VF, Pizzolato KM, Fleetwood ML, McElhaney MR, Johnson TO (2008). Characterization of melamine-containing and calcium oxalate crystals in three dogs with suspected pet food-induced nephrotoxicosis. *Vet Pathol* 45, 417-426.

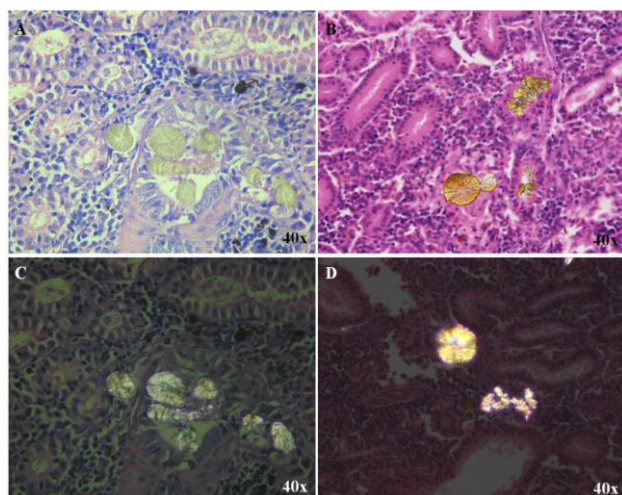


Figura 1. Controlli positivi (reni di trota) (A,C); rene di carassio (B,D) (Ematossilina-eosina). In entrambi le specie i cristalli di melamina cianurata appaiono traslucidi, di colore giallo/verdognolo, sono disposti radialmente nei lumi tubulari e birifrangenti al microscopio a luce polarizzata.

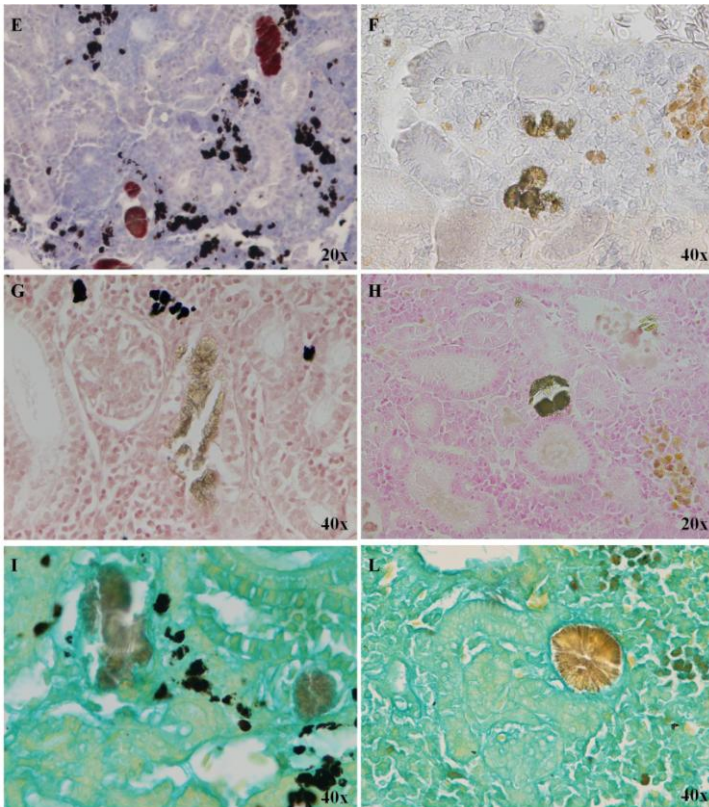


Figura 2. Controlli positivi (reni di trota) (E,G,I); rene di carassio (F,H,L). La colorazione ORO72 (E,F) ha evidenziato in arancione intenso i cristalli nel rene di trota (E), mentre nel rene di carassio i cristalli non si sono colorati (F). La colorazione von Kossa (G,H) non ha evidenziato positività nel rene di trota (G) mentre ha colorato debolmente in nero i cristalli nel rene di carassio (H). L'Alizarina S a pH 4,2 (I,L) ha dato esito negativo in entrambi le specie.

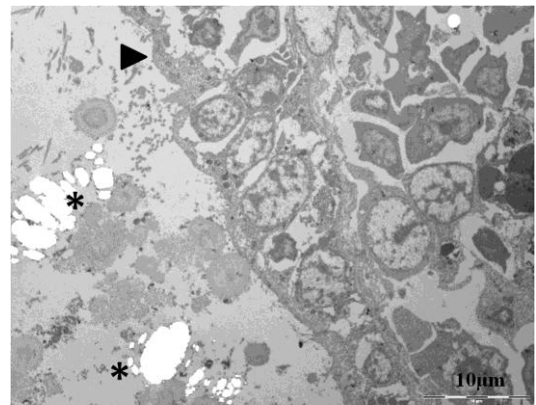


Figura 3. Microscopia elettronica a trasmissione (TEM) di rene di carassio. Nel lume intratubulare sono evidenti numerose lacune di forma tondeggianti (*) interpretabili come stampi di cristalli di ossalato di calcio asportati dalla resina durante il taglio delle sezioni ultrafini; sempre all'interno del lume è presente materiale da globulare ad aghiforme. Si notato, inoltre, segni di degenerazione dell'epitelio tubulare (testa di freccia).

INTRATUBULAR CRYSTALS IN KIDNEY OF AN ORNAMENTAL FISH (*Carassius auratus*): POTENTIAL EXPRESSION OF CYANURATE MELAMINE ACCUMULATION?

The fraudulent addition of melamine in feed has been reported in the fishing industry. In the kidney of an ornamental fish (*Carassius auratus*) euthanized due to a schwannoma, intratubular crystals were histologically observed. An histochemical panel (Alizarine S, von Kossa and ORO72 stains) was performed in order to assess the crystal nature (calcium salts and cyanurate melamine), making a comparison with archived samples of kidneys from rainbow trouts (*Onchorynchus mykiss*) experimentally treated with melamine and cyanuric acid. Ultrastructural investigations were also carried out. Intratubular crystals were radially oriented, occupied the lumens along the nephronal axis, were birefringent under polarized light and yellow-green at H&E stain. In positive controls (trout), melamine cyanurate crystals stained intensely orange with ORO72, whereas did not stain with Alizarine S and von Kossa methods. In the ornamental fish only a faint stain was obtained with von Kossa method (calcium salts). The causal hypothesis of feed sophistication of fish feed was therefore excluded, and other nutritional or metabolic causes can be considered.

Key words: *Carassius auratus*; histochemistry; kidney; crystals; cyanurate melamine.

ESPRESSIONE IMMUNOISTOCHEMICA E VALORE PROGNOSTICO DI P53 ED EGFRS NEL CARCINOMA SQUAMOSO FELINO

Maniscalco Lorella¹, Iussich Selina¹, Morello Emanuela¹, Martano Marina¹, Biolatti Bartolomeo¹, Guscetti Franco², Gattino Francesca², Berardi Marco¹, Buracco Paolo¹, De Maria Raffaella¹

¹Dipartimento di Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Torino, Via L. Da Vinci, 44, Grugliasco (TO). ²Institute of Veterinary Pathology, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland

Il carcinoma squamoso cutaneo felino (FC-SCC) rappresenta uno dei tumori di più facile riscontro a carico della cute dei gatti, con una frequenza compresa tra il 15 e il 50%. Nel carcinoma squamoso cutaneo umano, l'elevata espressione di TP53 e dei recettori tirosina kinasici EGFR1 ed HER2 è un fattore prognostico negativo e rappresenta un possibile bersaglio terapeutico per l'utilizzo di TKI (tyrosine kinases inhibitors). Scopo di questa ricerca è stato quello di valutare l'espressione immunoistochimica di TP53, EGFR1 ed HER2 in 24 casi di FC-SCC in relazione alle caratteristiche istologiche del tumore e al follow-up dell'animale. I FC-SCC sono stati classificati in base alla differenziazione cellulare in carcinomi squamosi di I, II e III grado. Ciascun campione è stato sottoposto a tecnica immunoistochimica mediante anticorpi specifici per TP53, EGFR1 ed HER2 ed il grado di positività è stato paragonato a parametri istologici e follow up clinico per un periodo complessivo di osservazione di 24 mesi. I carcinomi sono stati classificati in 10 (41,67%) carcinomi di I grado, 10 (41,67%) carcinomi di II grado e 4 (16,67%) di III grado. Il 58,33% dei casi esaminati (14/24) era positivo per TP53 ed EGFR1, mentre il 79,17% (19/24) era positivo per HER2. L'elevata co-espressione di EGFR1 ed HER2 (90% di cellule positive con intensa colorazione a livello di membrana) è risultata significativamente correlata a FC-SCC di III grado. Nessuna correlazione significativa è stata trovata invece tra espressione di TP53, EGFR1 ed HER2 e intervallo libero da malattia (DFI) e sopravvivenza (OS). L'elevata espressione per gli EGFRs riscontrata in questo studio conferma il ruolo di questi recettori nella patogenesi dei FC-SCC e rende questi recettori possibili target molecolari per l'utilizzo di TKI specifici in associazione con terapie convenzionali.

Parole chiave: carcinoma squamoso; gatto; prognosi; EGFRs; p53.

IMMUNOHISTOCHEMICAL DETECTION OF TP53 AND EGFRS AND THEIR PROGNOSTIC VALUE IN FELINE SQUAMOUS CELL CARCINOMAS

Feline cutaneous squamous cell carcinoma (FC-SCC) is one of the most common malignant tumours of the skin of cats, with a frequency of 15-50% of all skin neoplasms. In humans, TP53 and EGFRs expression play an important role in the progression of this tumour, and their expression confers a worse prognosis to patients. The aim of this research was to assess the expression of TP53, EGFR1 and HER2 in relation to histopathological and clinical features in FC-SCC. After surgical excision twenty-four formalin fixed paraffin embedded tissue samples were tested for EGFR1, HER2 and p53 by immunohistochemistry. Histologically FC-SCC were classified as squamous cell carcinomas of grade I, II and III. Relationships between p53, EGFR1, HER2 and histopathological parameters, disease-free interval (DFI) and overall survival (OS) at 24 months were investigated. We analyzed 10 (41,67%) I grade, 10 (41,67%) II grade and 4 (16,67%) II grade carcinomas. Fourteen out of 24 tumours (58,33%) were positive to p53 and EGFR1, while nineteen (79,17%) were positive to HER2. High co-expression of EGFR1 and HER2 (90% of positive cells with a strong membranous immunolabelling) was significantly associated to grade III FC-SCC. No statistically significant relation was found between TP53, EGFR1 and HER2 expression and DFI and OS of patients. The high percentage of expression of EGFRs in this study confirm the role of these receptors in the pathogenesis of FC-SCC as in human SCC suggesting that EGFRs may be considered as therapeutic target for the use of EGFRs inhibitors in association to conventional therapy.

Key words: squamous cell carcinoma; feline; EGFRs; p53.

TOXOPLASMOSI BILIARE IN UN GATTO

Morini Maria¹, Bettini Giuliano¹, Turba Maria Elena²

¹*Servizio di Anatomia Patologica, Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria - Alma Mater Studiorum, Università di Bologna.* ²*Genefast srl, Bazzano, Bologna*

Toxoplasma gondii può provocare nel gatto una malattia multisistemica coinvolgente fegato, polmoni, sistema nervoso centrale e altri organi. Nel fegato si osserva generalmente una epatite necrotizzante multifocale a possibile estensione panlobulare, con evidenza istologica di tachizoiti liberi e/o di cisti contenenti bradizoiti nel contesto dei focolai necrotici. Molto più raramente la toxoplasmosi si esprime con una colangite, che nel gatto è solitamente causata da germi di provenienza intestinale.

Si presenta un caso di colangite/colangioepatite in un giovane gatto con ittero, vomito e diarrea, in cui l'esame citologico del fegato ha evidenziato molteplici stadi maturativi protozoari nel citoplasma delle cellule delle vie biliari. Sulla base delle caratteristiche istologiche e citologiche e di approfondimenti ultrastrutturali e molecolari, i microrganismi sono stati identificati come appartenenti alla specie *Toxoplasma gondii*.

Parole chiave: toxoplasmosi; fegato; tratto biliare; gatto.

DESCRIZIONE DEL CASO

Un gatto europeo femmina di 12 mesi è presentato alla visita con sintomatologia di ittero, vomito e diarrea da 4 giorni, in trattamento da due giorni con enrofloxacin (Baytril® cpr da 15 mg, 1 cpr al dì) per sospetto di pancreatite e/o epatite diagnosticate presso altra struttura. All'esame clinico si riscontrano estremo abbattimento del sensorio, posteriore imbrattato di feci, mucose esplorabili fortemente itteriche, temperatura nella norma. Gli esami di laboratorio mettono in evidenza anemia normocromica-normocitica (RBC 4.44/mm³, HGB 8.6 gr%, HCT 21.9%, MCV 049 fL, MCH 19.3 pgr), leucocitosi neutrofila (25.3 WBC/mm³), grave alterazione della funzionalità epatica (ALT > 1000 U/L, TBIL 4.95 mg/dl) e marcata bilirubinuria.

L'esame ecografico mette in evidenza un fegato moderatamente aumentato di volume e diffusamente iperecogeno. Viene proseguita la terapia antibiotica con doxiciclina (Vibravet® pasta 1%: 1 ml/kg p.v.) associata a fluido terapia e alimentazione con epatoprotettori (Feline Hepatic Support®, 1 tavoletta 2 volte al dì). Il giorno successivo è eseguito un prelievo per agoaspirazione dal fegato, che mette in evidenza epatociti con occasionali vacuolizzazioni e accumulo di pigmenti biliari, moderata presenza di linfociti e granulociti neutrofili, e abbondanti cellule epiteliali batiprismatiche riferibili a elementi dei dotti biliari (Figura 1a), spesso contenenti microrganismi intracitoplasmatici ovoidali di colore bluastro della lunghezza di circa 3 micron presenti sia come forme singole che come aggregati rotondeggianti (Figure 1b, 1c e 1d). La morfologia dei microrganismi riferibile a forme protozoarie a diverso stadio maturativo, l'abbondanza di cellule delle vie biliari e la componente flogistica concludono una diagnosi citologica di colangite iperplastica associata a sospetto di coccidiosi delle vie biliari. La contestuale precipitazione delle condizioni generali induce il proprietario a richiedere l'eutanasia.

L'esame esterno della carcassa rivela marcato ittero delle mucose apparenti e del sottocute; all'apertura della cavità addominale il fegato appare di colore pallido e con disegno lobulare evidente, e in sezione è visibile un marcato ispessimento della parete dei dotti biliari, con lumi ectasici e contenuto catarrale (Figura 2). La colecisti appare estremamente distesa, di colore biancastro e con contenuto catarrale schiumoso. Nessuna alterazione di rilievo a carico degli altri organi.

L'esame istologico del fegato dimostra una grave

colangite neutrofilica subacuta, caratterizzata da fibrosi periduttale, iperplasia dell'epitelio biliare, ectasia duttale e lieve epatite portale (Figure 3a e 3b). All'interno della porzione apicale citoplasmatica di numerose cellule dei dotti si riscontra la presenza di corpi eosinofili (1-1.5 micron), di forma allungata, disposti singolarmente o raggruppati fra loro all'interno di vacuoli rotondeggianti (3-5 micron) (Figura 3c). Queste strutture sono maggiormente rese evidenti con la colorazione Wipf in rosa-fuxia (Figura 3d). La microscopia elettronica conferma la presenza di protozoi all'interno di vacuoli parassitofori delle dimensioni di 3-5 x 1.0-1.4 micron, morfologicamente coerenti con coccidi del Phylum Apicomplexa (*Isoospora* spp., *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii*) (Figura 4). Il sequenziamento in PCR, effettuato successivamente su materiale recuperato da un campione citologico, dimostra una omologia del 98% per *Toxoplasma gondii*, e conferma la diagnosi definitiva di toxoplasmosi biliare.

DISCUSSIONE

Toxoplasma gondii può provocare nel gatto una malattia multisistemica coinvolgente fegato, polmoni, sistema nervoso centrale e altri organi. Nel fegato si osserva generalmente una epatite necrotizzante multifocale a possibile estensione panlobulare, con evidenza istologica di tachizoiti liberi e/o di cisti contenenti bradizoiti nel contesto dei focolai necrotici. Molto più raramente la toxoplasmosi si esprime con una colangite, che nel gatto è solitamente causata da germi di provenienza intestinale.

La coccidiosi biliare è molto rara in patologia animale, se si eccettua la coccidiosi biliare del coniglio da *E. stiedae* (Gardiner et al., 1998). Sporadici casi sono stati segnalati in cane, gatto, furetto e capra, senza peraltro giungere alla definitiva identificazione di specie (Neufeld e Brandt, 1974; Williams et al., 1996; Oruc, 2007). In particolare, l'unica segnalazione nel gatto ipotizza *Isoospora* o *Toxoplasma*, ma non approfondisce ulteriormente l'indagine e sottolinea come la sola morfologia non sia sufficiente a confermare l'una o l'altra ipotesi (Neufeld e Brandt, 1974).

La particolarità del caso presentato risiede nell'inusuale localizzazione del protozoo: la presenza di coccidi nel tratto biliare intraepatico è infatti un reperto quanto mai inusuale nel gatto, in cui la toxoplasmosi decorre solitamente con aspetti clinici e istopatologici molto diversi.

BIBLIOGRAFIA

- Gardiner CH, Fayer R, Dubey JP (1998): "An atlas of protozoan parasites in animal tissues". 2nd ed., Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC.
- Neufeld JL, Brandt RW (1974): Cholangiohepatitis in a cat associated with a coccidian-like organism. Canadian Veterinary Journal 15: 156-159.
- Oruc E (2007): Histopathological findings in naturally occurring biliary coccidiosis in a goat kid. Veterinary Record 160: 93.
- Williams BH, Chimes MJ, Gardiner CH (1996): Biliary coccidiosis in a ferret (*Mustela putorius furo*). Veterinary Pathology 33: 437-439.

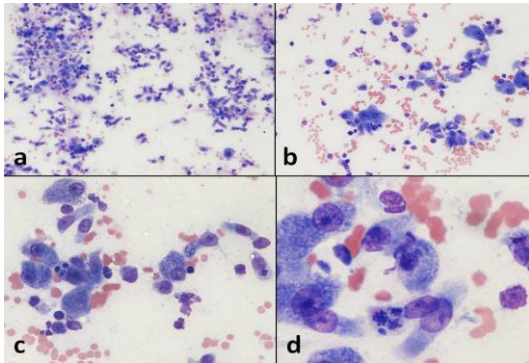


Figura 1. Nei preparati citologici allestiti per agoaspirazione dal fegato si osserva la presenza di abbondanti cellule batiprismatiche morfologicamente riferibili a cellule dei dotti biliari, frammiste ad epatociti e ad un moderato quantitativo di cellule infiammatorie (linfociti e granulociti neutrofili) (a). MGG, 4x. A più forte ingrandimento si può notare, all'interno del citoplasma delle cellule biliari, la presenza di microrganismi ovoidali di colore bluastrò, delle dimensioni di circa 3 micron, sia isolati che visibili come aggregati rotondeggianti (b,c,d). MGG, 10x, 20x, 40x rispettivamente.



Figura 2. Aspetto macroscopico del fegato in sezione, in cui si osserva un marcato ispessimento della parete dei dotti biliari.

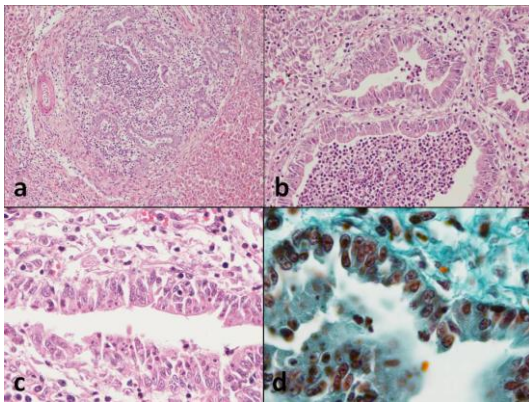


Figura 3. L'esame istologico del fegato mostra una grave colangite neutrofilica subacuta, con iperplasia dell'epitelio duttale ed ectasia dei dotti biliari (a,b). EE, 4x e 10x rispettivamente. A più forte ingrandimento, a carico della porzione apicale delle cellule dei dotti biliari, si osserva la presenza di corpi eosinofili di 1-1.5 micron di diametro, di forma allungata, spesso disposti a formare vacuoli rotondeggianti (c). EE, 20x. Gli agenti sono maggiormente resi visibili in rosa-fuxia con la colorazione Wipf (d). Wipf, 40x.



Figura 4. Corpi protozoari intracitoplasmatici morfologicamente coerenti con coccidi del Phylum Apicomplexa. Microscopio elettronico a trasmissione, 5.400x.

BILIARY TOXOPLASMOSIS IN A CAT

Toxoplasma gondii can cause in cats a multisystemic disease involving the liver, lungs, central nervous system and other organs. The liver generally shows multifocal necrotizing hepatitis with possible panlobular extension, with histological evidence of free tachyzoites and/or cysts containing bradyzoites within necrotic foci. Very rarely, toxoplasmosis is expressed by cholangitis, the latter being much more frequently caused in cats by bacteria of intestinal origin.

We report here a case of cholangitis/cholangiohepatitis in a young cat, where cytology of the liver showed multiple maturational stages of protozoa in the cytoplasm of cells of the bile ducts. On the basis of the cytological, histological, ultrastructural and molecular details, the microorganisms were identified as belonging to the species *Toxoplasma gondii*.

Key word: toxoplasmosis; liver; biliary tract; cat.

RILIEVI CLINICI ED ANATOMOPATOLOGICI SU UN CASO DI MIOPATIA DA CATTURA IN UN CERVO SARDO (*Cervus elaphus corsicanus*)

Nuvoli Sara, Secci Fabio, Burrai Giovanni P., Columbano Nicola, Giagu Anna, Rocca Stefano, Careddu Giovanni M., Antuofermo Elisabetta

Dipartimento di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Sassari

I mammiferi selvatici sottoposti a stress da cattura, confinamento e manipolazione possono manifestare una patologia degenerativa nota come miopatia da cattura, caratterizzata prevalentemente da lesioni muscolari e talvolta renali. La miopatia da cattura può insorgere da qualche ora sino a qualche settimana dopo l'episodio stressante ed i cervidi risultano essere particolarmente sensibili a questa patologia. Negli animali selvatici sono state riportate quattro differenti forme di miopatia da cattura, tra le quali la più frequente è la sindrome atassica mioglobinurica. Una femmina adulta di cervo sardo (*Cervus elaphus corsicanus*), specie endemica ed a rischio di estinzione, veniva sottoposta a teleanestesia a fini di ripopolamento nel Medio Campidano. L'animale, circa 12h dopo il rilascio, veniva ritrovato morto e, sottoposto ad esame necroscopico, mostrava quadri emorragici multifocali prevalentemente a carico dei muscoli del dorso e degli arti posteriori. Il cuore presentava diffuse emorragie nel pericardio ed aree multiple biancastre subendocardiche nei ventricoli e nei muscoli papillari. Entrambi i reni apparivano lievemente congesti ed aumentati di volume. Le lesioni venivano campionate, fissate in formalina al 10% e sottoposte a processazione istochimica (E.E., Tricromica di Masson) ed immunoistochimica (anticorpo anti-Mioglobina). Istologicamente, le lesioni muscolari scheletriche e cardiache, caratterizzate da gravi fenomeni degenerativi (aree di necrosi e perdita di striature trasversali), mostravano all'immunoistochimica diminuzione della mioglobina. A carico del rene si osservava degenerazione delle cellule epiteliali tubulari con presenza di evidenti depositi di mioglobina intratubulare. I quadri anatomoistopatologici osservati ed i livelli sierici elevati di CK, LDH e K⁺, deponevano per una diagnosi di rabdomiolisi acuta associata a nefrosi mioglobinurica. Il nostro caso risulta essere la prima segnalazione di atassia mioglobinurica in un cervo sardo affetto da miopatia da cattura.

Parole chiave: miopatia da cattura; cervo sardo; immunoistochimica; nefrosi mioglobinurica.

CLINICOPATHOLOGICAL FINDINGS OF CAPTURE MYOPATHY IN A SARDINIAN RED DEER (*Cervus elaphus corsicanus*)

Capture myopathy (CM) is a pathology of wildlife associated to stress of capture and restraint. One of most frequent forms of CM is the ataxic myoglobinuric syndrome that occurs after several hours/days post capture. Rhabdomyolysis and myoglobinuria are the main pathological findings. The present study describes a case of capture myopathy in a female Sardinian red deer (*Cervus elaphus corsicanus*), that several hours after teleanesthesia for restocking purposes was found dead. At necropsy, multifocal hemorrhages were present in skeletal muscles. The heart showed multiple hemorrhages in the pericardium and pale areas in the subendocardial myocardium. Kidneys were deeply dark and swollen. Histopathologically, affected muscles were characterized by acute myocytes degeneration and loss of cross striations. In kidneys, some degenerated tubular cells associated with scattered intratubular pigmented casts were noticed. Clinical and histopathological findings were indicative of acute rhabdomyolysis and myoglobinuric nephrosis. To the best of our knowledge, this is the first report of capture myopathy in Sardinian red deer.

Key words: capture myopathy; Sardinian red deer; immunohistochemistry; myoglobinuric nephrosis.

LA HEAT SHOCK PROTEIN 90 (HSP90) E' ASSOCIATA ALL'EVOLUZIONE IPERPLASTICA E NEOPLASTICA DELLA PROSTATA DEL CANE

Palmieri Chiara¹, Mancini Melissa¹, Benazzi Cinzia², Della Salda Leonardo¹

¹*Dipartimento di Scienze Biomediche Comparete, Facoltà di Medicina Veterinaria, Teramo.*

²*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Bologna*

La specie canina è considerata un importante modello di studio per le patologie prostatiche dell'uomo in quanto esposta alle stesse condizioni ambientali che ne predispongono l'insorgenza ed essendo una delle poche specie animali in grado di sviluppare spontaneamente i tumori prostatici. Scopo del presente studio è la valutazione dell'espressione della HSP90 – marker di trasformazione neoplastica e regolatore del recettore per gli androgeni (AR) – nei casi di iperplasia prostatica benigna (BPH) e carcinoma prostatico (PCA) del cane. L'esame immunostochimico è stato condotto su 24 campioni di cui 2 tessuti sani, 17 BPH e 5 PCA. La HSP90 ha mostrato un segnale lieve-moderato, prevalentemente perinucleare, nei tessuti normali, con un progressivo aumento d'intensità e localizzazione diffusa sia citoplasmatica che nucleare nei casi di BPH, PCA e nelle lesioni metastatiche. Attraverso una valutazione semiquantitativa, i casi di prostata sana sono stati classificati come grado 3 ($\geq 10\%$ - $< 50\%$ cellule positive/nr. cellule totali), l'82.3% dei casi di BPH e il 100% dei casi di PCA come grado 4 ($\geq 50\%$ cellule positive). Inoltre, nelle lesioni iperplastiche e neoplastiche sono state identificate aree di PIN (neoplasia prostatica intraepiteliale) e PIA (atrofia infiammatoria proliferativa) che hanno mostrato la stessa intensità e distribuzione di segnale nonché numero di cellule positive delle lesioni PCA. In conclusione, la presenza di elevati livelli di HSP90 nei casi in esame testimonia come questa proteina possa essere implicata negli step progressivi che guidano la cancerogenesi e la progressione neoplastica prostatica. Inoltre, particolare attenzione dovrebbe essere rivolta al riconoscimento delle lesioni preneoplastiche (PIA, PIN) - sottostimate nella specie canina - anche nei tessuti considerati benigni.

Parole chiave: prostata; iperplasia; neoplasia; IHC; cane.

HEAT SHOCK PROTEIN 90 (HSP90) IS ASSOCIATED WITH THE HYPERPLASTIC AND NEOPLASTIC EVOLUTION OF THE CANINE PROSTATE

The dog represents an important animal model for studying the human prostatic diseases, being exposed to the same environmental conditions and being one of the few species in which prostate cancer spontaneously occurs. In this study, we have evaluated the expression of HSP90 – marker of neoplastic transformation, regulating the androgen receptor activity – in canine Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) and Prostatic Carcinoma (PCA). IHC has been performed on 24 samples (2 normal tissues, 17 BPH, 5 PCA). HSP90 expression was mild/moderate, mainly perinuclear, in normal tissues, with a progressive increase of staining intensity and diffuse cytoplasmic and nuclear immunoreactivity in BPH, PCA and metastatic lesions. By means of a semiquantitative analysis, grade 3 ($\geq 10\%$ - $< 50\%$ positive cells/total cells) was assigned to normal tissues, while 82.3% BPH cases and 100% PCA were scored as grade 4 ($\geq 50\%$ positive cells). Moreover, multifocal PIN (Prostatic Intraepithelial Neoplasia) and PIA (Proliferative Inflammatory Atrophy) with similar immunoreactivity to PCA were identified among hyperplastic and neoplastic lesions. In conclusion, the high HSP90 expression in our cases demonstrates that this protein could be involved in the sequential steps leading to prostate cancerogenesis and neoplastic evolution. In addition, veterinary pathologists should pay special attention to recognize specific preneoplastic lesions (PIA, PIN) – underestimated in dog – also in those tissues that look benign.

Key words: prostate; hyperplasia; neoplasia; IHC; dog.

MALFORMAZIONI CONGENITE MULTIPLE IN UNA *Testudo graeca ibera* BICEFALA

Palmieri Chiara¹, Selleri Paolo², Di Girolamo Nicola², Montani Alessandro¹, Della Salda Leonardo¹

¹Dipartimento di Scienze Biomediche Comparete, Facoltà di Medicina Veterinaria, Teramo.

²Clinica per Animali Esotici, Roma

Il presente studio descrive le alterazioni cliniche ed anatomo-patologiche osservate in una *Testudo graeca ibera* bicefala di 20 giorni di età, con sintomi clinici di letargia, anoressia e mancata defecazione. Le due teste presentavano caratteristiche anatomiche simili e reagivano in modo indipendente agli stimoli esterni. Il carapace mostrava un primo scuto vertebrale doppio e un secondo scuto vertebrale sovrannumerario. Gli esami radiografico ed ecografico evidenziavano la presenza, rispettivamente, di due stomaci simmetrici e due cuori asincroni. L'esame post-mortem, a seguito di morte spontanea, ha messo in evidenza la duplicazione di esofago, stomaco, fegato, cistifellea, cuore e trachea. Lo stomaco sinistro, di forma tubulare, risultava aumentato di volume per l'accumulo intraluminale di materiale alimentare dovuto ad atresia della valvola pilorica. L'estremità craniale del colon trasverso mostrava una lieve stenosi focale con dilatazione segmentale. Il fegato sinistro, privo di lobi, risultava ipoplastico. L'esame istologico ha messo in evidenza l'infiltrazione di un basso numero di eterofili negli spazi periportal del fegato, nella sottomucosa dell'esofago e del tratto gastroenterico e nell'interstizio renale. Le cellule epiteliali del colon presentavano una grave apoptosi multifocale associata ad un aumentato numero di macrofagi sottomucosali contenenti corpi apoptotici. Questo rappresenta la prima valutazione clinica e post-mortem dettagliata di un caso di bicefalia in una tartaruga terrestre associata a malformazioni congenite multiple. La bicefalia rappresenta una anomalia rara nelle testuggini terrestri ed i meccanismi patogenetici risultano in gran parte sconosciuti (alterazioni epigenetiche, modificazioni della temperatura e dell'umidità durante l'incubazione, fattori ambientali).

Parole chiave: bicefalia; malformazioni; congenito; tartaruga.

MULTIPLE CONGENITAL MALFORMATIONS IN A BICEPHALIC *Testudo graeca ibera*

This case report describes the clinical and pathological lesions found in a 22-days-old bicephalic *Testudo graeca ibera*, showing lethargy, anorexia, complete absence of defecation. The two heads presented similar anatomical features and independent reaction to the external stimuli. The carapace showed doubled first vertebral scutes and an extra second vertebral scute. Radiography and transplastral ultrasonography revealed two symmetrical stomachs and two asynchronous hearts, respectively. At post-mortem examination, after spontaneous death, esophagus, stomach, liver, gallbladder, heart and trachea were duplicated. The tubular left stomach was distended by the intraluminal accumulation of food caused by pyloric valve atresia. A focal mild stenosis of the cranial end of the transverse colon with segmental dilation was present. Left liver lacked lobes and was hypoplastic. Histologically, low number of heterophils infiltrated the hepatic periportal spaces, the submucosa of esophagi and gastrointestinal tract and the renal interstitium. Colonic epithelial cells were effaced by severe multifocal apoptosis and increased number of submucosal macrophages were engulfed with apoptotic bodies. This report represents the first detailed clinical and post-mortem evaluation of a bicephalic tortoise with multiple congenital abnormalities. Bicephaly rarely occurs in tortoises and its pathogenesis is still unclear (epigenetic mechanisms, abnormal temperature and humidity at hatching, environmental factors).

Key words: bicephaly, malformations; congenital; tortoise.

REGISTRO DATI DIAGNOSTICI CETACEI SPIAGGIATI (RE.DA.CE.): UN NUOVO STRUMENTO PER LA GESTIONE DELLA SORVEGLIANZA SANITARIA DEI CETACEI SPIAGGIATI LUNGO LE COSTE DEL TERRITORIO NAZIONALE

Pautasso Alessandra¹, Tittarelli Cristiana¹, Pintore Maria Domenica¹, Iulini Barbara¹, Longo Antonio¹, Ru Giuseppe¹, Bona Cristina¹, Toffan Anna², Lombardi Guerino³, Fico Rosario⁴, Scholl Francesco⁴, Di Nocera Fabio⁵, Latini Mario⁶, Ferri Nicola⁷, Petrella Antonio⁸, Pintore Antonio⁹, Macrì Daniele¹⁰, Mazzariol Sandro¹¹, Mignone Walter¹, Casalone Cristina¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta. ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna. ⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e Toscana. ⁵Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno. ⁶Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e Marche. ⁷Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e Molise. ⁸Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata. ⁹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna. ¹⁰Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia. ¹¹Università degli Studi di Padova - Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione

La sorveglianza sanitaria dei cetacei spiaggiati rappresenta un problema emergente di sanità pubblica. I mammiferi marini possono essere veicoli di potenziali agenti zoonotici o di patogeni opportunisti, rappresentando un pericolo sia per gli operatori sia per il pubblico che viene a contatto con questi animali. Sono considerati inoltre ottimi indicatori biologici dello stato di salute globale del mare e dell'ambiente circostante. Si rende necessario pertanto approfondire lo studio sulle cause di mortalità di questi animali, alla luce delle recenti acquisizioni scientifiche e del forte impatto sanitario, ambientale e sociale. Gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS), in quanto enti predisposti alla valutazione del rischio sanitario attraverso la sorveglianza, il monitoraggio e la diagnosi delle malattie che minacciano la salute pubblica e degli animali sono stati coinvolti nella ricostituzione della Rete Nazionale Spiaggiamenti voluta dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare in fattiva collaborazione con il Ministero della Salute. Scopo del presente lavoro è presentare il progetto di armonizzazione del piano di intervento diagnostico post mortem sui cetacei spiaggiati lungo le coste italiane che vede coinvolti tutti i 10 IIZZSS italiani. Nell'ambito di questo progetto è stato realizzato un Registro Dati Diagnostici sui Cetacei Spiaggiati (Re.Da.Ce.) on line, ideato e gestito dall'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, che permette di raccogliere i dati e i risultati relativi alle indagini diagnostiche post mortem effettuate sui cetacei spiaggiati sull'intero territorio nazionale. I dati ricavati andranno ad aggiornare le altre banche dati nazionali ed europee esistenti e permetteranno di avere una visione globale dello stato di salute dei cetacei nei mari italiani per la tutela della salute pubblica.

Parole chiave: spiaggiamento; registro dati; sorveglianza sanitaria; indagini post mortem.

DIAGNOSTIC DATABASE ON STRANDED CETACEANS (RE.DA.CE.): A NEW TOOL FOR HEALTH SURVEILLANCE ON STRANDED CETACEANS IN ITALY

Cetacean strandings provide relevant scientific information on their conservation and health status, being an extremely valuable source of biological and scientific data. Aquatic mammals could act as the reservoirs for potentially zoonotic pathogens. They are also considered good biological indicators of the overall marine and environmental status. So, the monitoring of aquatic mammals' pathologies through the study of stranded cetaceans provides a great opportunity to protect animal and human health. Experimental Institutes of Zooprophyllaxis (IIZZSS) represent an important operational tool of the National Health Service to ensure epidemiological surveillance, monitoring and diagnosis of animal diseases. They are involved in the reconstitution of the National Stranding Network funded by the Ministry of the Environment in collaboration with the Ministry of Health.

Aim of this work is to present the project of harmonization of post mortem diagnostic system applied on cetaceans stranded along the Italian sea coast, with the participation of all IIZZSS. An on line database, called Re.Da.Ce., was created and managed by IZS Piemonte, Liguria and Valle d'Aosta, in order to collect diagnostic data obtained by post mortem investigations on stranded cetaceans in Italy. These data will update other national and international databases and will be useful to achieve a global vision of the health status of cetaceans in the Italian seas, in order to protect public health.

Key words: stranding; database; health surveillance; post mortem investigations.

CITOLOGIA LINFONODALE IN BOVINI: RISULTATI PRELIMINARI IN 88 SOGGETTI

Perillo Laura¹, Macrì Battesimo¹, Caccamo Gino¹, Agricola Salvatore², Lombardo Sergio Federico¹, Passante Carmine¹, Mazzullo Giuseppe¹

¹Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Messina. ²Veterinario Libero Professionista, Noto (SR)

La citologia linfonodale è un metodo diagnostico ampiamente utilizzato negli animali da compagnia per la valutazione di linfadenopatie sia locali che generalizzate; di contro, risulta scarsamente adottata, dai dati bibliografici in nostro possesso, per le patologie linfonodali negli animali da reddito, e segnatamente nei bovini. Scopo del presente studio, svolto all'interno di un progetto di ricerca MIPAF, è quello di valutare il pattern citologico linfonodale in bovini sani o affetti da malattia clinica o sub-clinica, soprattutto di tipo emoprotozoario. I linfonodi precurali in 88 bovini da carne di diversa razza, età e sesso sono stati indagati tramite prelievo per agofissione e successivo allestimento di preparati colorati con May-Grünwald Giemsa. I risultati ottenuti hanno rilevato 16 quadri normali, 33 casi di iperplasia reattiva, 2 casi di linfadenite eosinofila, 1 caso di linfadenite macrofagica e 36 non diagnostici. In 21 degli 88 bovini esaminati è stata riscontrata la presenza di elementi morfologicamente ascrivibili a parassiti del genere *Theileria* sp., che risultavano presenti sul fondo e/o all'interno di cellule linfoidi, sia in linfonodi normali che patologici. Tali risultati, seppur preliminari, suggeriscono di espandere lo studio utilizzando ulteriori indagini diagnostiche indirizzate ad una migliore interpretazione delle eventuali patologie presenti in questi animali.

Parole chiave: linfonodi; citologia; bovini; *Theileria* sp.

LYMPH NODES CYTOLOGY IN CATTLE: PRELIMINARY RESULTS IN 88 ANIMALS

Lymph node cytology is a diagnostic method widely used in pets to evaluate both local and generalized lymphadenopathies; by contrast, on our knowledge, it is rarely used for lymph node diseases in livestock, and particularly in cattle. Aim of this study, part of a ministerial research project, is to evaluate the lymph node cytological patterns in healthy or ill cattle suffering from clinical or subclinical disease, especially of hemoparasitic type. Cytological smears, stained with May-Grünwald Giemsa, were obtained by precural lymph nodes of 88 beef cattle of different breed, age and sex.. The results revealed 16 normal, 33 reactive hyperplasia, 2 eosinophilic lymphadenitis, 1 macrophagic lymphadenitis and 36 non-diagnostic. In 21 of the 88 cattle examined the presence of elements morphologically attributable to parasites of the *Theileria* sp. genus was found; they were detectable in the background and/or lymphoid cells, both in normal and pathological lymph nodes. These results, even if preliminary, suggest to expand the study using diagnostic tests directed to a better interpretation of possible disease present in these animals.

Key words: lymph nodes; cytology; cattle; *Theileria* sp.

DETERMINAZIONE CITOFLUORIMETRICA DEL KI67 IN DIVERSI SOTTOTIPI CITOLOGICI DI LINFOMA CANINO

Poggi Alessia, Miniscalco Barbara, Morello Emanuela, Riondato Fulvio

Dipartimento di Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Torino

La determinazione del Ki67 è utilizzata per valutare l'attività proliferativa di popolazioni neoplastiche e il grado di malignità tumorale. In letteratura non ci sono lavori sulla determinazione citofluorimetrica del Ki67 nel linfoma canino (LSA) né dati sulla valutazione dell'attività proliferativa nei sottotipi citologici. Obiettivo: Valutazione citofluorimetrica dell'attività proliferativa in diversi sottotipi citologici di LSA canino. Materiali e metodi: 45 LSA identificati secondo la classificazione di Kiel aggiornata, valutando strisci di linfonodo colorati con MGG. Il Ki67 è stato determinato su aspirati linfonodali utilizzando un anticorpo specifico (clone MIB1). Risultati: i LSA sono stati classificati in 42 alto grado (AG) e 3 basso grado (BG). Gli AG erano: 27 centroblastici (CB); 6 pleomorfi (P); 4 immunoblastici (IB); 3 linfoblastici (LB); 2 plasmocitoidi (PC). I BG erano: 2 a piccole cellule chiare e 1 pleomorfo a piccole cellule. I valori medi di Ki67 sono risultati significativamente più alti ($P < 0.05$) nei P (48%) e nei CB (39%) rispetto ai BG (4%). All'interno dei LSA AG, IB e PC mostravano valori medi di Ki67 più bassi (18% e 21%) rispetto a P, CB e LB (41%), sebbene la differenza non fosse statisticamente significativa. I sottotipi citologici AG presentavano un ampio intervallo di valori di positività al Ki67: CB= 10-85%; P= 24-60%; LB= 27-58%; IB= 15-42%; PC= 13-29%. Discussione: E' stata riscontrata un'attività proliferativa molto variabile all'interno dei singoli sottotipi citologici di LSA AG. Questo è indicativo dell'eterogeneità che caratterizza questo tumore e questa variabilità riflette le diverse entità, ognuna con un proprio comportamento biologico, che fanno tutte parte del LSA canino.

Parole chiave: Ki67; citofluorimetria; classificazione di Kiel; linfoma canino.

FLOW CYTOMETRIC DETERMINATION OF KI67 IN DIFFERENT CYTOLOGICAL SUBTYPES OF CANINE LYMPHOMA

Quantification of Ki67 is useful in evaluating proliferative activity of neoplastic populations and tumor grading. In bibliography there are no works about flow cytometric determination of Ki67 in canine lymphoma (LSA) and there are no data concerning the evaluation of proliferative activity in cytological subtypes. Objective: Characterizing proliferative activity in different cytological subtypes of canine LSA by flow cytometry. Methods: 45 LSAs were classified according to update Kiel classification evaluating lymph node smears stained with MGG. Ki67 was determined on lymph node aspirates using a FITC-antibody (clone MIB1). Results: Cases were classified in 42 high grade (HG) and 3 low grade (LG) LSA. HG were: 27 centroblastic (CB); 6 pleomorphic (P); 4 immunoblastic (IB); 3 lymphoblastic (LB); 2 plasmocytoid (PC). LG were: 2 small clear and 1 pleomorphic small cell. Ki67 median values were significantly higher ($P < 0.05$) in P (48%) and CB (39%) compared to LG (4%). Among HG, IB and PC showed lower median Ki67 values (18% and 21%, respectively) compared to P, CB and LB (41%) although difference did not reach statistical significance. Each HG cytological subtype presented a wide range of Ki67 positivity: CB= 10-85%; P= 24-60%; LB= 27-58%; IB= 15-42%; PC= 13-29%. Discussion: In each cytological subtype of HG LSA a variable proliferative activity has been detected. This is an indicator of the heterogeneity characterizing canine LSA and this variability reflects the different entities with different biological behaviors that are part of canine LSA.

Key words: Ki67; flow cytometry; Kiel classification; dog lymphoma.

PREVALENZA DELL'ULCERA ABOMASALE NEI VITELLI A CARNE BIANCA IN PIEMONTE

Pregel Paola¹, Botta Mario¹, Botta Michelangelo², Fiorito Eligio², Orlando Luca², Cravero Mauro², Casella Pietro³, Bona Michela³, Valle Domenica³, Cumino Paolo⁴, Termini Gianfranco⁴, Cannizzo Francesca Tiziana¹, Appino Simonetta⁵, Biolatti Bartolomeo¹

¹Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Patologia Animale. ²ASL CNI. ³ASL Vercelli. ⁴Regione Piemonte, Assessorato all'Agricoltura, Caccia e Pesca. ⁵Università degli Studi di Sassari, Istituto di Patologia Generale, Anatomia Patologica e Clinica Ostetrica Veterinaria.

Il benessere del vitello a carne bianca è un argomento che suscita un crescente interesse. Situazioni di stress concorrono a determinare lo sviluppo di lesioni, quali, ad esempio, le ulcere abomasali. La patogenesi di tali lesioni è ancora poco chiara, pur essendo riconosciuta come patologia multifattoriale. Il ruolo di *Helicobacter* spp., già descritto come fattore predisponente all'ulcera gastrica nel suino, non è stato ancora stabilito nel bovino. Pertanto, l'obiettivo del presente studio è stato di valutare la prevalenza di ulcere gastriche nel vitello a carne bianca regolarmente macellato in Piemonte ed evidenziare l'eventuale correlazione tra la presenza di ulcera e di *Helicobacter* spp. identificato in campioni di muco abomasale.

Sono stati esaminati gli abomasi di 515 vitelli a carne bianca, di età compresa tra 6 e 8 mesi, provenienti da allevamenti del Piemonte, conferiti ai macelli della provincia di Cuneo e Vercelli. I tessuti sono stati processati per l'esame istologico secondo le procedure di routine. È stata definita erosione una lesione caratterizzata da perdita di tessuto poco profonda, limitata all'epitelio, mentre è stata definita ulcera una perdita di tessuto più importante, che oltrepassava la mucosa estendendosi alla sottomucosa. In base a queste caratteristiche le sezioni istologiche sono state classificate come normali, presentanti erosioni o presentanti ulcere.

In 423 (82%) animali è stata evidenziata la presenza di ulcera, mentre 17 (3%) presentavano erosione. Campioni di tessuto e campioni di muco sono stati prelevati nella regione pilorica dell'abomaso da 75 animali selezionati in modo randomizzato. 63 (84%) presentavano ulcere, 8 (11%) erosioni e 4 (5%) nessuna lesione. Indagini biomolecolari (PCR) eseguite sui campioni di muco per la ricerca di *Helicobacter* spp. hanno fornito un esito positivo in 51 (81%) dei 63 abomasi con ulcera, 6 (75%) degli 8 con erosioni e in tutti i 4 (100%) negativi per lesioni.

I dati riportati nel presente lavoro sembrano escludere una stretta correlazione tra la presenza di lesioni abomasali e di *Helicobacter*, tuttavia l'assenza di dati in letteratura, riferibili alla presenza del microrganismo nel bovino, suggerisce l'importanza di un approfondimento dell'argomento.

Parole chiave: vitello a carne bianca; ulcera gastrica; *Helicobacter*.

INTRODUZIONE

Il D.L. n. 533 del 30/12/1992 e il D.L. n. 331 del 1/9/1998 hanno modificato la legislazione concernente il benessere del vitello a carne bianca (VCB), introducendo radicali cambiamenti in tale settore produttivo. L'incapacità dell'organismo a reagire a condizioni di stress, frequenti nei moderni allevamenti intensivi, concorrono a determinare l'insorgenza di lesioni secondarie peculiari, quali, ad esempio, le ulcere abomasali. La patogenesi di tali lesioni, di eziologia multifattoriale, non è del tutto chiara. L'utilizzo di fibra grossolana, l'ingestione di peli, ritrovati frequentemente in forma libera o aggregati nei tricobezoari, l'alimentazione razionata con grandi quantitativi di alimento distribuiti in pochi pasti [1] e l'abbassamento del pH luminale dell'abomaso [2,3] sono stati considerati fattori predisponenti; inoltre lo stress acuto e cronico sono causa di perturbazioni omeostatiche dell'ambiente abomasale, responsabili della perdita di integrità della mucosa. È stato determinato il ruolo di *Clostridium perfringens* tipo A nell'insorgenza dell'ulcera del VCB, mentre il ruolo di *Helicobacter spp.*, già descritto come fattore predisponente all'ulcera gastrica nel suino [4], non è stato ancora stabilito nel bovino. Lo scopo del presente lavoro pertanto è stato di valutare la prevalenza di ulcere gastriche in VCB regolarmente macellati in Piemonte ed evidenziare l'eventuale correlazione tra presenza di ulcera e di *Helicobacter spp.* nel muco abomasale.

MATERIALI E METODI

Sono stati esaminati gli abomasi di 515 VCB, maschi, di età compresa tra 6 e 8 mesi, provenienti da allevamenti del Piemonte, conferiti ai macelli della provincia di Cuneo e Vercelli. Campioni di tessuto e campioni di muco sono stati prelevati nella regione pilorica dell'abomaso da 75 animali selezionati in modo randomizzato (almeno 5 soggetti per ciascuna partita). I tessuti sono stati processati per l'esame istologico secondo le procedure di *routine*. Sono state considerate erosioni le lesioni caratterizzate da perdita di tessuto poco profonda, limitata all'epitelio, ulcere le perdite di tessuto più importanti, che si estendevano alla sottomucosa. Le sezioni istologiche sono state classificate come normali, presentanti erosioni o presentanti ulcere.

Il DNA è stato estratto a partire dal muco conservato a -20°C, mediante kit commerciale (NucleoSpin® Tissue; MACHEREY-NAGEL). Gli estratti sono stati amplificati mediante PCR con i *primer*: GAA CCT CTA GGC TTG ACA

TTG (Senso) e GGT GAG TAC AAG ACC CGG GAA (Antisenso), specifici per una porzione del 16S rRNA di *Helicobacter spp.*. Protocollo termico: Denaturazione 94°C (1 min); *Annealing* 48°C (30 sec); *Extension* 72°C (1 min) per 35 cicli [4]. L'amplificato (circa 420 bp) è stato visualizzato mediante elettroforesi su gel di agarosio al 2%. Alcuni amplificati sono stati sottoposti a sequenziamento Sanger (Bmr Genomics, Padova) e confronto delle sequenze ottenute con le banche dati presenti sul web.

I risultati sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante software InStat (GraphPad Software, CA, USA), eseguendo il Test del Chi quadro.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nella Figura 1 è rappresentata la prevalenza di ulcere abomasali riscontrate alla visita *post-mortem* nei 515 VCB, suddivisa per le diverse partite. La prevalenza di ulcere variava tra il 44% e il 100%, con una media dell'80,2%. considerando anche le erosioni, la media aumentava fino all'85% (*range*: 69-100%). I 75 abomasi esaminati istologicamente presentavano ulcere in 63 casi (84%), erosioni in 8 (11%) e non presentavano alcuna lesione solo in 4 casi (5%). L'esame istologico ha permesso di valutare la gravità e l'estensione delle lesioni erosive e delle ulcere. Il *pattern* di lesione più frequente è stato quello ascrivibile all'ulcera cronica, caratterizzata da essudato linfoplasmacellulare con rari neutrofili nella lamina propria.

La PCR eseguita sul muco gastrico per la ricerca di *Helicobacter spp.* ha dato esito positivo in 61 campioni (81,3%) e negativo in 14 (18,7%) (Figura 2). Tutti i soggetti classificati negativi per lesioni erano positivi all'esame in PCR (Tabella 1).

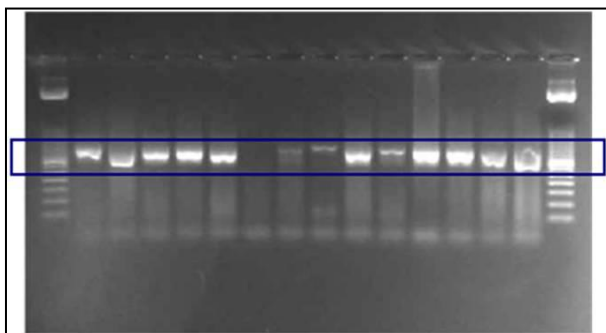
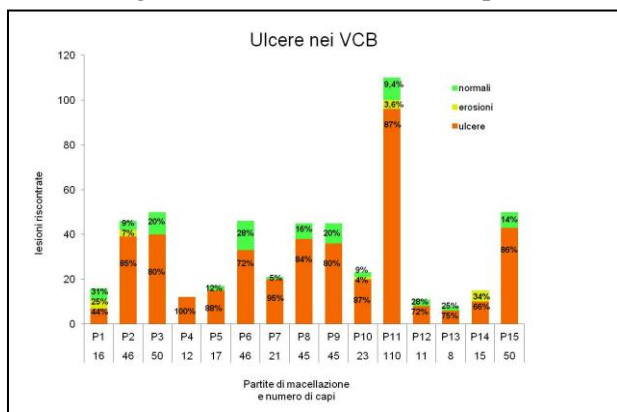
L'analisi statistica dei risultati non ha messo in evidenza una correlazione statisticamente significativa tra la presenza di ulcere abomasali e di *Helicobacter spp.* nel muco abomasale. Il sequenziamento nucleotidico di alcuni amplificati ha evidenziato un *range* di omologia compreso tra il 93 e il 97% con il 16S rRNA di diversi batteri isolati dal rumine (molti non coltivabili e non identificati) ed un'omologia massima dell'84% con il 16S rRNA di diverse specie di *Helicobacter*. Tale dato è di difficile interpretazione, a causa della scarsità di dati in letteratura sulla presenza e sulla caratterizzazione di *Helicobacter* nel bovino [5] e non è da escludere che alcuni dei batteri ruminali non identificati con cui è stata riscontrata omologia di sequenza possano in realtà appartenere al genere *Helicobacter*. La ricerca dovrà essere

implementata utilizzando altri protocolli di PCR (e altri *primer*) per confermare la positività dei campioni a tale microrganismo, in parallelo all'analisi della positività ad altri batteri ruminali, eventualmente cross-reattivi.

CONCLUSIONE

Nel moderno allevamento l'ulcera è una delle più frequenti cause di morte improvvisa nei VCB [6], fonte di ingenti danni economici per gli allevatori. Il presente studio conferma quanto riportato in letteratura in merito alle ulcere abomasali nel VCB. Essendo una patologia a carattere multifattoriale sono molti gli aspetti da tenere in considerazione; *in primis* l'aspetto alimentare, che condiziona l'omeostasi dell'abomaso. Non di secondaria importanza l'aspetto sanitario, in quanto la presenza di diversi microrganismi a livello abomasale potrebbe essere concausa di lesioni a carattere ulcerativo della mucosa. Per tale ragione è necessario un approfondimento su un campione più ampio di animali, in campo e al macello, per valutare la reale incidenza di *Helicobacter spp.* nell'allevamento del VCB ed il suo ruolo come co-fattore nel determinismo di patologie dell'abomaso.

I dati riportati nel presente lavoro sembrano escludere una stretta correlazione tra presenza di lesioni abomasali e di *Helicobacter*, tuttavia l'assenza di dati in letteratura, riferibili alla presenza del microrganismo nel bovino, e i risultati del sequenziamento nucleotidico suggeriscono l'importanza di un approfondimento della biologia dell'*Helicobacter* in tale specie.



BIBLIOGRAFIA

- [1] Ahmed A.F., Constable P.D. and Misk N.A. 2002. J. Dairy Sci. 85(6): 1502-1508.
- [2] Veissier I., Boissy A., dePassille A., Rushen M., J., van Reenen C.G., Roussel S., Andanson S. and Pradel P. 2001. Journal of Animal Science. 79(10): 2580-2593.
- [3] Fiems L.O., De Campeneere S., Cottyn B.G., Vanacker J.M., D'Heer B.G.J., Boucque C.H.V. 1999. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 82: 217-226.
- [4] Appino S., Guarda F., Pregel P., Amedeo S., Cutufia M.A., Bellonio G., Ponzetto A. 2006. Acta Veterinaria Hungarica. 54(4): 517-524;
- [5] De Groote D., van Doorn L.J., Ducatelle R., Verschuuren A., Tilmant K., Quint W.G.V., Haesebrouck F., Vandamme P. 1999. Int J Syst Bacteriol 49:1707-1715.
- [6] Brscic M., Heutinck L.F.M., Wolthuis-Fillerup M., Stockhofe N., Engel B., Visser E.K., Gottardo F., Bokkers E.A.M., Lensink B.J., Cozzi G., and Van Reenen C.G. 2011. J. Dairy Sci. 94(2): 853-863.

Ringraziamenti

Progetto finanziato dalla Regione Piemonte, Direzione Sviluppo dell'Agricoltura dal titolo: "Correlazioni tra qualità della carne, benessere e sanità animale negli allevamenti piemontesi". Gli autori ringraziano il Centro di referenza Bruno Maria Zaini, Torino, la Dott. Erika Anesa, la Dott. Valeria Raviolo (ASL CN1).

Figura 1: prevalenza delle ulcere abomasali nelle differenti partite di VCB.

Figura 2: elettroforesi su gel di Agarosio - 16S rRNA di *Helicobacter spp.*; nel riquadro sono evidenziate le bande a 420 bp corrispondenti al prodotto di PCR.

	Punteggio lesione	<i>Helicobacter</i> +	<i>Helicobacter</i> -
normali	0 e 1	4	0
erosioni	2	6	2
ulcere	3	51	12
Totale		61	14

Tabella 1: correlazione tra gravità della lesione ed esito PCR.

PREVALENCE OF ABOMASAL ULCERS IN VEAL CALVES FROM PIEMONTE REGION

The aim of this work was to evaluate the prevalence and pathology of gastric ulcers and its relationship with *Helicobacter* spp. isolates from the abomasum of veal calves (VCB). 515 animals were examined, 423 (82%) showed ulcers and 17 (3%) erosions. Tissue samples were taken from the pyloric area of the abomasum of 75 VCB randomly selected. 63 (84%) animals had ulcers, 8 (11%) showed erosions, 4 (5%) were negative. From the same subjects gastric mucus was also collected and tested by means of PCR to detect *Helicobacter* spp. The agent was identified in 51(81%) out of 63 abomasa with ulcers, 6 (75%) out of 8 with erosions and in the 4 (100%) without lesions. A statistical correlation between abomasal ulcers and *Helicobacter* spp. was not detectable.

Keywords: veal calves; gastric ulcer; *Helicobacter*.

UTILIZZO DELLA BIOPSIA ENDOMETRIALE COME METODO DI VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA RIPRODUTTIVA NELLE ASINE RAGUSANE

Puleio Roberto¹, Loria Guido Ruggero¹, Tamburello Anna¹, Console Antonio², Caracausi Carmen³, Mancuso Rosario³

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia. ²Istituto Zootecnico Sperimentale della Sicilia.
³Veterinario Libero Professionista

Negli ultimi anni la specie asinina ha suscitato un rinnovato interesse non soltanto per il suo impiego zootecnico tradizionale e turistico (nell'ambito delle azioni di valorizzazione delle biodiversità), ma anche quale fonte di alimenti alternativi e "anallergici". Il metodo istologico consente in maniera esaustiva di fornire un prognostico sulle potenzialità riproduttive di una fattrice e sulla possibilità di portare a termine un puledro vivo e vitale (Kenney 1978). L'indagine è stata condotta su 12 asine Ragusane (*Equus asinus*) pluripare, di età compresa tra i 4 e 8 anni appartenenti ad una unica azienda (Istituto Zootecnico Sperimentale per la Sicilia). In totale sono state prelevate 36 biopsie endometriali secondo la tecnica descritta da Kenney (1978). Ciascuna asina è stata sottoposta a tre prelievi distribuiti durante il periodo estrale; la prima è stata effettuata il secondo giorno dell'estro, la seconda il giorno dell'ovulazione e la terza 7 giorni dopo l'ovulazione. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di fornire la base conoscitiva delle modificazioni fisiologiche e morfo-funzionali dell'endometrio in rapporto ai differenti momenti del ciclo estrale delle asine. Inoltre è stata esaminata la distribuzione del collagene IV, della laminina e della fibronectina attraverso metodiche immunoistochimiche, stabilendo le condizioni fisiologiche nella razza ragusana, che potranno successivamente essere utilizzate per una corretta valutazione delle condizioni di fibrosi che caratterizzano in particolare modo le patologie degenerative dell'endometrio. Il collagene IV era presente nella membrana basale dell'epitelio luminale; sia la laminina, un altro componente della membrana basale, che il collagene IV erano presenti nelle membrane basali delle ghiandole uterine e nei vasi. Non sono state apprezzate differenze nella distribuzione del collagene IV e della laminina nelle diverse fasi del ciclo estrale. La fibronectina evidenziava una debole intensità di colorazione ed era distribuita in modo uniforme nello stroma uterino, ma le membrane basali e le cellule endoteliali mostravano una maggiore intensità di colorazione. L'esame istologico (Doig, 1981; Waelchli, 1991), ha confermato la sua validità nel mostrare l'effettivo stato di salute dell'endometrio. L'esame biptico può avere anche, un significato prognostico, poiché la valutazione e la conseguente classificazione delle lesioni istologiche endometriali possono essere correlate con le potenzialità riproduttive della fattrice (Kenney 1978). Una gestione sanitaria razionale degli allevamenti di asine, attraverso l'uso di indagini specialistiche, tra cui la biopsia endometriale può condurre a un miglioramento degli aspetti riproduttivi.

Parole chiave: biopsia endometriale; immunoistochimica; asino.

USE OF ENDOMETRIAL BIOPSY AS A METHOD OF ASSESSMENT OF REPRODUCTIVE EFFICIENCY IN RAGUSAN FEMALE DONKEYS

Endometrial biopsy sampling allows an exhaustive prognosis on the reproductive potential of jennies and the possibility of completing a foal alive. The survey was conducted on 12 female Ragusane multiparous donkeys, aged between 4 and 8 years. A total of 36 endometrial biopsies were taken according to the technique described by Kenney (1978). Each donkey was subjected to three biptic samples, covering the whole oestrus period. The first was carried out on the second day of oestrus, then at the ovulation day and finally the third, 7 days after ovulation. Each biopsy collected enough endometrial tissue suitable for extensive histologic and immunohistochemistry analysis. Endometrial biopsy is a safe and reliable technique for assessing uterine function, when carried out appropriately.

Key words: endometrial biopsy; immunohistochemistry; donkey.

UN CASO DI CARCINOMA POLMONARE IN UNA BOVINA

Puleio Roberto, Loria Guido Ruggero, Tamburello Anna, Messina Francesca, Tumino Giovanni

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia

Le patologie neoplastiche del sistema respiratorio del bovino sono poco frequenti (sino ad oggi da 2 a 20 casi per milione) e vengono evidenziate occasionalmente durante la macellazione. La diagnosi differenziale risulta di notevole importanza sanitaria in quanto le lesioni anatomico-patologiche possono essere confuse sia con altre neoplasie (metastasi da adenocarcinoma uterino) o peggio con patologie soggette a notifica (micobatteriosi). Alla visita post-mortem, presso il macello di Ragusa, in una vacca frisona di 10 anni di età, sono stati evidenziati numerosi noduli neoplastici nel parenchima polmonare. L'esame anatomico-patologico metteva in evidenza lesioni lobulari multiple (0,5 a 1,5 cm di diametro) di consistenza aumentata e di colore bianco-giallastro in sezione. Lesioni simili sono state osservate nei linfonodi bronchiali e mediastinici, con proliferazioni neoplastiche epiteliali che tendevano a infiltrare l'intero linfonodo. L'esame istologico metteva in evidenza una proliferazione neoplastica costituita da cellule epiteliali che mostravano raramente, una organizzazione acinare. La neoformazione mostrava una marcata anisocariosi con un indice mitotico elevato (5 HPF) e numerose metastasi intrapolmonari linfatiche. Lo stroma peritumorale era costituito da abbondante tessuto connettivo fibroso. Inoltre, in alcune aree del preparato istologico erano presenti foci di necrosi e di mineralizzazione. Lesioni istologiche del tutto sovrapponibili erano evidenziate nei linfonodi bronchiali e mediastinici. Sebbene queste neoplasie abbiano generalmente un aspetto solido, possono evidenziare delle aree centrali di necrosi e di mineralizzazione che impone una diagnosi differenziale con una lesione granulomatosa. Nell'uomo, inoltre sono riportati casi di infezione da *Mycobacterium* spp. associate a neoplasie polmonari. Nel nostro caso la colorazione di Ziehl-Neelsen è risultata sempre negativa. Le indagini immunoistochimiche effettuate mostravano positività per Citocheratine, mentre la Vimentina è risultata negativa. Negli altri organi non erano evidenti alterazioni macroscopiche e microscopiche; con l'eccezione del fegato che mostrava una congestione generalizzata. I reperti istologici e immunoistochimici erano compatibili con un caso di adenocarcinoma polmonare, con metastasi regionali, anche se l'istogenesi non è stata completamente chiarita, la presenza di talune neoformazioni acinari può far supporre l'origine bronchiale della neoplasia. La principale ragione della bassa incidenza negli animali da allevamento è rappresentata dal mancato raggiungimento dell'età matura e dalla minore esposizione a sostanze chimiche cancerogene, quindi il rinvenimento di nuovi casi di patologie oncologiche in bovini da allevamento merita approfondimenti di laboratorio e una corretta diagnosi, per escludere neoplasie polmonari metastatiche (adenocarcinoma uterino) o patologie granulomatose, quali le micobatteriosi.

Parole chiave: adenocarcinoma; immunoistochimica; bovino.

LUNG CARCINOMA IN A COW: HISTOLOGY AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY

Primary lung tumors are rarely reported in cattle, present information are few and current data from abattoires identify a range from 2 to 20 cases per million of slaughtered adult cattle. Carcinoma was observed in the lung of a ten year old Holstein cow. Gross morphology showed the lung moderately increased in volume, firm and composed of solid tissue, sometimes necrotic. The parenchyma of the affected lung was white in colour, containing multiple 0.5 to 1.5cm in diameter, yellow, dry, firm nodules. Similar changes were observed in bronchial and mediastinal lymph nodes. Diffuse involvement caused coalescence of multiple neoplastic areas. Histologically the masses were composed of proliferating atypical cuboidal epithelial cells. Anisokaryosis was marked, and mitotic index was high (5 mitosis HPF). Abundant fibrous connective tissue surrounded the neoplastic cell aggregates. Although this type of tumor are generally solid, some nodules had central areas of necrosis, resembling macroscopically granulomas. In this case, histological sections were subjected to Ziehl-Neelsen staining, which was negative. The immunohistochemical (IHC) analysis revealed a clear positivity of neoplastic cells to cytokeratins but did not reacted with antibodies against vimentin. Based on histology and immunohistochemistry, the tumor was diagnosed as lung carcinoma.

Key words: adenocarcinoma; immunohistochemistry; bovine.

FIBROMA AMELOBLASTICO IN UN CAMOSCIO (*Rupicapra rupicapra*)

Scaglione Frine Eleonora¹, Iussich Selina¹, Grande Davide², Carpignano Mariagrazia¹,
Chiappino Laura¹, Sereno Alessandra¹, Ferroglio Ezio², Bollo Enrico¹

¹Dipartimento di Patologia Animale, Università degli Studi di Torino, Facoltà di Medicina Veterinaria, Via L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco, Italy. ²Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Università degli Studi di Torino, Facoltà di Medicina Veterinaria, Via L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco, Italy

Un esemplare maschio di Camoscio (*Rupicapra rupicapra*) di tre anni, trovato morto in Provincia di Torino (Piemonte) è stato inviato per l'autopsia presso il Dipartimento di Patologia Animale dell'Università degli Studi di Torino. All'esame esterno, a livello del labbro inferiore era possibile osservare una massa di 10x8 cm, rosso-rosa, liscia, compatta e con la superficie ulcerata. La massa coinvolgeva la porzione rostrale della mandibola fino al diastema. I denti incisivi erano visibili lateralmente e all'interno della massa. Alla superficie di taglio la neoformazione appariva biancastra e di forma trapezoidale. Porzioni di tessuto provenienti dalla massa sono stati fissati in formalina tamponata 10% (pH 7) per gli esami istologici e immunohistochimici.

Istologicamente è possibile osservare una neoplasia moderatamente cellulare. Il tumore è composto da cellule fusate disposte in fasci di fibre in abbondante matrice ialina. Le cellule neoplastiche presentano bordi indistinti, una moderata quantità di citoplasma eosinofilo e nuclei fusati con cromatina finemente addensata. L'indice mitotico è di 0-1/400x. Sono inoltre presenti multifocali clusters di epitelio odontogenico multifocalmente pigmentato e positivo all'esame immunohistochimico per le pancitocheratine. La mucosa è caratterizzata da gravi e multifocali erosioni e da un esteso infiltrato infiammatorio (neutrofili, linfociti e plasmacellule). In base ai risultati degli esami istologici e immunohistochimici è stato possibile formulare la diagnosi di fibroma ameloblastico per la prima volta in un camoscio.

Ringraziamenti. Gli autori ringraziano il Centro di Referenza di Patologia Comparata "Bruno Maria Zaini", Italia.

Parole chiave: fbroma ameloblastico; camoscio; *Rupicapra rupicapra*.

AMELOBLASTIC FIBROMA IN A CHAMOIS (*Rupicapra rupicapra*)

A 3-year-old male Chamois (*Rupicapra rupicapra*) was found dead in Turin Province in north-west Italy, Piedmont, and was referred for the necropsy to the Department of Animal Pathology of the University of Turin (Italy). At the external examination a 10x8 cm, exophytic, red-pink, smooth, firm and ulcerated mass was observed on the inferior lip. The mass involved the rostral part of the jaw to the diastema. The incisor teeth were visible laterally and within the mass. At the cut surface the neoformation was whitish with a narrow base, suggesting a neoplasm. The mass was fixed in 10% neutral buffered formalin (pH 7) for histological and immunohistochemical examinations.

Histologically a moderately cellular neoplasm that extend the cut borders is detected. The tumor is characterized by spindle shaped cells arranged in sheets and bundles in abundant hyaline matrix. Neoplastic cells have indistinct cells borders, a small amount of eosinophilic cytoplasm, and spindle shaped nuclei with finely stippled chromatin. Mitotic figures average 0-1/400x fields. Multifocal chords of odontogenic pigmented epithelium that penetrate the neoplasia are visible. The mucosa showed multifocal and severe erosions, and a severe inflammatory infiltrate (neutrophils, lymphocytes and plasmacells), Immunohistochemistry showed Cytokeratin positivity of epithelial clusters. Histological and immunohistochemical findings were consistent with the diagnosis of ameloblastic fibroma. To our best knowledge, this is the first report of this tumor in a chamois.

Acknowledgements The authors gratefully acknowledge the "Centro di Referenza di Patologia Comparata "Bruno Maria Zaini", Italy.

Keywords: ameloblastic fibroma; chamois; *Rupicapra rupicapra*

CONTRIBUTO ANATOMO-ISTOPATOLOGICO E IMMUNOISTOCHEMICO SU UN RARO CASO DI EMANGIOSARCOMA EPITELIOIDE DEL CANE

Sfacteria Alessandra, Lanteri Giovanni, Romeo Irene, Perillo Laura, Mazzullo Giuseppe

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Polo Universitario dell'Annunziata, 98168 Messina

L'emangiosarcoma (HSA) è un tumore maligno che origina dalle cellule dei vasi sanguigni, a progressione rapida ed elevata capacità metastatizzante. La variante epitelioide dell'emangiosarcoma è raramente descritta tanto in medicina umana quanto in medicina veterinaria e può rappresentare una sfida diagnostica all'esame istopatologico e citologico per la peculiare morfologia delle cellule che la costituiscono in maniera preponderante o del tutto. Oggetto dello studio è un cane meticcio, femmina, dell'età di nove anni, che presentava una massa a livello del terzo craniale del collo. La lesione veniva sottoposta ad esame citologico, ma, per la grave sintomatologia respiratoria dovuta alla compressione esercitata sulla trachea, il soggetto veniva sottoposto a eutanasia e la massa asportata per l'esame istologico. Le sezioni colorate con Ematossilina-Eosina evidenziavano una neoplasia non capsulata, infiltrativa e densamente cellulare. L'istoarchitettura era caratterizzata da strati, cordoni o nidi di cellule epitelioide di forma variabile da ovale a poligonale con moderata quantità di citoplasma debolmente eosinofilo, vacuolizzato e scarsamente delimitato; i nuclei apparivano irregolarmente ovali e vescicolosi. Occasionalmente erano visibili fenomeni di eritrofagocitosi, proiezioni digitiformi all'interno dei canali vascolari o una crescita angiocentrica. Lo stroma si presentava di aspetto desmoplastico o fibromixoide con focali infiltrati di linfociti. La successiva indagine immunohistochimica per anticorpi anti-citocheratina, Vimentina, PECAM-1 e c-Kit confermava l'origine vascolare e permetteva di porre la diagnosi di emangiosarcoma epitelioide.

Parole chiave: emangiosarcoma epitelioide; cane; immunohistochimica.

A RARE CASE OF EPITHELIOID HEMANGIOSARCOMA IN DOG: HISTOPATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION

Haemangiosarcoma (HSA) is a malignant tumor, arising from endothelial cells, characterized by rapid progression and high metastatic rate. In contrast to the conventional, spindled appearance, a unique, and rarely reported, morphologic subtype of angiosarcoma, in which the malignant endothelial cells have a predominantly (or exclusively) epithelioid appearance, has been defined as epithelioid angiosarcoma. A nine year old, female, mixed breed dog presenting a mass in the third cranial portion of neck underwent cytological evaluation and, due to the severe dyspnea, was euthanized. Histological examination, carried out on the excised mass, showed an infiltrative neoplasm composed by strands, cords and nests of densely packed cells with an epithelioid appearance with faint stained and vacuolated cytoplasm and vesicular nuclei. Erythrophagocytosis, papillary ingrowths and angiocentric growth were occasionally seen. The stroma was desmoplastic or fibromyxoid with focal lymphocytic aggregates. Immunohistochemistry for cytokeratin, vimentin, PECAM-1 and c-Kit confirmed the vascular origin and a diagnosis of epithelioid haemangiosarcoma was made.

Keywords: epithelioid haemangiosarcoma; dog; immunohistochemistry.