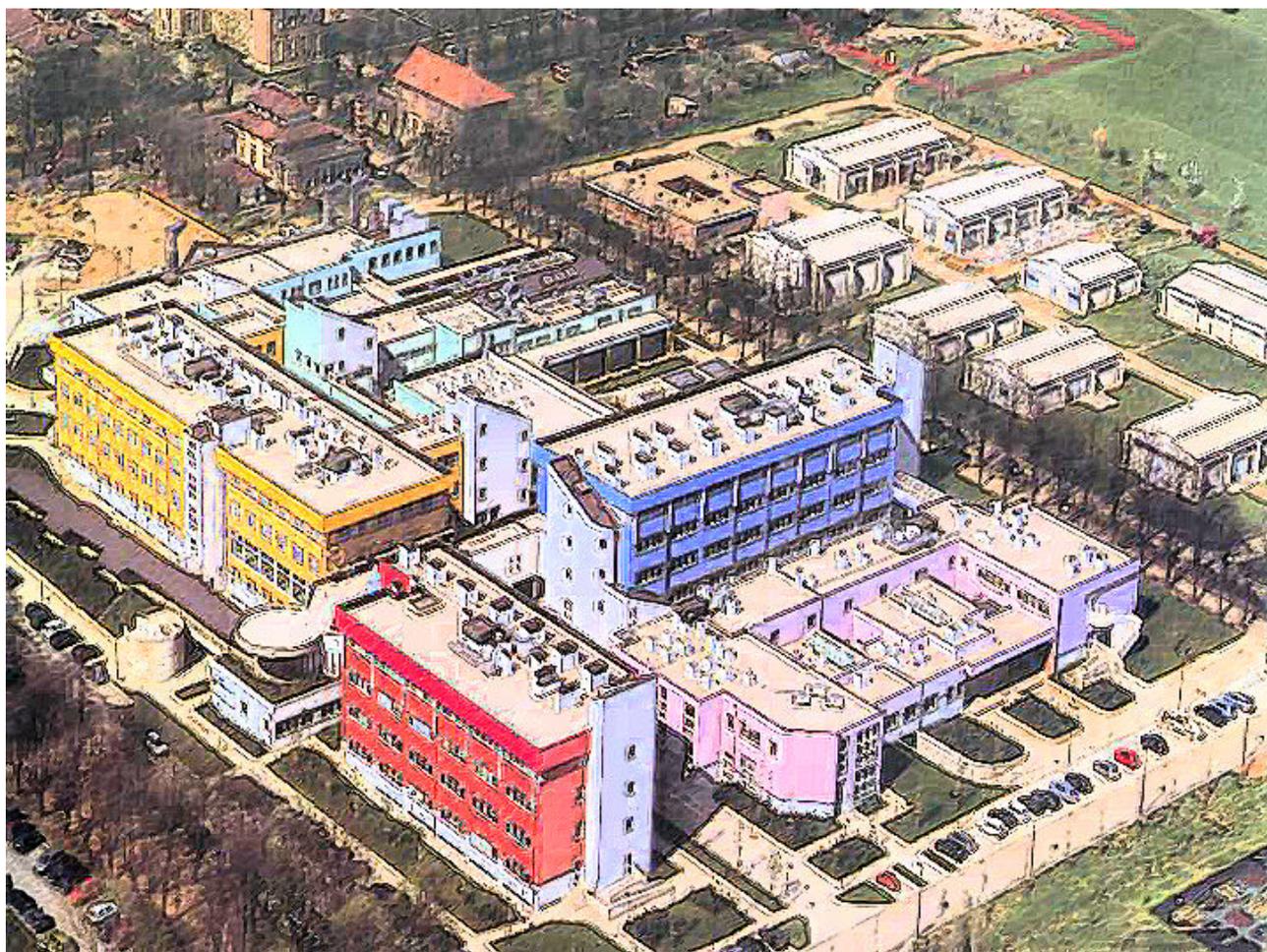


# **A.P.I.V.**

## **Associazione Italiana Patologi Veterinari**

---



---

### **ATTI**

## **XXI CONVEGNO NAZIONALE**

**Grugliasco (TO) 6-7 Giugno 2003**

***Cari Soci APIV,***

per il secondo anno mi è stato conferito l'incarico di curare la pubblicazione degli ATTI del Congresso annuale della nostra società.

Sono grato della fattiva collaborazione mostrata dagli autori nell'inviarmi il materiale secondo i tempi concordati.

Abbiamo già intrapreso dallo scorso anno il cammino di una pubblicazione informatica, disponibile on line sul sito dell'APIV per tutti i soci e, in formato tangibile come copia su CD, per tutti gli iscritti al congresso.

Solo nel CD sarà anche disponibile il Database delle pubblicazioni dell'APIV che raccoglie un elenco (con titolo, autori, anno, parole chiave, testo) delle pubblicazioni presentate ai Convegni APIV. Per quest'anno è disponibile solo limitatamente agli anni 2002 e 2003. Spero per il prossimo anno di poterlo estendere agli ultimi 10 anni.

Novità degli ATTI di quest'anno è la presenza di un testo più ampio, per la maggior parte delle comunicazioni, di quello riportato lo scorso anno e di una documentazione fotografica. Ricordo comunque che, l'impiego di quest'ultima per finalità diverse da quella della consultazione del volume degli ATTI, deve essere concordata con gli autori che le hanno fornite, poiché non è stato chiesto un trasferimento di copyright.

Sarei grato a tutti voi di ricevere suggerimenti su come potenziare e migliorare, per il futuro, la pubblicazione degli Atti.

Cordiali saluti a tutti,

***Giuseppe Sarli***

***Foto di Copertina: Grugliasco, Facoltà di Medicina Veterinaria,  
Università degli studi di Torino***

**BREVE RICORDO DI ENNIO SANNA**

---

Accade in genere che sia l'allievo a ricordare le doti e le qualità del suo maestro, più o meno repentinamente scomparso. Oggi invece ho l'onere di ricordare il prof. Ennio Sanna, principale ricercatore di anatomia patologica presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Sassari prematuramente scomparso.

Dire che la dipartita del prof. Sanna sia stata una terribile perdita per la Facoltà non corrisponde che al vero. Laureatosi a Sassari nel 1987, iniziava nell'anno successivo il Dottorato di Ricerca in Malattie parassitarie presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Sassari, sotto la guida del compianto prof. Efisio Arru.

Nel 1990 conseguiva brillantemente il titolo di Dottore di Ricerca ed entrava quale ricercatore nell'Università degli Studi di Sassari, presso l'istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica della locale facoltà di Medicina Veterinaria.

Nel 1999 conseguiva con pieno merito il titolo di prof. Associato nel settore di patologia generale e anatomia patologica veterinaria.

La sua attività di docenza, da subito intensa, era gradita agli studenti che del prof. Sanna apprezzavano la profonda preparazione, la chiarezza espositiva e le sue indiscutibili doti umane e morali.

Nell'ambito della ricerca il prof. Sanna ha percorso un iter formativo di primo livello, iniziando lo studio della patologia animale presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Sassari e quindi svolgendo proficui soggiorni di studio e approfondimento presso importanti strutture di ricerca europee. Proprio questo gli consentiva in breve di avviare una fitta trama di collaborazioni con alcuni dei più importanti patologi italiani ed europei. Ne sono indiscutibile testimonianza le sue esperienze e collaborazioni con il Department of Veterinary Pathology di Edimburgo, il Moredun research Institute di Edimburgo, il Dipartimento de Patologia animal di Saragozza, il Department of Medical Microbiology and Parasitology di Athens (Georgia) e i Dipartimenti di Patologia Animale delle Università di Pisa e di Torino.

A partire dal 1998 le sue linee di ricerca si indirizzano all'applicazione delle biotecnologie nel campo dell'anatomia patologica, e in particolare allo studio dei citotipi coinvolti in alcune importanti infezioni virali degli animali domestici

mediante tecniche di PCR in situ per l'evidenziazione e amplificazione di sequenze retrovirali (adenomatosi polmonare, tumore nasale enzootico dei piccoli ruminanti, MVM). I risultati sono da subito confortanti e consentono al prof. Sanna di divulgare importanti contributi patogenetici in seno a qualificati congressi scientifici europei e presso primarie riviste scientifiche internazionali.

La competenza acquisita nel frattempo gli permette di confermare feconde collaborazioni di ricerca in ambito nazionale e internazionale, di cui, purtroppo vedrà solo in parte i risultati.

Nel complesso il prof. Sanna matura oltre 100 contributi scientifici a stampa, fra i quali sono decisamente importanti quelli degli ultimi 5 anni.

La sorte ha voluto che il prof. Ennio Sanna ci lasciasse nel momento in cui stava raccogliendo i frutti della sua incessante attività di ricerca. Nel Convegno in corso di svolgimento aveva presentato 3 note che dimostrano, se ce ne fosse ancora bisogno, la sua grande disponibilità a collaborare con altre scuole e l'ottima capacità interpretativa e organizzativa.

Coloro che lo hanno conosciuto un po' più da vicino credo possano ricordare oggi la sua generosità, disponibilità e sincera amicizia.

Per noi dell'Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria di Sassari, nello sconcerto ancora concreto in cui viviamo per l'accaduto, rimane il ricordo di una persona che ha sempre dimostrato attaccamento al lavoro, volontà di collaborazione, grande capacità e autonomia di ricerca e apprezzate doti didattiche.

Per tutti questi motivi, in occasione del Congresso a cui Ennio teneva molto e a cui solitamente destinava qualificati risultati delle sue ricerche, a nome mio personale e dei colleghi tutti dell'istituto, ringrazio le tante persone che nei giorni scorsi hanno voluto manifestarci la loro vicinanza in questo difficile momento, dividendo con noi il dolore per la scomparsa di un così importante amico e collaboratore.

***Prof. Antonio Leoni***

**CARCINOMA MAMMARIO A CELLULE RICCHE IN LIPIDI  
NEL CANE: CARATTERISTICHE  
ANATOMOPATOLOGICHE DI DUE CASI**

*Giudice Chiara\**, *Sironi Giuseppe\**, *Roccabianca Paola\**,  
*Crippa Luca<sup>^</sup>*

\*Dipartimento di Patologia. Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviare; <sup>^</sup>Novuspharma, Dept. Biology, Monza.

---

***Summary***

***Pathological features of mammary lipid-rich carcinoma in two dogs.***

Lipid rich cell carcinoma (LRC) is, in women, a rare malignant tumor, that frequently metastasizes and that bears a poor prognosis. In the bitch, LRC is an extremely rare tumor that has been described in the new WHO classification (1999) and has been considered as a subtype of canine mammary inflammatory carcinoma in one recent report. We report the histologic, histochemical, immunohistochemical and ultramicroscopic features of two cases of LRC in two bitches, 2.5 and 6 years old. The rarity of the tumor is confirmed by our caseload with only 2 cases diagnosed out of 300 mammary tumors per year.

***Parole chiave (key words)***

Cellule lipidiche (lipid-rich cell), carcinoma (carcinoma), mammella (mammary); cane (dog).

***Introduzione***

Il carcinoma mammario "a cellule ricche in lipidi" (lipid-rich carcinoma) è un tumore estremamente raro sia nella donna sia nelle specie animali, in cui è segnalato solo nel cane. Benché riportato nella più recente classificazione WHO dei tumori mammari del cane e del gatto (1999), non esistono lavori, nella letteratura veterinaria, su questa peculiare neoplasia, se si eccettua la segnalazione di tre casi di variante a cellule lipidiche di carcinoma infiammatorio in una recente rassegna retrospettiva (Pena *et al.* 2003).

La presente indagine ha avuto per oggetto due casi di carcinoma mammario "lipid-rich" in due cani, femmine sterilizzate, un incrocio di 2 anni e 6 mesi ed un pastore tedesco di 6 anni. L'anamnesi clinica riportava, nella prima, ripetuti episodi di pseudociesi e, nella seconda, l'insorgenza di piometra con conseguente isterectomia.

***Materiali e metodi***

Il tessuto mammario, pervenuto alla sezione fissato in formalina 10%, è stato routinariamente processato per l'istologia ed incluso in paraffina, sezioni microtomiche di circa 4 micron sono state colorate con Ematossilina-Eosina. Sezioni seriate sono state inoltre indagate immunoistochimicamente con tecnica ABC e sviluppate in carbazolo (AEC, Vector). Gli anticorpi utilizzati, la loro diluizione e gli eventuali metodi di smascheramento sono elencati in tabella 1. Da uno dei due casi porzioni di tessuto, già fissate in formalina, sono state congelate in azoto liquido per ottenere sezioni criostatiche da utilizzare per colorazioni istochimiche (Alcian Blu; PAS e Sudan Black). Altri campioni sono stati sottoposti ad ulteriore fissazione, per circa 12 ore, in glutaraldeide (2,5%), postfissate in osmio tetrossido e quindi processate per la microscopia elettronica.

Tabella 1: anticorpi primari utilizzati.

<b>AG</b>	<b>CLONE</b>	<b>SMASCHERAMENTO</b>	<b>DILUIZIONE</b>	<b>PRODUTTORE</b>
Pan CK	AE1/AE3	Pepsina	1:2000	Zymed
CK 14	LL002	MW, tampone citrato	1:2000	Neomarket
CK 16	LL025	MW, tampone citrato	1: 250	Novocastra
CK 19	b170	MW, tampone citrato	1:200	Novocastra
CK 8/18	UCD/PR-10.11	Pepsina	1:200	Zymed
alpha SMAActin	1A4	Nessuno	1:2000	Dako
Myosin (smooth)	hSM-V	Pepsina + MW, tampone citrato	1:2000	Sigma
Vimentin	3B4	Pepsina	1:1000	Dako

***Risultati***

In entrambi i casi le neoplasie coinvolgevano la quinta mammella e, macroscopicamente, erano costituite da masse ben definite, di circa 5 cm di diametro, di consistenza elastica ed aspetto grigio-biancastro variegato al taglio con aree focali di emorragia e necrosi. I linfonodi inguinali erano aumentati di volume ed il disegno corticale non era più riconoscibile. All'esame istologico le neoplasie avevano morfologia molto simile, risultando costituite da lobuli di cellule epiteliali a crescita solida, separati da spessi setti di connettivo denso, occasionalmente infiltrati da linfociti e plasmacellule. Le cellule neoplastiche erano poligonali, con confini cellulari ben definiti ed ampio citoplasma eosinofilo finemente vacuolizzato o contenente un'unica, ampia formazione otticamente vuota che spingeva il nucleo alla periferia della cellula. I nuclei erano da tondi ad ovali, con evidente anisocariosi e nucleoli prominenti. Le mitosi erano 1-2/HPF. In entrambi i casi i linfonodi inguinali erano estesamente coinvolti dalla neoplasia. Il contenuto vacuolare, indagato su sezioni criostatiche, era negativo per Alcian blu e PAS e positivo per Sudan B, risultando pertanto composto da lipidi neutri. Immunoistochimicamente le cellule neoplastiche risultavano diffusamente ed intensamente positive per CK AE1/AE3, CK 19 e CK 8/18, debolmente positive per CK 16 e negative per  $\alpha$ SMA, Miosina e Vimentina. Piccoli gruppi o singole cellule nel contesto della neoplasia risultavano positive per CK 14. All'indagine ultramicroscopica i vacuoli lipidici citoplasmatici all'interno delle cellule neoplastiche non apparivano circondati da alcuna membrana e pertanto non erano riconducibili a fagolisosomi.

L'aspetto morfologico e le caratteristiche istochimiche ed immunoistochimiche delle cellule neoplastiche consentivano di formulare una diagnosi di carcinoma mammario a cellule lipidiche. L'assenza di membrana lisosomiale delimitante i vacuoli lipidici citoplasmatici, induceva ad escludere che essi rappresentassero un prodotto di autofagocitosi delle cellule neoplastiche, lasciando aperta la possibilità di un loro significato secretorio.

***Discussione.***

Inizialmente descritto come un'alterazione degenerativa aspecifica e definito xanthoma mammario (Haagensen, 1932) il carcinoma a cellule lipidiche è stato in seguito identificato come una forma neoplastica distinta (Aboumrad, 1963). Nella donna è considerato un tumore estremamente raro (tra 1 e 1,6% delle neoplasie mammarie in diversi studi retrospettivi), a carattere maligno, con frequente interessamento dei linfonodi regionali e prognosi infausta (Ramos e Tylor, 1974; Wrba *et al.*, 1988). Nella donna ne sono descritte tre varianti istologiche (istiocitoide, sebaceo e apocrino con estrusione dei nuclei), in tutti i casi le cellule neoplastiche sono caratterizzate da citoplasma finemente

vacuolizzato e solo raramente si rinvenivano grosse gocce intracitoplasmatiche (van Bogaert e Maldague, 1977), al contrario di quanto osservato nei nostri casi e riportato dalla iconografia della letteratura veterinaria (Misdorp *et al.*, 1999). La rarità della neoplasia trova corrispondenza nei nostri dati: i due casi descritti sono parte di una routine diagnostica di circa 300 tumori mammari/anno e una verifica retrospettiva degli ultimi 5 anni nei nostri archivi non ha consentito di reperire casi analoghi.

La natura dei vacuoli lipidici intracitoplasmatici in questo raro tumore mammario è ancora oggetto di controversia in medicina umana: basandosi sul rinvenimento ultramicroscopico di una membrana citoplasmatica delimitante il materiale lipidico, alcuni autori hanno interpretato i vacuoli come fagolisosomi e i lipidi in essi contenuti come materiale derivante da processi degenerativi cellulari ed autofagocitosi (Wrba *et al.*, 1988). Al contrario altri studi di microscopia elettronica non hanno evidenziato la presenza di membrana lisosomiale ed hanno pertanto avanzato l'ipotesi che i lipidi intracitoplasmatici rappresentino l'accumulo di un prodotto di secrezione, anche in considerazione della capacità delle cellule mammarie di sintesi di lipidi (Ramos e Taylor, 1974). Nell'unico campione che ci è stato possibile esaminare ultramicroscopicamente i vacuoli lipidici intracitoplasmatici non apparivano circondati da alcuna membrana inducendo ad escludere, almeno limitatamente al caso osservato, un'origine autofagocitica.

Infine nei casi da noi osservati, come segnalato nella donna, i linfonodi regionali risultavano ampiamente coinvolti, anche se nessun segno di metastatizzazione è clinicamente rilevabile a circa 7-8 mesi dall'asportazione.

### **Bibliografia**

- Aboumrad MH, Horn RC Jr, Fine G. Lipid Secreting mammary carcinoma. *Report of a case associated with paget's disease of the nipple.* Cancer, 1963; **16**: 521-525.
- Haagensen CD Xanthoma of the breast. *American Journal of Cancer* 1932; **16**: 1077-1103.
- Misdorp W, Else RW, Hellmèn E, Lipscomb TP: Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. *World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals, 2<sup>nd</sup> series, vol. 7, page 21.* AFIP, Washington, D.C.
- Ramos CV., Taylor HB. Lipid rich carcinoma of the breast. *Cancer* 1974; **33**: 812-819.
- Pena L, Perez-Alenza MD, Rodriguez-Bertos A, Nieto A. Canine inflammatory mammary carcinoma: histopathology, immunohistochemistry and clinical implications of 21 cases. *Breast Cancer Res Treat.* 2003; **78** (2): 141-8.
- Van Bogaert LJ ad Maldague P. Histologic variants of lipid secreting carcinoma of the breast. *Virchows Archive A Path. Anat. And Histol.* 1977; **375**: 345-353.
- Wrba F., Ellinger A. Reiner G., Spona J., Holzner JH. Ultrastructural and immunohistochemical characteristics of lipid-rich carcinoma of the breast. *Virchows Archive A Path. Anat. And Histol.* 1988; **413**: 381-385.

**ESPRESSIONE DELLA CADHERINA “E” E DELLA BETA  
CATENINA IN TUMORI MAMMARI MALIGNI DI CANE  
E METASTASI LINFONODALI**

*Brunetti Barbara, Sarli Giuseppe, Preziosi Rosario, Leprotti  
Silvia, Monari Ilaria, Benazzi Cinzia*

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale,  
Università degli Studi di Bologna

---

***Summary***

***E-cadherin and beta-catenin expression in canine malignant mammary  
tumours and regional lymph node metastases***

The evaluation of E-cadherin and beta-catenin expression was carried out on 40 canine malignant mammary tumours and 19 collector lymph nodes of the same dogs. Immunohistochemically it was graded as membranous, cytoplasmic and nuclear expression or negative. On the basis of the number of positive cells, the tumours were classified into group 1 (less than 25% positive cells), 2 (25-75%), and 3 (over 75%). The expression of both proteins compared between the primary tumours and metastatic lymph nodes was classified as reduced, parallel and re-expression. The correlation between E-cadherin and beta-catenin in the primary tumours was significant, but not in the metastases. Group 3 cytoplasmic expression of E-cadherin showed the highest metastatic risk.

***Parole chiave (key words)***

Caderina E (E-cadherin), beta-catenina (beta-catenin), cane (dog), tumori mammari (mammary tumours) metastasi linfonodali (lymph node metastases).

***Introduzione***

La caderina E (cad-E) è una molecola di adesione cellulare che media l'interazione omotipica fra le cellule epiteliali, ed è associata a proteine citoscheletriche quali le catenine (alfa, beta e gamma). In condizioni normali la cad-E e la beta catenina (beta-cat) sono espresse sulla superficie baso-laterale

---

delle cellule epiteliali (espressione membranosa), mentre in condizioni anomale la loro espressione può essere diffusa a tutto il citoplasma (citoplasmatica) o assente (negatività) o, in particolare per la beta-cat, può riscontrarsi a livello del nucleo (nucleare). Una anomala espressione della cad-E è stata dimostrata nella maggior parte dei tumori solidi umani e correlata con una prognosi sfavorevole in quanto, perdendo la cad-E, le cellule neoplastiche più facilmente si distaccano dal tumore primario e danno metastasi. Anche nel cane (Restucci e coll., 1997; Brunetti e coll., 2002) è segnalata una variazione dell'espressione della cad-E che da membranosa diventa citoplasmatica passando dai tumori benigni ai tumori maligni. Anche la beta-cat è importante nell'adesione cellulare in quanto una sua alterata espressione impedisce il corretto funzionamento della cad-E; è inoltre implicata nella trasduzione di segnali dalla periferia della cellula al nucleo, influenzando sulla replicazione cellulare e quindi sulla genesi tumorale. Obiettivo del lavoro è stato quello di confrontare l'espressione della cad-E e della beta-cat in 40 tumori mammari maligni stadati secondo Gilbertson (1983) (10 tumori di stadio I, 11 di stadio II senza metastasi e 19 di stadio II con metastasi ai linfonodi regionali) e 19 metastasi linfonodali, con lo scopo di studiare: 1) se varia l'espressione della cad-E e della beta-cat fra tumore primario e metastasi linfonodale; 2) il livello di correlazione tra l'espressione delle due proteine rispettivamente nel tumore primario e nella metastasi linfonodale; 3) se ci sono correlazioni tra il pattern di espressione delle due proteine e il rischio di metastasi.

### ***Materiali e metodi***

Per l'evidenziazione delle due proteine sono state utilizzate tecniche di immunocistochemica utilizzando anticorpi monoclonali forniti dalla Transduction Laboratories (Lexington, KY) anti-cad-E (clone 36) e anti-beta-cat (clone 14) utilizzando una diluizione di 1:100 per entrambi, ed impiegando un kit di rilevazione della Dako (LSAB kit peroxidase). Nei campioni si è valutato oltre al pattern di espressione (membranosa, citoplasmatica, nucleare, negativa) anche la percentuale delle cellule epiteliali neoplastiche positive alle due proteine, considerando tre gruppi: gruppo 1 se l'espressione era inferiore al 25% delle cellule epiteliali neoplastiche, gruppo 2 dal 25 al 75% e gruppo 3 maggiore al 75% delle cellule epiteliali neoplastiche.

### ***Risultati***

I risultati delle valutazioni sono riportati in tabella 1. Confrontando l'espressione delle due proteine tra tumore primario e metastasi si riconoscono 3 modelli di espressione: RIESPRESSIONE se l'espressione della proteina aumenta come qualità (es. da citoplasmatica a membranosa) o come quantità nel linfonodo

rispetto al tumore primario; RIDUZIONE se l'espressione della proteina nel linfonodo era minore rispetto al tumore primario e ANALOGIA se l'espressione della proteina rimaneva invariata fra linfonodo e tumore primario. Nei tumori primari l'espressione della cad-E e della beta-cat è risultata significativamente correlata ( $P < 0,05$ ;  $R = 0,36$ ) mentre tale risultato non si è ottenuto nelle metastasi linfonodali ( $P > 0,05$ ;  $R = 0,20$ ). Il pattern esprime la cad-E come citoplasmatica di gruppo 3 è quello che ha rilevato il rischio relativo maggiore di sviluppare metastasi. Nessun ruolo è stato invece riscontrato per uno specifico pattern di espressione della beta-cat.

### ***Discussione e conclusione***

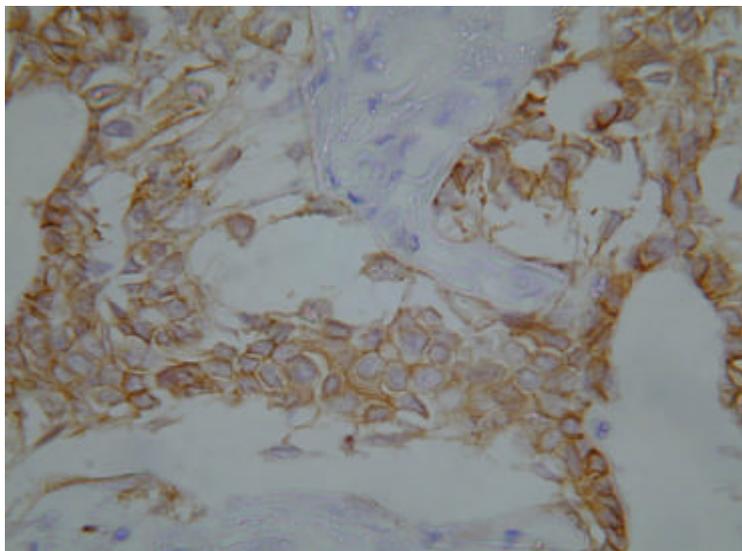
Il confronto dell'espressione delle due proteine tra tumore primario e metastasi non si è rilevato sempre sovrapponibile. Le variazioni sono probabilmente da attribuire alla fase tumorale in cui le cellule si trovano e al fatto che variazioni dell'espressione di tali proteine hanno alla base oltre a meccanismi genetici anche meccanismi epigenetici. Se sono nella fase di distacco dal tumore l'espressione delle due proteine probabilmente sarà anomala o minore; se sono nella fase di adesione probabilmente ci sarà una riespressione della proteina. Si è inoltre rilevata una correlazione significativa, tra l'espressione della cad-E e della beta-cat nei tumori primari, mentre la loro espressione non è invece risultata correlata nelle metastasi linfonodali. Ciò potrebbe spiegarsi col fatto che nelle metastasi l'adesione omotipica è meno dipendente dall'espressione della cad-E e dalla beta-cat. La cad-E, rispetto alla beta-cat, offre maggiori indicazioni sul rischio di sviluppare metastasi linfonodali: infatti un pattern citoplasmatico di gruppo 3 ha rivelato un rischio significativamente più elevato di sviluppare metastasi al linfonodo. Ciò, verosimilmente, riflette la possibilità che un meccanismo epigenetico possa essere alla base dell'espressione citoplasmatica nella maggior parte delle cellule (gruppo 3), e che una modulazione con espressione membranosa sufficiente a garantire l'adesione omotipica in sede di metastasi sia più probabile rispetto a cellule di gruppo 1 o 2, in cui è solo una minoranza di cellule che ancora esprime la cad-E.

### ***Bibliografia***

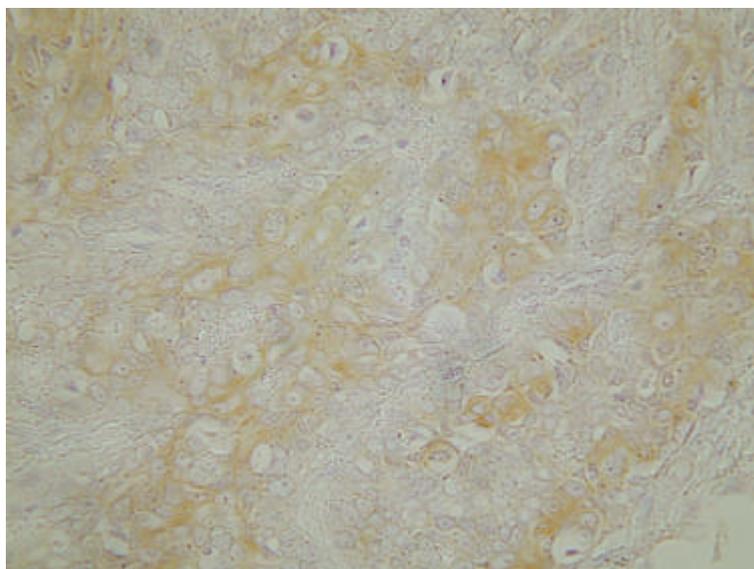
- Brunetti B., Preziosi R., Sarli G., Benazzi C. (2002) Espressione della "caderina E" nei tumori mammari. ODV, 3, 37-44.
- Restucci B., Papparella S., De Vico G., Maiolino P. (1997) E-cadherin expression in normal and neoplastic canine mammary gland. J. Comp. Pathol. 116, 191-202.
- Gilbertson S.R., Kurzman D., Zachrau R.E., Hurvitz A.I., Black M.M. (1983) Canine mammary epithelial neoplasms: biological implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs. Vet. Pathol. 20, 127-142.

N°	STADIO	CADERINA E		MODELLO	BETA CATENINA		MODELLO
		TUM MAM	MET LIN		TUM MAM	MET LIN	
1	II	C1	M3	RIESP	N	N	ANALOGIA
2	II	C1	C3	RIESP	C2	N	RIDOT
3	II	C2	M3	RIESP	C1	N	RIDOT
4	II	M1	C1	RIDOT	C2	C2	ANALOGIA
5	II	C3	C2	RIDOT	C2	C1	RIDOT
6	II	C3	C2	RIDOT	C3	C3	ANALOGIA
7	II	M1	N	RIDOT	C3	C3	ANALOGIA
8	II	C3	C2	RIDOT	C3	C3	ANALOGIA
9	II	M2	M1	RIDOT	C1	N	RIDOT
10	II	M3	C1	RIDOT	M3	N	RIDOT
11	II	M2	M1	RIDOT	M2	M3	RIESP
12	II	C1	M3	RIESP	C3	M3	RIESP
13	II	C3	C3	ANALOGIA	C3	C1	RIDOT
14	II	C3	C3	ANALOGIA	A3	C1	RIDOT
15	II	M3	M3	ANALOGIA	A3	C2	RIDOT
16	II	C3	C3	ANALOGIA	A2	C3	RIDOT
17	II	M3	M3	ANALOGIA	C2	C1	RIDOT
18	II	M3	C1	RIDOT	C2	C3	RIESP
19	II	C3	C3	ANALOGIA	C2	C1	RIDOT
1	II	C1			C2		
2	II	C2			C2		
3	II	C1			N		
4	II	M3			M3		
5	II	C1			M1		
6	II	M3			M2		
7	II	C3			N		
8	II	C1			C1		
9	II	C1			C3		
10	II	C2			C3		
11	II	C1			N		
1	I	C2			C2		
2	I	M3			C3		
3	I	C2			M3		
4	I	M3			M3		
5	I	C2			C1		
6	I	C3			M2		
7	I	M1			C2		NUCLEARE
8	I	M2			C2		
9	I	M3			M3		
10	I	C1			C2		

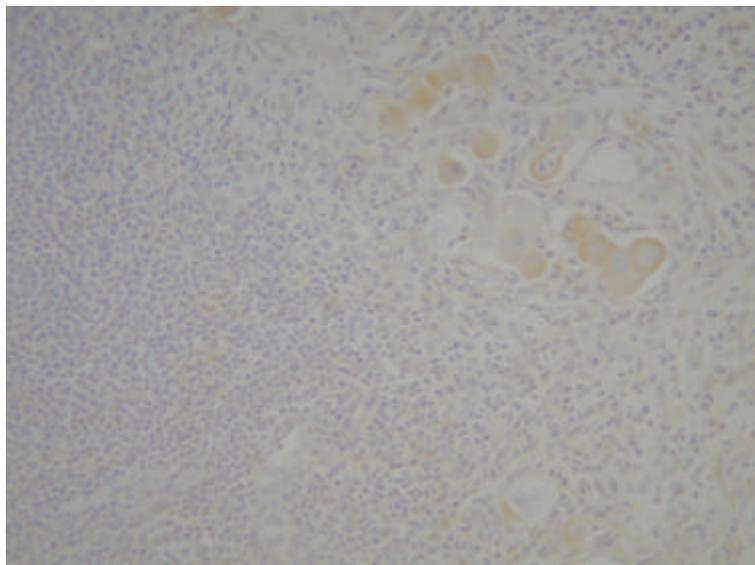
Tabella 1. Espressione della caderina E e della beta catenina in 19 tumori mammari maligni e rispettive metastasi linfonodali e 21 tumori maligni senza metastasi linfonodali. Positività: C=citoplasmatica, M=membranosa, N=negativa, Gruppo 1=positività < al 25%, 2=dal 25 al 75%, 3= > al 75%.



**Figura 1.** Cane, mammella, carcinoma scirroso. Espressione membranosa della caderina E. 63X.



**Figura 2.** Cane, mammella, carcinoma solido. Espressione citoplasmatica delle cellule neoplastiche alla beta catenina. 40X.



**Figura 3.** Cane, linfonodo, metastasi di carcinoma solido. Espressione citoplasmatica della caderina E delle cellule metastatizzate. 20X.

**ESPRESSIONE IMMUNOISTOCHEMICA DI VASCULAR  
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) ED ANALISI  
DELLA MICROVESSEL DENSITY (MVD) NELLE  
NEOPLASIE MAMMARIE DEL CANE: CORRELAZIONE  
CON PARAMETRI ISTOPATOLOGICI E PROGNOSTICI**

*Millanta Francesca., Silvestri Giada, Citi Simonetta\*, Taccini  
Valentina, Poli Alessandro*

Dipartimento di Patologia Animale e \*Dipartimento di Clinica Veterinaria, Facoltà di  
Medicina Veterinaria, Università di Pisa

---

***Summary***

***Immunohistochemical expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and microvessel density (MVD) analysis in canine mammary tumours: correlation with clinicopathological parameters and prognosis.***

Vascular Endothelial Growth factor (VEGF) is an important mitogen for endothelial cells and is associated with increased angiogenesis and aggressive behaviour of the tumour in human breast oncology

The aim of the study is to analyze the immunohistochemical expression of VEGF in 35 mammary carcinomas of bitches clinically followed for two years and to quantify the angiogenetic process by the determination of the microvessel density (MVD) at the vascular "Hot spots". The endothelial cells have been highlighted using the monoclonal antibody anti-CD-31. The results have been correlated to histopathological (dimensions of the tumours, histotype, tumour grading, mitotic index, presence or absence of lymphatic spread) and prognostic (Overall survival; OS) parameters.

VEGF was not significantly correlated with any of the parameters examined and, in particular, it was not found a correlation between VEGF expression, MVD and OS. On the other hand, highest MVD values were significantly correlated with worse prognosis (P=0.02).

These preliminar results, when compared to what previously described in feline mammary carcinomas, show several differences and suggest a possibile prognostic role of MVD in canine mammary tumour with important therapeutic implications.

***Parole chiave (key words)***

Cane (dog), microvessel density, overall survival, tumori mammari (mammary tumours), VEGF.

***Riassunto***

Il Vascular Endothelial Growth factor (VEGF) è un importante mitogeno per le cellule endoteliali ed in oncologia umana risulta associato ad aumento dell'angiogenesi ed ad un comportamento biologico del tumore più aggressivo.

Lo scopo della ricerca è analizzare l'espressione immunohistochemica di VEGF in 35 carcinomi mammari di cagne sottoposte ad un follow-up di due anni e di quantificare il fenomeno angiogenetico mediante la determinazione della microvessel density (MVD) nelle "Hot spot" del tumore. Per l'immunolocalizzazione delle cellule endoteliali è stato utilizzato un anticorpo monoclonale anti-CD31. I risultati sono stati correlati con parametri istopatologici (dimensioni del tumore, istotipo, grading istologico, indice mitotico, presenza di invasione dei linfatici) e prognostici (overall survival; OS).

VEGF non è risultato statisticamente correlato con i parametri esaminati, in particolare, non è stata rilevata nessuna correlazione tra espressione di VEGF, MVD ed OS, mentre valori più elevati di MVD sono risultati statisticamente correlati con prognosi peggiore ( $P=0,02$ ).

Questi risultati preliminari mostrano evidenti differenze rispetto a risultati precedentemente ottenuti nello studio dell'espressione di VEGF ed MVD nelle neoplasie mammarie della gatta e suggeriscono un possibile ruolo prognostico di MVD nella cagna con conseguenti implicazioni terapeutiche.

**ESPRESSIONE IMMUNOISTOCHEMICA DI VASCULAR  
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) E DEL SUO  
RECETTORE FLK-1 (KDR) NELLE NEOPLASIE  
MAMMARIE DELLA GATTA: STUDIO PRELIMINARE  
SUL POSSIBILE MECCANISMO DI AZIONE DI TIPO  
AUTOCRINO O PARACRINO**

*Millanta Francesca, Silvestri Giada, Calandrella Michela,  
Poli Alessandro*

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

---

***Summary***

***The role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and its receptor flk-1 (KDR) in the regulation of angiogenesis in feline mammary tumours: an inventory in search of autocrine and paracrine loops***

Previous studies indicated a possible role of VEGF as a predictor of overall survival in feline species, but that this cytokine was not correlated with increased angiogenesis assessed by microvessel density. For this purpose we investigated and correlated the expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and its receptor flk-1 (KDR) in feline invasive mammary carcinomas and evaluated their expression pattern with special emphasis on the recognition of possible autocrine and paracrine loops.

The expression of VEGF and flk-1 was assessed by immunohistochemistry in 48 samples of feline invasive mammary tumours surgically removed.

Both VEGF and flk-1 were expressed in epithelial, stromal and endothelial cells, with a cytoplasmic, predominantly granular, staining. VEGF expression was observed in the epithelial cells in 100% of the cases examined, in the endothelial cells in 70.8% of the cases and in the stromal cells in 58.3% of the cases. The flk-1 expression was observed at epithelial level in 100% of the cases, endothelial in 37.5% and stromal in 18.7% of the cases. For tumour epithelium, an autocrine loop was present in 100% and a paracrine loop in 75% of the cases. In the endothelium a possible autocrine loop was observed in 29.2% and a paracrine one in 37.5% of the cases. A stromal autocrine and paracrine loop was recorded only in 10.5% and 18.7% of the cases.

These preliminary data suggest an indication for a possible autocrine stimulation of the tumour epithelial cells by VEGF/flk-1 complexes. The variability of the pattern of expression of this cytokine and its ligand and especially the lower rates of autocrine and paracrine loops involving the endothelial compartment may in part justify the lack of correlation of VEGF with increased MVD. The VEGF.flk-1 system may play a role in tumour cell autostimulation and in the process of malignant transformation in the feline species, rather than an induction of angiogenesis.

***Parole chiave (key words)***

Azione autocrina (autocrine loop), azione paracrina (paracrine loop), flk-1 (KDR), Gatto (cat), VEGF.

***Riassunto***

Studi preliminari sull'espressione di Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) nelle neoplasie mammarie della gatta hanno dimostrato una correlazione positiva tra aumento dell'espressione immunohistochimica della citochina e ridotti tempi di sopravvivenza. L'espressione di VEGF però, al contrario di quanto riportato in letteratura umana, non è risultata correlata con l'aumento dell'attività angiogenetica.

Lo scopo del nostro studio è stato di esaminare preliminarmente in 48 carcinomi mammari infiltranti di gatte l'espressione di VEGF e del suo recettore flk-1 (KDR) con particolare riguardo all'identificazione di un meccanismo di azione autocrino e/o paracrino.

Sia VEGF che flk-1 sono risultati espressi in cellule epiteliali, stromali ed endoteliali. VEGF è risultato presente a livello epiteliale nel 100% dei casi, endoteliale nel 70,8% e stromale nel 58,3%. Per quanto riguarda flk-1, è stata evidenziata l'espressione a livello epiteliale nel 100% dei casi, endoteliale nel 37,5% e stromale 18,7%. E' stato registrato il 100% di casi di azione autocrina sulle cellule epiteliali, 29,2% sulle endoteliali e 10,4 sulle stromali. Per quanto riguarda il meccanismo di tipo paracrino, è stato riscontrato un 75% sulle cellule epiteliali, 37,5% sulle endoteliali e 18,7% sulle stromali.

Questi dati preliminari evidenziano un meccanismo di azione a ciclo essenzialmente autocrino di VEGF a livello delle cellule epiteliali, confermando così la mancanza di correlazione tra espressione di VEGF ed aumento dell'angiogenesi e suggeriscono, in analogia con recenti studi di oncologia umana, un possibile intervento farmacologico mediante terapie specifiche.

## **FORMAZIONI CISTICHE POLMONARI IN MAMMIFERI: CONTRIBUTO CASISTICO**

*Riccaboni Pietro*

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria – Sezione di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviare – Università degli Studi di Milano.

---

### **Summary**

#### ***Pulmonary cysts: 4 cases***

This report describes 4 cases of congenital pulmonary cysts in 3 dogs and a roebuck. In a dog the rupture of the cyst induced fatal pneumothorax; the other 3 cases were occasional findings. The observed cysts were morphologically classified as malformative bronchiogenic cyst in a case, as bullous emphysema in two cases and as epidermoid cyst in the last case (roebuck).

#### ***Parole chiave (key words)***

Cisti polmonari (pulmonary cysts), cane (dog), capriolo (roebuck).

### **Riassunto**

Negli animali domestici il reperto di formazioni cistiche polmonari è da molto tempo oggetto di segnalazioni sporadiche. Le cisti polmonari vengono solitamente classificate in base alla loro dimensione, numero, localizzazione e contenuto oltre che alla loro origine congenita o acquisita.

La presente segnalazione ha lo scopo di fornire un contributo casistico riguardante 4 diverse cisti polmonari, 3 delle quali rinvenute in soggetti di specie canina ed una in un capriolo. Uno dei cani era morto per pneumotorace spontaneo dovuto alla rottura della cisti; gli altri 3 casi costituivano, invece, reperti occasionali di necropsia.

La descrizione anatomica delle cisti polmonari è stata integrata da esami istologici, istochimici ed immunoistochimici. Questi esami hanno permesso di riconoscere: in un caso, osservato in un cane pastore tedesco, femmina di 4 mesi, morta per pneumotorace, una cisti broncogena malformativa; si trattava, infatti, di una cisti situata a carico di un solo lobo apicale e nella parete della quale era individuabile uno strato muscolare alquanto discontinuo, ma non si

osservava nessun'impalcatura cartilaginea. La cartilagine bronchiale, del resto, appariva disposta in modo poco regolare anche in bronchi del parenchima adiacente. In due casi, osservati in due cani, rispettivamente un pastore tedesco femmina di 10 mesi ed un barboncino maschio di 4 mesi, si trattava di un vero e proprio enfisema bolloso: la cavità cistica, tappezzata da epitelio appiattito, era formata da alveoli estremamente dilatati e confluenti e residui di setti. Il caso del capriolo veniva classificato come una cisti cheratinica od epidermoide in quanto costituita da un bronco ectasico contenente un materiale biancastro e gommoso che istologicamente risultava costituito da un ammasso di sottili lamelle cheratiniche (eosinofile e CK+) a disposizione concentrica (perla cornea).

Mentre le cisti da enfisema bolloso o broncogene sono di prevalente interesse chirurgico poiché comportano il rischio di pneumotorace spontaneo, quella cheratinica, almeno dal punto di vista macroscopico, va tenuta presente nella diagnosi differenziale con forme granulomatose o piogranulomatose.

**TRE CASI DI POLMONITE ATIPICA IN FETI EQUINI:  
IPOTESI EZIOPATOGENETICHE**

*Rossi Giacomo\**, *Tedeschi Daniele\*\**, *Tarantino Chiara°*,  
*Daniels Peter°°*, *Renzoni Giacomo\**

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Camerino. \*\* Labor S.r.l.° Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti, Pisa.°CSIRO Australian Animal Health Laboratori, Australia.

---

**Summary**

***Three cases of “atypical” pneumonia in equine foetuses; aethiopathogenetic ipothesis.***

Syncytial pneumonia is described in several animal species as bovine, swine, canine and in human also. In horses histological pictures of syncytial pneumonia are very uncommon, and related to infection with a restrict number of pathogens. In particular sporadic cases of pneumonia histologically characterized by the presence of large plurinucleated giant cells, belonging to the *fusion of macrophages or endothelial cells are described during Rhodococcus equi* or equine morbillivirus infections. These bacterial or viral infection are described in adult animal and, until now, no description of their possible involvement in foetal lung pathology are reported. In addition, in equine literature, pictures of syncytial pneumonia with syncytia belonging to the fusion of pneumocytes or bronchiolar cells are unreported. In this study we examined three equine foetuses, seven to nine months old, aborted in a period of two weeks that showing a severe interstitial pneumonia histologically characterized by presence of numerous syncytia belonging to the fusion of pneumocytes and/or bronchiolar cells. In order to establish the aethiology of this particular pneumonia, we have performed bacteriological, virological and serological tests for research of common agents described as involved in equine abortion and/or in foetal respiratory diseases. The only positive result was obtained immunohistochemically by using monoclonal antibodies specific for canine distemper virus and for equine Hendra virus (CSIRO, Geelong, Australia). These antibodies gave positive results by positively staining foetal pulmonary and placental syncytia. Ultrastructural studies demonstrated the presence of some characteristic intracytoplasmic aggregates constituted by virus-like particles both in syncytial as intracytoplasmic inclusion bodies observed in some placental and broncoalveolar cells. The peculiarity of histological findings may

help to made a differential diagnosis respect to equine-herpes virus infection (absence of typical intranuclear inclusion bodies and presence of syncytia), rhodococcal infection (presence of syncytia only of macrofagic origin, containing numerous bacterial colonies in their cytoplasm), equine morbillivirus and arterivirus infection (presence of syncytia of endothelial and macrophage origin). Actually several genomic investigations are ongoing with different foetal and placental samples in collaboration with the CDC (Centre for Disease Control, USA) for determination of the true nature of this presumably new equine paramyxovirus.

***Parole chiave (key words)***

Cavallo (equine), feto (foetus), polmonite sinciziale (syncytial pneumonia), diagnosi differenziale (differential diagnosis), immunoistochimica (immunohistochemistry).

***Riassunto***

Nel mese di gennaio 2003 sono pervenuti da una stazione di monta a confine tra l'Umbria e la Toscana, tre feti equini abortiti tra settimo e nono mese di gravidanza da fattrici di provenienza inglese; in un caso la giumenta è deceduta dopo una violenta crisi respiratoria tre giorni dopo l'espulsione del feto. I feti sono stati inviati per l'esame autoptico che non è stato possibile effettuare sulla fattrice: in tutti e tre i casi l'esame macroscopico ha rivelato la presenza di una notevole congestione del parenchima polmonare, consolidato per lo stato fetale, nonché la presenza di microemorragie soprattutto a carico di fegato, rene e delle sierose. Mentre l'esame batteriologico ha dato esito costantemente negativo, l'esame istopatologico ha rivelato la presenza di microemorragie associate a microangiopatia, pur non evidenziando quadri di particolare alterazione a carico del parenchima dei vari organi. Lesioni comuni ai tre feti, più evidenti nel feto della fattrice deceduta, erano rappresentate da grave polmonite interstiziale, caratterizzata da notevole ispessimento dei setti interalveolari e da presenza di numerosi sincizi polinucleati derivanti verosimilmente dalla fusione di alveolociti immaturi, sia liberi a livello dello spazio virtuale intraalveolare che ancora adesi alle pareti alveolari. In tutte le placentate esaminate venivano osservati inoltre quadri di flogosi cronico-attiva di moderata entità, microtrombosi vascolari associate a lesioni endoteliali, nonché la presenza di inclusioni eosinofile a sede intracitoplasmatica in molte cellule dei villi coriali sia della porzione materna che fetale. L'esame immunoistochimico realizzato con anticorpi specifici per EHV 1 e 4, *Rhodococcus equi*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* ha dato costante esito negativo. Data la presenza di inclusi placentari e di un quadro polmonare

fetale caratteristici, è stato effettuato un esame immunistoichimico utilizzando anticorpo monoclonale anti-cimurro canino che ha marcato positivamente sia le inclusioni placentari che il citoplasma dei sincizi polmonari. Risultati analoghi sono stati ottenuti con l'uso di anticorpo policlonale contro il virus Hendra mentre l'anticorpo anti virus Nipah ha dato esito negativo. I risultati immunistoichimici sono stati confermati dagli esami sierologici effettuati sulle fattrici, volti alla ricerca di anticorpi nei confronti dei medesimi antigeni nonché di *Salmonella abortus-equi*, degli adenovirus e dei virus influenzale, dell'arterite e dell'anemia infettiva. I medesimi sieri hanno mostrato un titolo anticorpale molto basso nei confronti dei virus Hendra, morbillivirus canino e umano. Tali titoli, soprattutto nei confronti di virus eterospecifici, indicano una reazione aspecifica, legata a cross reattività di anticorpi diretti contro un probabile agente appartenente alla stessa famiglia virale. Esami ultrastrutturali hanno infine confermato la presenza di particelle virus-like all'interno sia delle inclusioni coriali, sia a livello dei sincizi polmonari fetali.

### **Conclusione**

Gli esami sierologici, microbiologici ed immunistoichimici effettuati sulle cavalle e sui campioni di tessuto placentare e dei vari organi fetali hanno permesso di escludere la presenza di agenti abortigeni noti. Inoltre la peculiarità dei quadri istopatologici hanno permesso di effettuare una diagnosi differenziale con l'aborto-polmonite da rodococco (in cui le cellule sinciziali derivano dalla fusione di macrofagi contenenti nel loro interno grosse colonie facilmente evidenziabili di batteri), da arterivirus e da morbillivirus equini (in cui i sincizi si ritrovano soprattutto in sede endovasale e derivano dalla fusione di più cellule endoteliali). I medesimi campioni sono attualmente utilizzati, in collaborazione con il CDC (Centre for Diseases Control, USA), per ulteriori analisi biologico-molecolari al fine di valutare la presenza di RNA o DNA di natura virale omologo o meno con quello di altre famiglie di virus potenzialmente patogeni per il cavallo.

### **Bibliografia**

- Hooper PT., Ketterer A., Hyatt AD., Russel GM. Lesions of experimental equine morbillivirus pneumonia in horses. *Vet. Pathol.* 34: 312-322, 1997.
- Summers BA, Appel MJG. Syncytia formation: an aid in the diagnosis of canine distemper encephalomyelitis. *J. Comp. Pathol.* 95:425-435, 1985.
- Patterson-Kane J., Donahue JM., Harrison LR. Placentitis, fetal pneumonia, and abortion due to Rhodococcus equi infection thoroughbred. *J. Vet. Diagn. Invest.* 14:159-162, 2002.
- Hong CB, Donahue JM, Giles RC. Etiology and pathology of equine placentitis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5:56-63, 1993.

## **ENCEFALOMIELOPATIA DEGENERATIVA ASSOCIATA A NEUROPATIA LARINGEA DEL ROTTWEILER**

*Salvadori Claudia, Cantile Carlo, Arispici Mario*

Dipartimento di Patologia Animale – Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Pisa

---

### ***Summary***

#### ***Degenerative encephalomyelopathy associated with laryngeal neuropathy of young Rottweiler dogs.***

The clinical and pathological features of three cases of degenerative encephalomyelopathy associated with laryngeal paralysis in Rottweiler puppies are described.

The dogs ranged from 16 to 32 weeks old and originated from different litters. Physical examination revealed dyspnea, inspiratory stridor and bilateral microphthalmia in two dogs. Neurological examination revealed progressive spinal ataxia, tetraparesis, and proprioceptive deficits in all dogs.

Pathological findings consistently included selective neuronal vacuolation, especially of the cerebellar nuclei, bilaterally symmetric degeneration of the spinal cord white matter, denervation atrophy of the *cricoarytenoideus dorsalis* and *thyroarytenoideus* muscles and distal axonopathy of the recurrent laryngeal nerve and caudal laryngeal nerve.

The disease is consistent with a syndrome previously described as “neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration” of unknown aetiology. The syndrome includes progressive gait abnormalities associated with laryngeal paralysis. Differential diagnosis should include other diseases of Rottweiler dogs and the post-mortem examination is necessary for the definitive diagnosis.

### ***Parole chiave (key words)***

Rottweiler (Rottweiler), vacuolizzazione neuronale (neuronal vacuolation), sistema nervoso centrale (central nervous system).

***Riassunto***

Sono descritte le caratteristiche cliniche e patologiche di tre casi di vacuolizzazione neuronale, associata a mielopatia degenerativa e paralisi laringea in cuccioli di razza Rottweiler.

I cani erano due femmine e un maschio e l'età al momento dell'eutanasia era compresa tra 16 e 32 settimane. Il segno clinico di presentazione era atassia a carico degli arti posteriori in un soggetto e stridore inspiratorio, tosse e dispnea negli altri due casi. In tutti i cuccioli, comunque, la malattia ha avuto decorso progressivo con segni di paralisi laringea, tetraparesi, atassia spinale e deficit propriocettivi.

I tre soggetti e un altro Rottweiler di 8 mesi, utilizzato come controllo, sono stati sottoposti ad esame necroscopico completo ed al campionamento di tutti gli organi, compresi i nervi peroneo, ulnare, frenico, vago, laringeo ricorrente, laringeo craniale e caudale e i muscoli laringei. I campioni sono stati fissati in formalina, glutaraldeide e crio-fissati.

I rilievi istopatologici erano limitati al SN centrale, periferico e ai muscoli laringei intrinseci. Nel SNC era presente vacuolizzazione bilaterale e simmetrica del citoplasma neuronale a livello dei nuclei cerebellari, vestibolari, del tratto spinale del trigemino e a carico delle cellule di Purkinje e di diversi neuroni del talamo, del mesencefalo e, occasionalmente, del midollo spinale. I vacuoli erano negativi alle colorazioni istochimiche per i glucidi e i lipidi (PAS, LFB, ORO) ed alle reazioni immunoistochimiche per la PrP-res. Al microscopio elettronico i vacuoli erano strutture vuote, rivestite da membrana, o contenenti piccole formazioni circolari o convolute. Nel midollo spinale era presente degenerazione simil-walleriana di tutti i funicoli, talvolta più accentuata a livello delle porzioni dorso-laterali. I muscoli cricoaritenideo dorsale e tiroaritenideo mostravano aspetti di denervazione con presenza di fibre angolari e fibre ipertrofiche, mentre i muscoli cricotiroideo e tiroideo erano normali. Le porzioni distali dei nervi laringei ricorrenti e dei laringei caudali rivelavano perdita di fibre di grosso diametro ed aumento di quelle di piccolo diametro. I nervi laringei craniali e gli altri nervi periferici campionati sono risultati morfologicamente normali e morfometricamente simili ai campioni di controllo.

Le caratteristiche clinico-patologiche di questa sindrome sono del tutto sovrapponibili ad una patologia del cane di razza Rottweiler descritta come "neuronal vacuolation and spinocerebellar degeneration". Dal momento che le lesioni sono presenti anche in altre strutture midollari e la paralisi laringea è un segno costantemente riscontrato in questa sindrome, la denominazione "encefalomielopatia degenerativa e neuropatia laringea" sembra più indicata.

**QUADRI ANATOMO-ISTOPATOLOGICI  
IN CERVI (*CERVUS ELAPHUS*)  
DELLE PROVINCE DI PISTOIA E BOLOGNA**

*Morandi Federico, Galuppi Roberta, Tampieri Maria Paola,  
Nicoloso Sandro\*, Simoni Paolo*

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Bologna; \*D.R.E.Am. Italia (via dei Guazzi-31, 52014 Poppi, Ar).

---

***Summary***

***Pathologic findings in free-living red deers (*Cervus elaphus*) of the Appennines of Pistoia and Bologna***

The study was carried out on 68 free-living red hunted deers (*Cervus elaphus*). Histopathologic examination of liver showed two patterns: lymph nodule-like structures and eosinophilic granulomas. In 28 animals eggs and larvae of Nematodes were found in the pulmonary interstitium and in an inguinal lymph node. From the trachea and feces first-stage larvae were isolated and identified as Nematodes belonging to genus *Elaphostrongylus*. The parasited animals are many (41%), but the slight lesions and the apparent good health suggest a balance among host, parasite and environment.

***Parole chiave (key words)***

*Cervus elaphus*, parassiti polmonari extrapulmonari (extrapulmonary lungworms), *Elaphostrongylus* spp., noduli di Kisselev (Kisselev's nodules).

***Introduzione***

Il notevole aumento numerico di questo grosso ungulato, il più grande animale selvatico del nostro Paese, il grande interesse nei confronti della fauna selvatica, che spesso risulta però essere solo a sfondo naturalistico o venatorio e gli abbattimenti selettivi previsti nei confronti di questi animali, hanno richiamato anche la nostra attenzione da un punto di vista veterinario, con lo scopo di approfondire le conoscenze in questo settore e di riportare le lesioni anatomo-istopatologiche eventualmente riscontrate.

***Materiali e metodi***

La ricerca è stata effettuata su 68 cervi (*Cervus elaphus*). Gli animali abbattuti facevano parte di un piano di prelievo che rientra nel progetto di gestione della popolazione del cervo dell'Appennino tosco-emiliano. Tale progetto si realizza attraverso un programma annuale di gestione steso e redatto dalla Commissione Tecnica Interregionale per la gestione della popolazione suddetta e approvata da una Commissione di Coordinamento composta da un rappresentante degli Enti che, a vario titolo, concorrono alla gestione del territorio delle regioni Emilia-Romagna e Toscana.

Il protocollo di lavoro ha previsto che subito dopo l'abbattimento venissero effettuati un'indagine anatomopatologica e successivamente il prelievo di campioni di polmoni, fegato, rene, milza e linfonodi. I campioni di tessuto sono stati fissati in formalina secondo Carson e successivamente processati secondo le metodiche di routine per l'osservazione al microscopio ottico. Inoltre, alcuni campioni di feci e di liquido di lavaggio tracheale sono stati sottoposti ad esame parassitologico.

***Risultati***

Lesioni macroscopiche sono state riscontrate prevalentemente a carico del fegato e dei polmoni. I fegati di 15 animali mostravano strutture nodulari prevalentemente in posizione sub-glissoniana, da 0,1 a 2 cm di diametro, leggermente rilevate, rotondeggianti, sia a margini netti sia sfumati, di consistenza aumentata e di colore bianco-giallastro. Allo stesso modo, nella maggior parte degli animali, i polmoni mostravano petecchie ed aree lobulari di colore rosso scuro. Inoltre, con minor frequenza, abbiamo riscontrato anche lesioni macroscopiche in altri organi, riportate sinteticamente in tabella 1. L'indagine microscopica del fegato ha mostrato due lesioni diverse: le più piccole (0,1-0,4 cm) appaiono come agglomerati linfocitari a organizzazione simil-follicolare riferibili a noduli del Kisselev; le altre (0,5-2 cm), invece, mostrano un centro necrotico circondato da cellule epitelioidi e giganti, a loro volta circondate da una sottile capsula fibrosa infiltrata da un gran numero di granulociti eosinofili che spesso invadono anche i vicini spazi porto-biliari. Microscopicamente, i polmoni di 28 animali hanno mostrato la presenza di uova e forme larvali di macroparassiti a diverso stadio di sviluppo. Tali strutture appaiono localizzate nell'interstizio e caratterizzate da una reazione infiammatoria costituita da macrofagi, linfociti e granulociti eosinofili. Nella maggior parte dei casi tale reazione rimane limitata attorno al parassita e solo raramente è possibile osservare un infiltrato macrofagico ed eosinofilo nell'interstizio dell'organo che ne determini gravi alterazioni. Medesime strutture parassitarie sono state osservate anche in un linfonodo inguinale. L'esame

parassitologico ha confermato la presenza di larve di Nematodi, in polmoni e feci. Quest'ultime isolate misurano 390-430x18-20 µm e mostrano un'evidente spinula caudale dorsale. In tabella2 sono invece riportati sinteticamente i rilievi microscopici riscontrati con minore frequenza.

**Tabella 1. Altre lesioni macroscopiche riscontrate**

Rene e tessuto adiposo perirenale	<ul style="list-style-type: none"><li>• 1 rene presenta focolai biancastri, di 0,2-1cm, con superficie retratta, di consistenza aumentata</li><li>• 1 massa di 10-12cm in posizione perirenale, di consistenza dura, irregolare, stridente al taglio</li></ul>
Linfonodi	<ul style="list-style-type: none"><li>• 3 linfonodi iliaci presentano forme cistiche, di 3-5mm, con liquido giallo paglierino</li></ul>
Apparato genitale	<ul style="list-style-type: none"><li>• 2 esemplari presentano in utero e vagina resti di un feto in preda a macerazione</li></ul>
Trovato un esemplare in decubito sternale con abbattimento del sensorio, orecchie abbassate, cherato-congiuntivite all'occhio sx, atrofia e sclerosi del bulbo oculare dx	

**Tabella 2. Altre lesioni microscopiche riscontrate**

Fegato	<ul style="list-style-type: none"><li>• 1 steatosi centroacinosa</li></ul>
Rene e tessuto adiposo perirenale	<ul style="list-style-type: none"><li>• 1 nefrite interstiziale cronica a focolai</li><li>• 1 metaplasia ossea del tessuto adiposo perirenale</li></ul>
Linfonodo	<ul style="list-style-type: none"><li>• 3 linfonodi con cavità cistiche prive di alcun contenuto</li></ul>

### **Discussione**

Di particolare interesse appare la presenza delle formazioni linforeticolari complesse o noduli del Kisselev. Essi non paiono assumere una particolare valenza infiammatoria, quanto piuttosto rappresentare uno stato reattivo generico e/o una forma di presidio dei meccanismi di difesa nei confronti di varie noxae, specialmente parassitarie. Tali strutture sono descritte anche in organi diversi dal fegato quali rene e polmone ed in diverse specie quali cavallo, suino, cinghiale (Guarda *et al*, 1996; Marcato, 2002) e spesso, ma non sempre, vengono messe in relazione con infestazioni parassitarie o comunque stimoli infiammatori cronici. A supporto dell'ipotesi di un coinvolgimento di organismi metazoi nel determinismo delle lesioni da noi riscontrate sono anche i granulomi eosinofili. Questi sono riportati anche in fegati di bovini (Marcato, 2002) nel cui centro possono essere sequestrate larve di ascaridi, condizione quest'ultima d'altra parte mai riscontrata nel nostro caso. Di notevole rilievo è la presenza nei polmoni e in un linfonodo inguinale di uova e larve di parassiti.

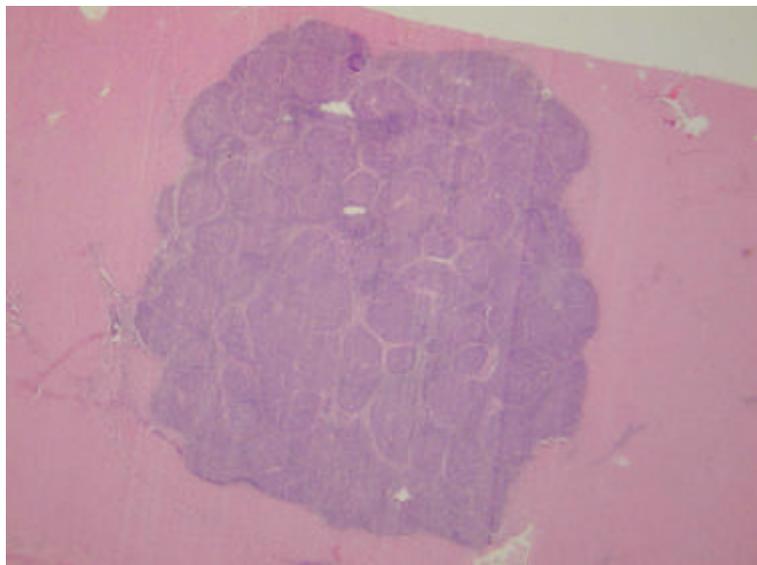
Tale infestazione interessa circa il 41% degli animali senza mostrare predilezione di sesso, mentre gli animali adulti sono quelli maggiormente colpiti. Le caratteristiche elencate: localizzazione settale nel parenchima polmonare e scarsa reazione infiammatoria, la presenza di larve in polmoni, feci e linfonodo inguinale ma mai di adulti nell'albero respiratorio, le misure delle larve isolate e la caratteristica spinula dorsale delle stesse, hanno lasciato quindi ipotizzare l'appartenenza del parassita al genere *Elaphostrongylus*, un rappresentante della classe dei Nematodi. Di tale parassita è stata segnalata la presenza in molti Paesi sia del nuovo che del vecchio continente ma questa risulterebbe essere la prima segnalazione in Italia (Lankester, 2001). Nel nostro caso, inoltre, si può aggiungere che l'alta percentuale degli animali infestati, il basso grado di infestazione e le scarse alterazioni indotte suggeriscono un equilibrio ospite-parassita-ambiente, condizione che si verifica spesso in popolazioni di animali selvatici in apparente buono stato di salute.

### **Conclusioni**

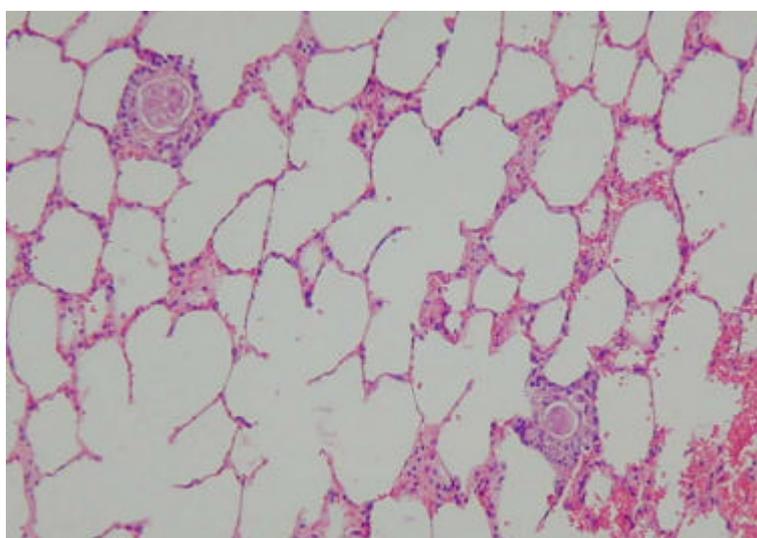
Le ricerche sugli animali selvatici liberi in natura si sono dimostrate ancora una volta di grande utilità sia per avere informazioni sullo stato di salute degli animali sia sulla qualità dell'ambiente nel quale essi vivono. Inoltre, l'applicazione di diverse competenze a tali studi, non può che aumentare le conoscenze, consentendo così di raggiungere risultati più soddisfacenti.

### **Bibliografia**

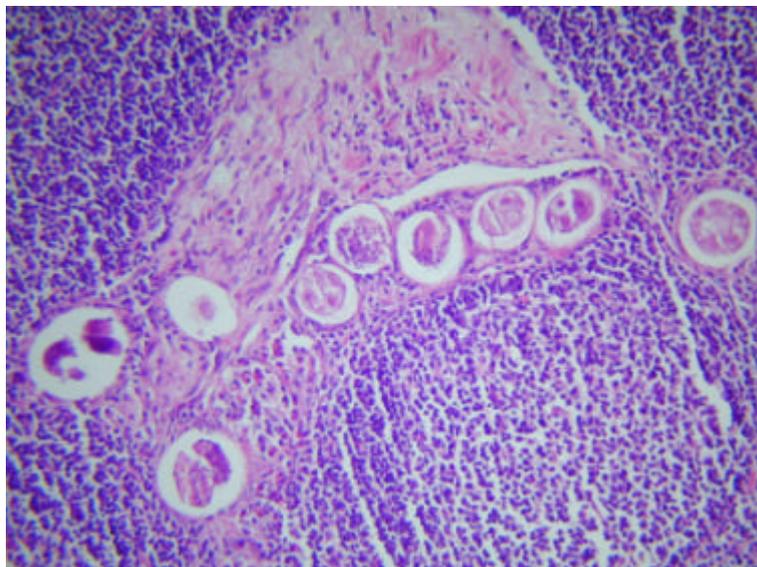
- Lankester M.W. (2001): Extrapulmonary lungworms of cervids. In: Samuel W.M., Pybus M.J., Kocan A.A. (ed) "Parasitic diseases of wild mammals", 2<sup>nd</sup> edition. Manson Publishing/The Veterinary Press, London, chap. 9:252-268.
- Guarda F., Julin M., Griglio B., Curcio A. (1996): Noduli del Kisselev nel fegato e nel polmone del maiale e dei cinghiali. *Obbiettivi e Documenti Veterinari*, 6: 25-29.
- Marcato P.S. (2002): Fegato e Pancreas. In: "Patologia Sistemica Veterinaria". Edagricole, Bologna, cap. 6:820.



**Figura 1:** Fegato. Si può osservare l'aggregazione di follicoli linfoidi tipica dei noduli del Kisselev. E&E. Ob.2,5x.



**Figura 2:** Polmone. Strutture larvali a diverso stadio di sviluppo circondate da limitata reazione infiammatoria. E&E. Ob.20x.



**Figura 3:** Linfonodo. Presenza di strutture larvali simili a quelle descritte nel polmone. E&E. Ob.20x.



**Figura 4:** *Elaphostrongylus* spp. Larve L1. Porzione caudale (riquadro). E' ben evidente la spinula dorsale. Ob.40x

## **LESIONI POLMONARI DI ORIGINE NON IDENTIFICATA IN RATTI SPF**

*Bergottini Raffaella, Belluco Sara, Fiorentino Simonetta\*,  
Besana Vincenzo\*\*, Scanziani Eugenio*

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviare, Università degli Studi di Milano

\* Rottapharm, Monza

\*\* Libero professionista

---

### **Summary**

#### ***Pulmonary lesions of unknown etiology in SPF rats***

34 lungs from SPF rats were evaluated histologically. Numerous lungs showed multifocal moderate to severe inflammatory lesions, characterized by perivascular cuffings of lymphocytes and macrophages and BALT hyperplasia. Lesions were similar to those described in literature in SPF rats, for which the etiology is still unknown. Histopathologic examination is the only diagnostic test available to screen for this pathological entity.

### **Parole chiave (key words)**

Ratto (Rat), polmone (lung), polmonite interstiziale (interstitial pneumonia).

### **Introduzione**

Lesioni infiammatorie polmonari ad eziologia sconosciuta in ratti specific pathogen free (SPF) sono state segnalate recentemente (Elwell et al., 1997; Franklin et al., 1998; Slaoui et al., 1998). Scopo di questo lavoro è segnalare la presenza di tali lesioni in numerosi polmoni di ratti SPF pervenuti alla nostra osservazione.

### **Materiali e metodi**

Nel corso del primo semestre del 2003 sono pervenuti alla nostra sezione i polmoni di 34 ratti da laboratorio garantiti dall'allevatore esenti da malattie virali, batteriche e da micoplasmosi e sottoposti a prove tossicologiche. Gli animali appartenevano a ceppi diversi ed avevano età differenti: 20 ratti avevano 9

settimane di età ed erano di ceppo Sprague Dawley, 4 avevano 20 settimane ed erano di ceppo Wistar, 5 avevano 7 settimane ed erano di ceppo Wistar, 5 avevano 7 settimane ed erano di ceppo Sprague Dawley. Un emipolmone per ogni soggetto è stato processato per l'esame istologico e colorato con ematossilina ed eosina.

### ***Risultati***

15 soggetti di 9 settimane e di razza Sprague Dawley presentavano lesioni infiammatorie polmonari multifocali di grado da moderato a grave. Tali lesioni erano caratterizzate dalla presenza di voluminosi infiltrati infiammatori principalmente perivascolari, costituiti da macrofagi, linfociti ed occasionali neutrofili, frammenti a macrofagi con citoplasma schiumoso e pneumociti di tipo II attivati; tali reperti si riscontravano sempre in associazione a grave ipertrofia del tessuto linfoide bronco-associato (BALT). Nei casi più gravi l'infiltrato infiammatorio coinvolgeva numerosi spazi e setti alveolari, e si osservavano ampie aree di consolidamento polmonare. Solo occasionalmente l'infiltrato infiammatorio era centrato attorno ai bronchi di medio e piccolo calibro.

In 2 soggetti Wistar di 20 settimane si riscontravano numerosi piccoli infiltrati linfoistocitari perivascolari a carico dei vasi di piccolo e medio calibro, associati a moderata ipertrofia del BALT.

### ***Discussione***

Le lesioni osservate sono simili a quelle già riferite in letteratura (Elwell et al., 1997; Franklin et al., 1998; Slaoui et al., 1998) in ratti Wistar, F344 e Sprague Dawley specific pathogen free (SPF), e quindi garantiti esenti da malattie virali, batteriche e micoplasmi. Le lesioni risultano più gravi nei soggetti di età compresa tra le 8 e le 10 settimane, e si attenuano marcatamente nei soggetti più anziani, senza predilezioni di razza o di sesso.

L'eziologia di questa forma di polmonite interstiziale rimane sconosciuta: esami serologici per virus, batteri e micoplasmi, colture batteriche, ricerca di agenti protozoari, PCR per la ricerca di *Pneumocystis carinii*, esame con luce polarizzata per la ricerca di materiale birfrangente e colorazioni speciali (Giemsa, PAS, Gram, impregnazione argentea) hanno dato esito negativo.

In uno studio, l'esame con microscopio elettronico ha rivelato la presenza di rarissimi batteri bastoncellari nelle vie aeree degli animali che presentavano le lesioni (Elwell et al., 1997).

L'inoculazione di colture cellulari di mammifero con tessuto di ratti infetti ha provocato effetto citopatico in un altro studio (Franklin et al., 1998).

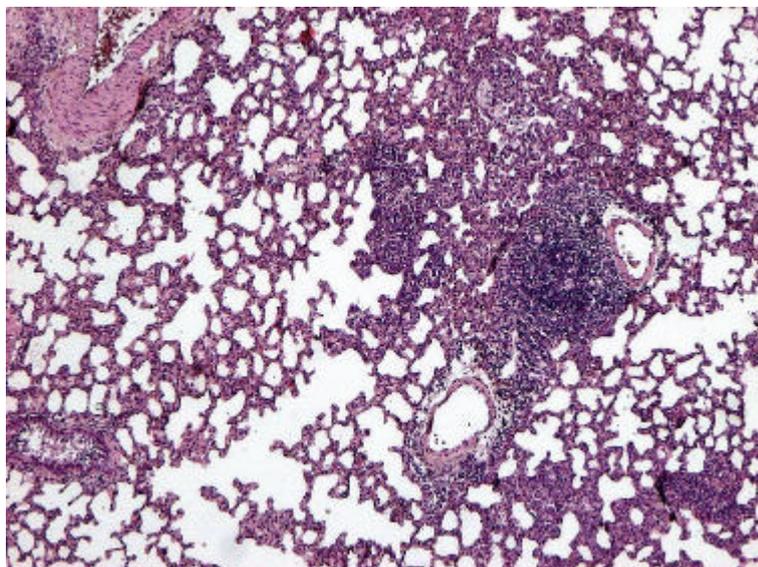
***Conclusione***

L'eziologia di questa forma di polmonite interstiziale rimane sconosciuta. Alcuni autori sostengono l'ipotesi di una eziologia virale ed è stato proposto il nome provvisorio di RRV (rat respiratory virus).

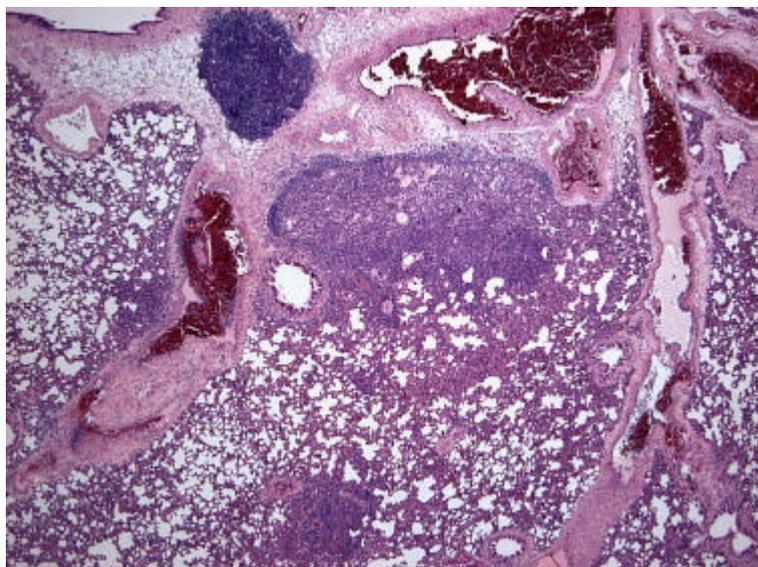
L'esame istologico risulta di fondamentale importanza per la diagnosi di questa patologia, in quanto esso rappresenta l'unica metodica al momento disponibile per accertarne la presenza. Sono necessari ulteriori studi al fine di acquisire maggiori informazioni riguardo l'eziologia di queste lesioni.

***Bibliografia***

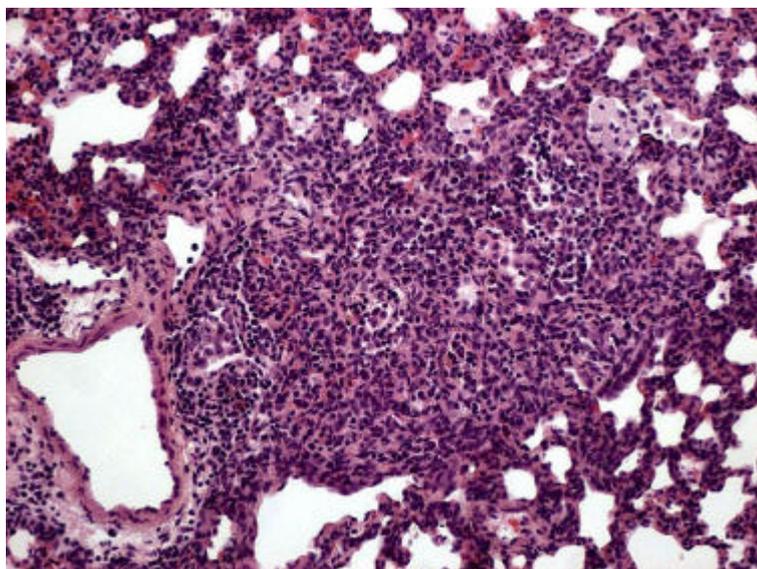
- Michael R Elwell, Joel F Mahler, G N Rao, "Have You Seen This?" ; Inflammatory Lesions in the Lungs of Rats, *Toxicologic Pathology*, 25: 529-531, 1997
- Craig L Franklin, Cynthia L Besch-Williford, Robert J. Russell: *Research Update: Idiopathic Lung Lesions in Rats. ACLAD NEWSLETTER*, 1998.
- M. Slaoui, H. C. Dreef and E. van Esch, Inflammatory Lesions in the Lungs of Wistar Rats, *Toxicologic Pathology*, 26: 712-713, 1998.



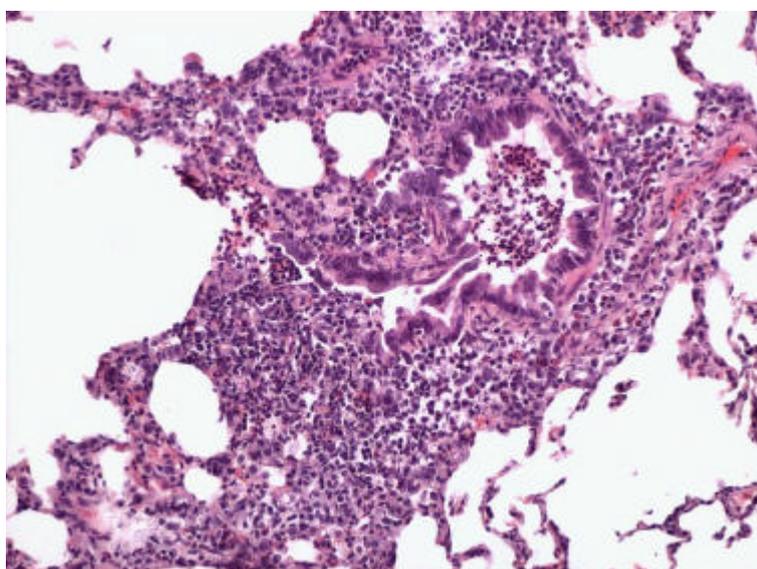
**Figura 1**: infiltrati infiammatori linfocitari perivascolari.



**Figura 2**: Aree di polmonite interstiziale associata ad ipertrofia del BALT.



**Figura 3:** L'infiltrato perivasale è costituito da macrofagi e linfociti. Negli alveoli circostanti si osservano grossi macrofagi con citoplasma schiumoso.



**Figura 4:** Infiltrati peribronchiali di macrofagi, linfociti e neutrofili si osservano occasionalmente.

## **CORPI LAMELLARI NELLO STOMACO DI CRICETI**

*Belluco Sara\**, *Roccabianca Paola\**, *Crippa Luca\*\**,  
*Scanziani Eugenio\**.

\*Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviare, Facoltà di Medicina Veterinaria, Milano.

\*\* Novuspharma

---

### **Summary**

#### ***Lamellar bodies in the stomach of twenty-eight hamsters.***

Lamellar bodies have been found in 28 stomachs of BioTO2 hamster histologically examined. The structures are eosinophilic with a basophilic core. To understand the composition and the pathogenetic origin of the bodies we have done several stains. Lamellar bodies resulted negative for amyloid, calcium, cytokeratins, von Willebrandt factor and NSE stains. They were positive only for PAS stain. They probably result from the aggregation of altered mucus, due to the erroneous way of the pharmacological treatment or the genetic background.

### **Parole chiave (key words)**

Criceti (Hamster), Bio TO2, corpi lamellari (lamellar bodies), *Helicobacter*, immunoistochimica (immunohistochemistry).

### **Introduzione**

Le conoscenze attuali circa *Helicobacter* spp. negli hamsters sono scarse (Patterson *et al.*, 2000). Fino ad ora sono stati identificati nell'intestino *Helicobacter cinaedi* e *Helicobacter mesocricetorum* (Simmons *et al.*, 2000), ritenuti parte della normale flora intestinale, e, nella cistifellea, *Helicobacter cholecystus* (Franklin *et al.*, 1996), associato a colecistite fibrosa. A livello gastrico sono stati ritrovati *Helicobacter aurati* (Patterson *et al.*, 2000), *Helicobacter* spp, a cui non è ancora stato assegnato un nome, e *Campylobacter* spp. Questi ultimi sembrano molto diffusi nei criceti e la loro presenza è ricollegabile al riscontro di reperti riferibili a gastrite cronica e metaplasia intesinale (Patterson *et al.*, 2000). Al fine di valutare l'influenza di infezioni gastriche da *Helicobacter* spp. in corso di studi farmacologici sono

---

pervenuti al nostro istituto gli stomaci di 28 criceti appartenenti al ceppo BioTO2.

I criceti BioTO2 sono Syrian hamsters omozigoti recessivi per un gene che codifica per il -sarcoglicano. Questi animali sviluppano miocardiopatia dilatativa e lesioni muscolari entro i due mesi di età.

### **Materiali e metodi**

Gli stomaci di 28 criceti di ceppo BioTO2, tutti di sesso maschile e di 6 mesi di età, provenienti da uno studio farmacologico, sono pervenuti al nostro Istituto in fissativo costituito da formalina al 10% isotonica. I campioni sono stati processati per l'inclusione in paraffina e successivamente sono state ottenute sezioni microtomiche di 4 µm di spessore che sono state colorate con Ematossilina-Eosina. Sezioni supplementari sono state effettuate per le indagini istochimiche, colorate con il metodo di PAS, Rosso Congo, Von Kossa, ed immunoistochimiche, condotte con il metodo ABC-perossidasi, utilizzando gli anticorpi primari presenti in tabella. Sono state conferite ad un altro istituto ulteriori sezioni per la colorazione argantica.

<b>Anticorpo</b>	<b>Clone</b>	<b>Fonte</b>	<b>Retrieval</b>	<b>Diluizione</b>
NSE	policlonale	Dako	–	1: 25
Fattore VIII	policlonale	Dako	Pepsina	1: 200
AE1/AE3	Monoclon.	Dako	Pepsina	1: 2000
CK 8/18	Monoclon	Dako	Pepsina	1:200
CK 19	Monoclon	Novoca stra	Pepsina	1:300

Peps.= Pepsina (Digest all 3, Zymed) x 10 minuti a 37°

### **Risultati**

All'esame istologico, in tutti i soggetti sono stati riscontrati da moderati a gravi infiltrati linfocitari sia in lamina propria sia in sottomucosa, diffusi ed organizzati in follicoli. In 22 soggetti su 28 erano inoltre presenti ulcere ed erosioni con flogosi eterofilica associata. Alla colorazione argantica non sono stati ritrovati batteri riferibili ad *Helicobacter* spp. Un reperto inusuale, identificato in tutti i soggetti, è stato il riscontro, nel fundus, di strutture rotondeggianti multilamellari concentriche ("a cipolla") ad affinità tintoriale eosinofila e, in alcuni casi, caratterizzate da zona centrale basofila. E' stata effettuata una colorazione Rosso Congo, ma le strutture multilamellari sono risultate negative. La

presenza di queste strutture in un contesto di mucosa alterata poteva supportare l'idea di calcificazioni distrofiche, ma anche in questo caso la colorazione per il calcio è risultata negativa. La struttura morfologica ricorda concrezioni di tipo epiteliale. A tal fine sono state effettuate le colorazioni per citocheratine specifiche dell'epitelio gastrico e per un pool di citocheratine, ma il risultato è stato negativo. Infine abbiamo effettuato la colorazione per le mucine e tutte le strutture sono risultate positive.

Abbiamo indagato la possibile origine patogenetica attraverso colorazioni immunoistochimiche con l'anticorpo anti Fattore VIII e anti NSE, ipotizzando che il centro di aggregazione fosse un vaso distrofico o una cellula enteroendocrina degenerata. In entrambi i casi sia il centro sia la parte lamellare sono risultate negative, tranne due strutture che sono risultate positive al fattore VIII.

### ***Discussione.***

Il riscontro di strutture multilamellari eosinofile nello stomaco non trova riscontro in letteratura, né nell'uomo né in altri animali. In realtà strutture morfologicamente simili, riscontrate in diversi organi, vengono definite corpora amylacea (Cavanagh 1999). Queste sono di composizione diversa, ma la caratteristica comune è la positività al Rosso Congo, con birifrangenza green-apple (Rocken C, 2002). Le nostre strutture alla colorazione con Rosso Congo sono risultate negative. A seguito dei risultati alla colorazione per PAS si può ritenere che le strutture multilamellari siano composte da muco gastrico che si è aggregato per un'alterazione nella sua composizione. In letteratura è dimostrato come *Helicobacter* spp. determini un'alterazione della mucosa e quindi anche della secrezione ghiandolare (Hills, 1993). Il mancato riscontro di *Helicobacter* spp. nei nostri campioni porta ad escludere questa ipotesi patogenetica. E' noto come alcuni farmaci siano in grado di cambiare pH e microambiente gastrico (Hills, 2002). Gli animali da noi esaminati sono stati effettivamente sottoposti ad un trattamento farmacologico sperimentale di cui non si conosce la natura, ma crediamo che questa ipotesi possa essere tralasciata per via del fatto che, nei nostri 28 soggetti, erano compresi animali di controllo. La presenza di ulcere ed infiltrato infiammatorio nei campioni dimostra come il trattamento effettuato con sondino, a base sia di sol. fisiologica sia del nuovo farmaco, abbia influito notevolmente sulla mucosa gastrica degli animali. Non possiamo attualmente escludere anche un'ipotesi basata sulla condizione genetica di questi animali che porta a sviluppare miocardiopatia dilatativa e lesioni alla muscolatura liscia vasale in pochi mesi.

**Conclusione**

Possiamo concludere che le strutture multilamellari riscontrate nel fundus di Hamster BioTO2 siano aggregati di muco, la cui origine patogenetica è ancora dubbia. Un futuro esame istologico su animali non trattati con sondino potrebbe essere d'aiuto nella determinazione dell'origine di tali strutture.

**Bibliografia**

- Cavanagh JB: Corpora amylacea and the family of polyglucosan diseases. Brain Res Rev 29: 265-295 (1999)
- Franklin CL, Beckwith CS, *et al.*: Isolation of a novel species, *Helicobacter cholecystus* sp. nov., from the gallbladders of Syrian Hamsters with cholangiofibrosis and centrolobular pancreatitis. J Clin Microbiol. 34: 2952-2958. (1996)
- Hills BA: Gastric mucosal barrier: evidence for *Helicobacter Pylori* ingesting gastric surfactant and deriving protection from it. Gut 34: 588-93 (1993)
- Hills BA: Surface-active phospholipid: a Pandora's box of clinical applications. Part II. Barrier and lubricating properties. Internal Med J 32: 242-251 (2002)
- Petterson MM, Shrenzel MD, *et al.* *Helicobacter aurati* sp. Nov, a urease-positive *Helicobacter* species cultured from gastrointestinal tissues of Syrian hamsters. J Clin Microbiol, 3722-3728 (2000)
- Patterson MM, Shrenzel MD, *et al.* Gastritis and intestinal metaplasia in Syrian hamsters infected with *Helicobacter aurati* and two other microaerobes. Vet Pathol 37: 589-596 (2000)
- Rocken C. Verh Dtsh Ges Pathol 86: 107-115 (2002)
- Simmons JH, Riley LK, *et al.*: *Helicobacter mesocricetorum* sp. Nov., a novel *Helicobacter* isolated from the feces of Syrian hamsters. J Clin Microbiol. 1811-1817 (2000)

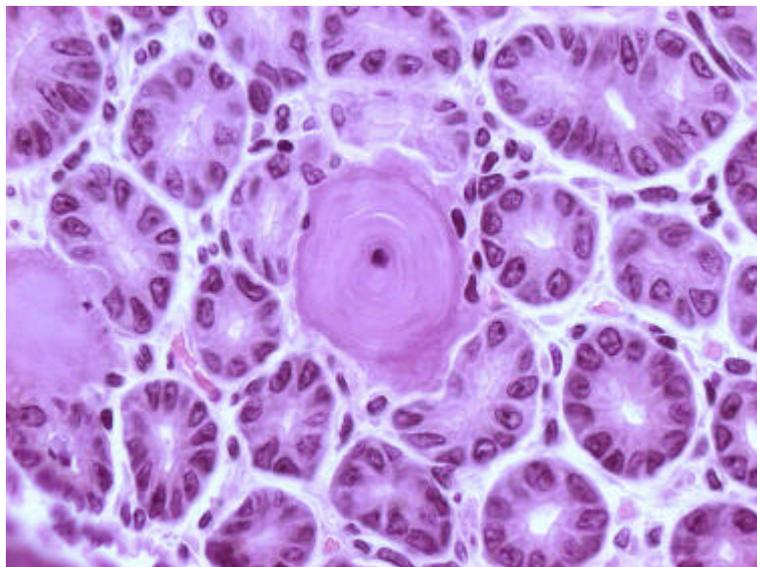


Figura 1: struttura multilamellare con centro basofilo. EE 40 X

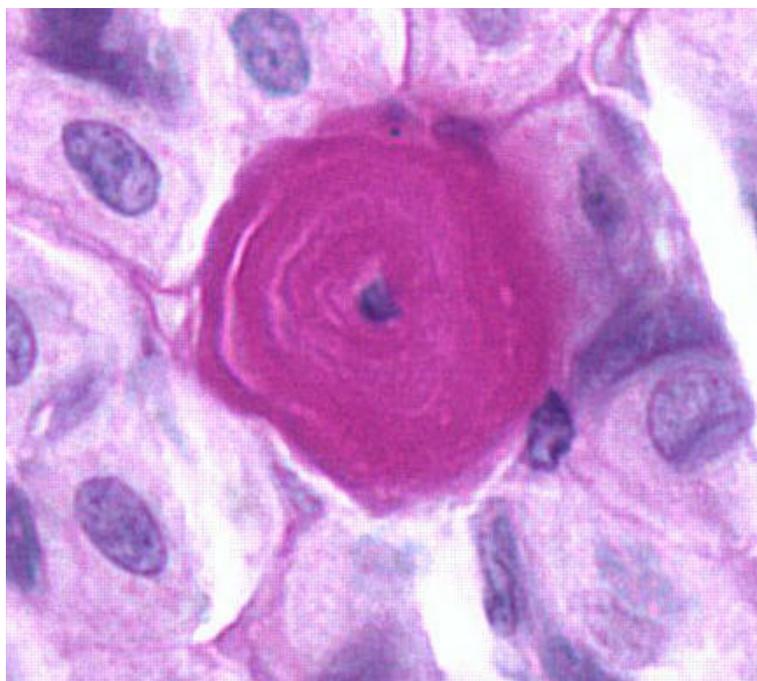


Figura 2: struttura multilamellare positiva alla colorazione PAS. PAS 40X

## **NEURODEGENERATIONS IN ANIMALS**

*Vandevelde Marc*

University of Berne, Switzerland

---

Neurodegenerations are characterized by primary degeneration and loss of certain cells and secondary degeneration of associated cells in specific regions and cell populations of the nervous system. Degenerative lesions are bilaterally symmetrical and often quite discrete; gliosis is often the only indication that a lesion is present. Many of these diseases are congenital hereditary, familial, or of suspected genetic background. Such diseases present as slowly progressive neurologic symptoms in immature animals. The underlying mechanisms are often unknown. Several conditions affect primarily the neuronal cell body, others the axon. The most common ones are discussed in more detail here below.

### ***Cerebellar atrophy***

This disease occurs in different species especially dogs. More than 40 different entities have been reported. Macroscopically the cerebellum is almost normal in shape and size, but histologically the Purkinje cells are lacking to a great extent.

### ***Motor Neuron Disease (MND)***

Degeneration of motor neurons in the ventral horns of the spinal cord, and neurons of brain stem nuclei, have been observed in several species in a variety of conditions. In all these conditions, the lesions are very similar. The neurons are swollen, with chromatolysis and nuclear changes. There is Wallerian degeneration in the peripheral nerves and neurogenic muscle atrophy. Some of these conditions are hereditary (also called *spinal muscular atrophy* or SMA) e.g. SMA in Brown Swiss calves and Brown Swiss crosses, SMA in Brittany spaniels and Swedish Lapland dogs. In man there are hereditary as well as sporadic forms of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Motor neuron degeneration can occur as a result of trace element deficiency in lambs (*Sway back*), goat kids and in piglets. Many motor neuron diseases are sporadic such as *Equine motor neuron disease* (EMND). Affected animals have low vit E serum levels and a history of limited access to pasture. Similar lesions have been found in young animals of a variety of other species including cats, cattle,

pigs, rabbits and zebras. In all these reports, a genetic defect had been suspected but not proven.

***Dysautonomia***

Diseases affecting the autonomous nervous system have been recognized in animals. Grass sickness in horses has been known for a long time in certain endemic regions in Europe. Dysautonomia occurs also in cats and rarely in dogs. The disease appears to be endemic in wild living hares. The cause and pathogenesis of dysautonomia is not known. In grass sickness it is likely that a hitherto unrecognized plant poison is involved. Pathologically all these conditions are characterized by degeneration of the autonomic neurons in ganglia, spinal cord and brainstem. The degeneration leads to massive neuronal loss and proliferation of the supporting cells.

***Multisystemic neuron degeneration in Cocker Spaniels***

The first symptoms with seizures and dementia show in puppies at 2 - 6 months of age, rarely later upto 1 year. The lesions in the brain consist in status spongiosus of the cerebral white matter and various brain stem nuclei, gliosis, swollen axons and loss of neurons in affected nuclei. Cerebellar atrophy in the Kerry blue terrier is associated with degeneration of the globus pallidus; thus this is also a multisystemic degeneration

***Hereditary ataxia in Jack Russell terriers and smooth haired Fox terriers***

Very little is known about the genetic background of this disorder. but as it almost exclusively affects those two closely related breeds a genetic basis seems probable. The histologic lesions never are spectacular. They consist fibre degeneration throughout the long tracts especially the dorso-lateral columns of the cord, the cerebral peduncles the brain stem as well.. Degenerating axons are found in the trapezoid body. There are also degenerating fibers in the peripheral nervous system.

***Weaver Syndrome, Myeloencephalopathy in Brown Swiss cattle***

The symptoms start with progressive ataxia at the age of 5 - 6 months. An autosomal recessive hereditary trait is suspected. Pathologically the disease affects the white matter of the spinal cord, most severely in the thoracic segments. Axonal degeneration with spheroid formation and axonal loss (empty "swollen" myelin sheaths) as well as gliosis are seen. Similar but milder lesions

may be present in the brain stem, and scattered Purkinje cell degeneration is a consistent finding.

***Axonal dystrophy in Rottweiler dogs***

The first symptoms appear seldom before, but in most instances after 1 year of age. Autosomal recessive inheritance is postulated. The characteristic lesion consist in large numbers of swollen axons (spheroids) at the entries of nerve roots in the dorsal horns throughout the spinal cord, and certain brain nuclei such as the geniculate bodies in the latero-caudal thalamus. Similar axonal dystrophies have been described in othe dog breeds (Scotch Terrier, Chihuahua, Collies), sheep and rarely in cats and horses.

***Equine Degenerative Myeloencephalopathy***

The disease affects mostly young horses of about 6 months, but the first symptoms may appear as late as 24 months of age. They present with disturbed general proprioception and upper motor neuron function. On histologic slides all funiculi show Wallerian degeneration and astrogliosis throughout the entire length of the spinal cord, But most affected are the dorsolateral (spinocerebellar) and ventromedial (motor) funiculi of cervical and thoracic segments. Neuronal necrosis can be found in Clarke's column dorsolateral to the central canal of the thoracic and anterior lumbar spinal cord and in the dorsal column nuclei. Vit. E deficiency appears to play a role. The disease is most common in the US. In Europe there have been very few reports

***Idiopathic Myelopathy in large dog breeds***

This change has been described first in older German shepherds with paresis and abnormal gait in the hind quarters. Later it was observed in other large dog breeds as well. The lesions are restricted to the spinal cord and as rule most conspicuous in the thoracic segments. They consist in scattered ballooned myelin sheaths and an occasional swollen axons, bur no inflammatory cells or macrophages. In most cases the rather mild histologic lesions do not correspond with the severe clinical deficits.

**MIOSITE DA NEOSPORA CANINUM IN UN DOGO ARGENTINO: ASPETTI ISTOLOGICI, IMMUNOISTOCHEMICI ED ULTRASTRUTTURALI**

*Paciello Orlando, D'Orazi Augusta\*, Borzacchiello Giuseppe, Martano Manuela, Restucci Brunella, Maiolino Paola, Papparella Serenella*

Dipartimento di Patologia e Sanità Animale – Settore di Anatomia Patologica, Facoltà di Medicina Veterinaria Università degli Studi di Napoli Federico II

\*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia.

---

**Summary**

***Neospora caninum myositis in a Dogo Argentino: histological, immunohistochemical and ultrastructural findings***

Clinical neosporosis was diagnosed in a 2-month-old dogo argentino from Southern Italy. Haematological values were high for CK e LDH and a title IFAT 1:25000 for *Neospora caninum* was demonstrated. Histological sections of femoral biceps revealed numerous tachyzoites of *N. caninum* scattered throughout the tissue. Diagnosis was confirmed either by immunohistochemical and immunofluorescence stainings and or by electron microscopic examination. Immunohistochemical examination revealed also a positivity on the sarcolemma for MHC I and of the parasites for MHC I and II. These results could suggest and explain the pathogenesis of muscular damage during neosporosis.

**Parole chiave (key words)**

*Neospora caninum*, Complesso Maggiore di Istocompatibilità classe I e II, cane. (*neospora caninum*, Major Histocompatibility Complex (MHC) class I and II, dog).

**Introduzione**

*Neospora caninum* è uno sporozoo della classe Coccidia, segnalato per la prima volta in Norvegia nel 1984. L'infezione naturale è stata osservata nei cani, bovini, pecore, capre, cavalli e cervi. *N. caninum* è responsabile di lesioni nervose, aborti, mortalità neonatale e malformazioni congenite (A. Poli, 1998; P.

---

Pasquali, 1998). Nel cane la neosporosi si manifesta prevalentemente nel cucciolo con disturbi nervosi associati a volte a miopatie. Solo pochi casi sono stadi descritti in Italia (G.Cringoli, 1996; A. Poli, 1998; P. Pasquali, 1998). In questo studio descriviamo le lesioni muscolari in corso di neosporosi in un cucciolo di dogo argentino.

### ***Materiali e metodi***

Babe era un cucciolo di dogo argentino, maschio, di 2 mesi con paralisi spastica degli arti posteriori. Le indagini sierologiche hanno evidenziato alti livelli di CK e LDH ed un titolo IFAT di 1:25000 per *Neospora caninum*. Prelievi biotici dal deltoide e bicipite femorale sono stati congelati in isopentano preraffreddato in azoto liquido. Sezioni di 6  $\mu$ m sono state colorate con E.E., Tricromica di Gomori modificata e P.A.S. Altre sezioni sono state marcate con anticorpi anti MHC I, MHC II, DLA-DR, anti *Neospora caninum* e anti *Toxoplasma gondii* (VMRD, Inc. USA), ed osservate al microscopio ottico e laser confocale. Inoltre campioni di muscolo sono stati processati per le indagini di microscopia elettronica.

### ***Risultati***

Istologicamente sono state osservate numerose fibre muscolari in necrosi, fenomeni di sarcoclastosi, rigenerazione e un modico infiltrato infiammatorio linfocitario. Marcata la proliferazione connettivale. In diverse fibre erano osservabili vacuoli parassitofori con tachizoiti positivi all'anticorpo anti *N. caninum*. Erano, inoltre, evidenti piccoli gruppi di fibre o fibre singole, con profili angolari. L'esame immunoistochimico evidenziava positività per l'MHC I, oltre che delle cellule endoteliali ed infiammatorie, anche sul sarcolemma di diverse fibre muscolari e nel sarcoplasma di alcune fibre di dimensioni ridotte. L'MHC II e DLA-DR era espresso solo dalle cellule endoteliali. I tachizoiti sono risultati positivi all'MHC I e II. L'indagine ultrastrutturale confermava, ulteriormente, l'identità del parassita (C.A. Speer, 1999).

### ***Discussione***

In corso di neosporosi, il danno muscolare è di duplice origine, sia neurogena, come testimoniato dalla presenza di fibre con profili angolari, sia infiammatoria, confermata dall'espressione del MHC I anche sul sarcolemma e nel sarcoplasma di diverse fibre muscolari.

Le molecole di classe I sono ubiquitarie nei tessuti somatici ma, nel tessuto muscolare scheletrico sono presenti in piccola quantità (cellule satelliti, cellule

endoteliali). È noto che per combattere i microrganismi intracellulari, il sistema immunitario impiega i linfociti T “citotossici” specializzati a riconoscere e a distruggere le cellule infettate. Tale riconoscimento è possibile perché, nella cellula infettata, le molecole MHC di classe I, prodotte dalla cellula stessa, si legano a piccoli peptidi o frammenti di proteine che provengono dal patogeno e li espongono come “complessi peptide estraneo/molecola MHC di classe I” sulla superficie cellulare. Per questo motivo, il danno muscolare potrebbe essere legato anche all’espressione anomala dell’ MHC.

La positività di *N. caninum* alle molecole MHC può essere spiegata con il meccanismo del mimetismo del parassita, che si maschera ricoprendosi di proteine ospite-derivate. In tal modo il parassita riuscirebbe ad evitare le difese dell’ospite.

### **Conclusioni**

I nostri risultati oltre a riconfermare, l’importanza delle indagini di immunoistochimica ed ultrastrutturali, per la diagnosi di questa malattia, sembrerebbero fornire importanti indicazioni sulla patogenesi del danno muscolare in corso di neosporosi, come testimoniato dalla positività per l’MHC I e II delle fibre muscolari e del parassita.

### **Bibliografia**

- G. Cringoli, F. Capuano, M.C. Landolfi, V. Veneziano, J.S. Barber, A.J. Trees. Anticorpi verso *Neospora Caninum* in cani della Campania. *Acta Medica Veterinaria* vol. 42, n. 3-4, luglio-dicembre 1996.
- A. Poli, F. Mancianti, M.A. Carli, M.C. Stroschio, L. Kramer. *Neospora caninum* infection in a Bernese cattle dog from Italy. *Veterinary Parasitology* 78 (1998) 79-85.
- P. Pasquali, M.T. Mandara, F. Abramo, G. Ricci, G.A. Polidori, J.P. Dubey. Neosporosis in a dog in Italy. *Veterinary Parasitology* 77 (1998) 297-299.
- C.A. Speer, J.P. Dubey, M.M. McAllister, J.A. Blixt. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology* 29 (1999) 1509-1519.

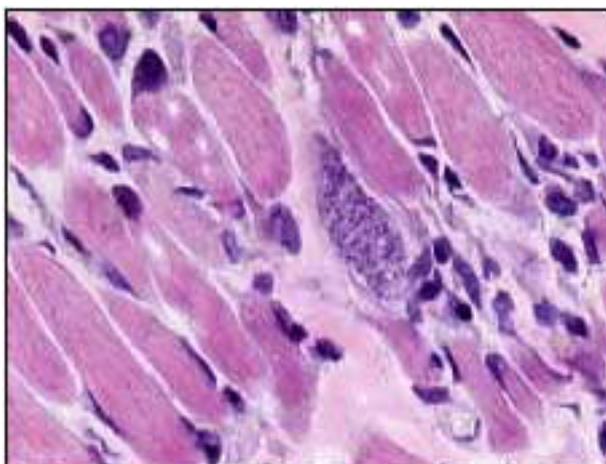


Figura 1: vacuolo parassitoforo con tachizoiti di *N. caninum*. E.E. 40X

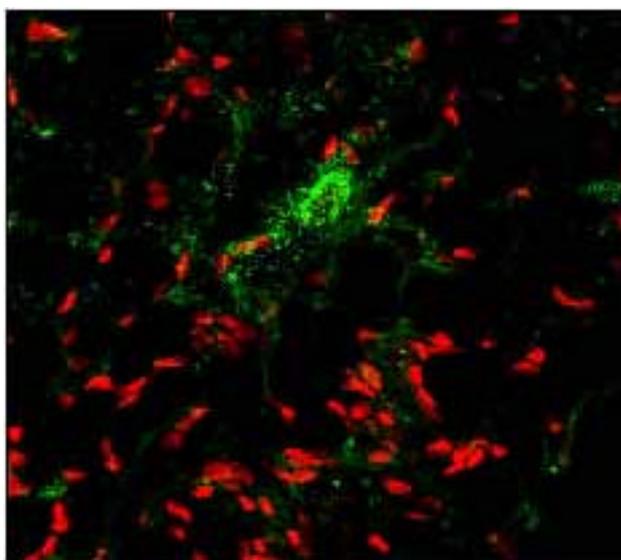


Figura 2: positività dei tachizoiti all'anticorpo anti-*N. caninum*.  
Immunofluorescenza in microscopia laser confocale. 20X

**A.P.I.V. - Associazione Italiana Patologi Veterinari**  
**ATTI del XXI CONVEGNO NAZIONALE**

---



Figura 3: positività sarcolemmale all'MHC di classe I. Immunoistochimica, 40X

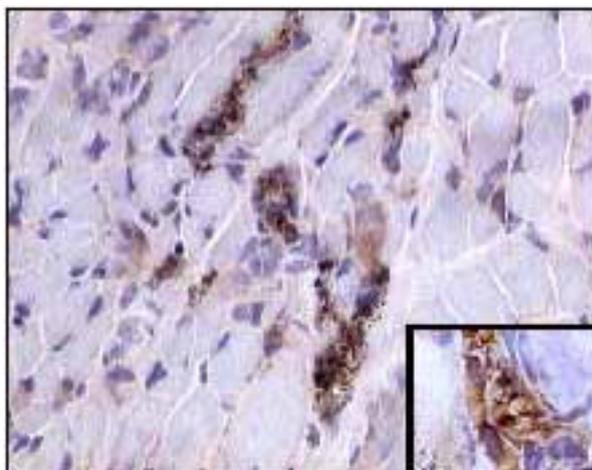


Figura 4: positività del parassita all' MHC di classe I e classe II (inset). Immunoistochimica. 20X e 100X (inset).

**VALUTAZIONE DELLA PREVALENZA DI  
CHLAMYDOPHILA FELIS E HERPESVIRUS FELINO 1  
MEDIANTE POLIMERASE CHAIN REACTION (PCR) NEI  
GATTI AFFETTI DA CONGIUNTIVITE IN ITALIA**

*Rampazzo Antonella, Appino Simonetta, Pregel Paola,  
Tarducci Alberto, Biolatti Bartolomeo*

Facoltà di Veterinaria di Torino, Dip. Patologia Animale

---

**Summary**

***Prevalence of *Chlamydophila felis* and feline herpesvirus 1 in cats with conjunctivitis in Italy: polymerase chain reaction (PCR) testing.***

The prevalence of *Chlamydophila felis* and feline herpesvirus 1 (FHV-1) infection in cats with conjunctivitis in Italy was investigated by conventional polymerase chain reaction (PCR) testing. In cats with conjunctivitis, *C. felis* and FHV-1 were detected in 14/70 (20%) and in 23/70 (32.9%) animals, respectively. None of the 35 control cats were positive for *C. felis*, while 7/35 (20%) were positive for FHV-1. Cats sampled during acute phase conjunctivitis were also investigated for the presence of *C. felis* by conjunctival scrapings. In this acute phase, substantial agreement was found comparing the two methods results ( $\kappa=0.80$ ). The association between PCR results and conjunctivitis was evaluated for the two pathogens. The presence of *C. felis* was significantly associated with conjunctivitis ( $P=0.004$ ), while the detection of FHV-1 did not significantly correlate with the clinical sign ( $P=0.25$ ), suggesting that, by itself, PCR is not suitable for diagnosis of FHV-1 related conjunctivitis.

***Parole chiave (key words)***

gatti (feline), corpi inclusi da chlamydia (chlamydial inclusions), raschiato congiuntivale (conjunctival scraping).

***Introduzione***

La congiuntivite nei gatti e' una malattia di comune riscontro clinico. L'eziologia è principalmente dovuta ad agenti infettivi, in particolare *Chlamydophila felis* ed herpesvirus felino (FHV-1).<sup>1</sup> Anche i calicivirus felini (FCV) possono causare

congiuntivite, ma sono contemporaneamente presenti altri segni clinici attribuibili a tali virus. Inoltre la congiuntivite da FCV è generalmente meno intensa di quella che si osserva con FHV-1 o *C. felis*.<sup>2-5</sup> Infine, di minore importanza è *Mycoplasma felis*, per il quale non è ancora stato accertato il ruolo di patogeno primario nei casi di congiuntivite felina.<sup>6</sup>

Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di *C. felis* e FHV-1 nei casi di congiuntivite felina in Italia, tramite PCR.

### **Materiali e metodi**

Sono stati esaminati 70 tamponi congiuntivali provenienti da gatti con congiuntivite e 35 da gatti di controllo esenti da malattie oculari e delle prime vie respiratorie. Un totale di 105 tamponi congiuntivali è stato esaminato con metodica PCR per *C. felis* e FHV-1. Dei 70 gatti con congiuntivite, 24 erano nella fase acuta dell'infezione; su tali animali sono anche stati eseguiti raschiati congiuntivali per la ricerca citologica dei corpi inclusi da *C. felis*.

### **Risultati**

Mediante PCR, la presenza di *C. felis* è stata rilevata in 14/70 (20%) gatti con congiuntivite e FHV-1 è stato riscontrato in 23/70 (32.9%). Nessuno dei gatti di controllo è risultato positivo per *C. felis*, mentre 7/35 sono risultati positivi per FHV-1 (20%). Dei 24 gatti con congiuntivite in fase acuta, 8 sono risultati positivi a *C. felis* mediante PCR e 6 (75%) di questi presentavano corpi inclusi da Chlamydia all'esame citologico.

### **Discussione**

La positività per *C. felis* tramite PCR è significativamente associata con la presenza di congiuntivite ( $P=0.004$ ). Inoltre, durante la congiuntivite in fase acuta si è riscontrata una buona correlazione fra PCR e citologia per la diagnosi di congiuntivite sostenuta da *C. felis*. Al contrario, la positività mediante PCR per FHV-1 non è significativamente correlata con il segno clinico, indicando che, di per sé, la PCR non è una metodica adeguata per diagnosi di congiuntivite sostenuta da FHV-1.

### **Bibliografia**

- 1. Ramsey DT. Feline Chlamydia and Calicivirus infections. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2000;30:1015-1028.
- 2. Knowles JO, McArdle F, Dawson S, Carter SD, Gaskell CJ, Gaskell RM. Studies of the role of feline calicivirus in chronic stomatitis in cats. Vet Microbiol 1991;27:205-219.

- 3. Baulch-Brown C, Love DN, Meanger J. Feline calicivirus: a need for vaccine modification? *Austr Vet J* 1997;75:209-213.
- 4. Dawson S, Gaskell RM. Problems with respiratory virus vaccination in cats. *Compend Contin Educ Prac Vet* 1993;15:1347-1352.
- 5. Greene CE. *Infectious diseases of the dog and cat*, 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1998:102.
- 6. Whitley RD, Whitley EM, McLaughlin SA. Diagnosing and treating disorders of the feline conjunctiva and cornea. *Vet Med* 1993:1138-1149.

**MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI DELLA  
PROTEINA DI FASE ACUTA AGP IN CORSO DI  
PERITONITE INFETTIVA FELINA (FIP)**

*Cecilianì Fabrizio, Spagnolo Valentina, Giordano Alessia,  
Pocacqua Vanessa, Paltrinieri Saverio*

Dipartimento di Patologia Animale Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università di  
Milano, Via Celoria 10, 20133 Milano, Italia

---

**Summary**

***Post-translational modifications of the Acute Phase Protein  $\alpha$ 1-Acid  
Glycoprotein in feline infectious peritonitis (FIP)***

The paper presents an analysis of the glycosylation pattern of feline  $\alpha_1$  acid glycoprotein (fAGP) by means of interaction of purified fAGP with specific lectins. By this method we show that fAGP does not present on its surface any L-Fucose residues, and its branching degree is very low, both in normal and in pathological conditions. On the contrary, in the course of FIP, fAGP undergoes a decrease of the expression of both  $\alpha(2-6)$ -linked and  $\alpha(2-3)$ -linked sialic acid (76% and 44% respectively when compared to non pathological feline AGP).

***Parole chiave (key words)***

Peritonite Infettiva Felina (Feline infectious peritonitis),  $\alpha$ 1- glicoproteina acida ( $\alpha$ 1-acid glycoprotein), Coronavirus Felino (Feline Coronavirus), Glicosilazione (glycosylation).

***Introduzione***

La peritonite infettiva felina (FIP) è una patologia immuno-mediata provocata da una forma mutata del Coronavirus Felino (FCoV), che interessa i felini, sia domestici che selvatici (1). Una delle caratteristiche della FIP, che peraltro viene comunemente utilizzata come elemento utile per una diagnosi differenziale, è la sovraespressione di una proteina della fase acuta, la  $\alpha$ 1 glicoproteina acida (AGP) (2). La AGP è una proteina fortemente glicosilata, con un peso molecolare di 45 kDa, nell'uomo, di cui il 45% è costituito da

catene oligosaccaridiche (3). In alcune patologie umane la AGP va incontro ad una serie di modificazioni post-traduzionali, in modo particolare per quello che riguarda la sua componente oligosaccaridica: sono state prese in considerazione patologie ad andamento cronico, come l'artrite reumatoide, ma anche alcune malattie virali, come l'AIDS. In questo lavoro abbiamo voluto studiare la presenza di modificazioni post-traduzionali della AGP in corso di FIP.

### ***Materiali e metodi***

In una prima fase è stato messo a punto un protocollo per la purificazione della AGP a partire dal siero felino. Sono state ottenute AGP purificate all'omogeneità, a partire da 16 soggetti clinicamente sani, che sono stati utilizzati come controlli, 24 soggetti con FIP, diagnosticata mediante esame istopatologico ed immunoistochimico, ed 8 soggetti FCoV-esposti, ma che non avevano contratto la patologia.

Il pattern di glicosilazione è stato analizzato in dettaglio utilizzando la interazione delle AGP mediante lectine specifiche: in particolare, il grado di sialilazione è stato studiato mediante interazione con SNAI (*Sambucus nigra* agglutinin I) e MAA (*Maackia amurensis* lectin), in grado di legarsi all'acido sialico terminale legato in posizione  $\alpha(2-6)$  ed  $\alpha(2-3)$  rispettivamente. La lectina AAL (*Aleuteria aurantia* lectin) è stata utilizzata per valutare l'espressione di L-fucosio terminale, e la lectina Concanavalina A è stata utilizzata per valutare il grado di ramificazione.

### ***Risultati***

Al contrario dei dati riportati in letteratura per quello che riguarda la AGP umana, la AGP felina non presenta in superficie alcun residuo di fucosio, ed il livello di ramificazione è molto basso, sia nei controlli sani che nei gatti con FIP. I nostri dati dimostrano che FIP induce una riduzione dei residui di acido sialico espressi sulla proteina AGP: per quello che riguarda l'acido sialico legato in posizione  $\alpha(2-3)$  al galattosio, l'AGP patologica dimostra un grado di sialilazione pari al 44% rispetto ai controlli sani, mentre per quello che riguarda i residui di acido sialico legato in posizione  $\alpha(2-6)$ , il grado di sialilazione è pari al 76% dei controlli (Figura 1). I gatti FCoV-esposti non evidenziano modificazioni del pattern oligosaccaridico, rispetto ai soggetti sani.

### ***Discussione.***

AGP è una proteina fortemente glicosilata (45% del PM totale) ed è quindi presumibile che le catene oligosaccaridiche siano coinvolte nelle sue funzioni. In

corso di FIP la modificazione post-traduzionale più evidente di fAGP è una riduzione del grado di sialilazione. A causa delle sue cariche negative e della sua localizzazione terminale, i residui di acido sialico rivestono un ruolo molto importante nei fenomeni di comunicazione fra cellule. Inoltre il grado di sialilazione di una proteina è direttamente proporzionale alla sua emivita. In questo senso la riduzione della sialilazione della fAGP potrebbe portare ad una precoce rimozione dal circolo. Dal momento che è stata descritta per l'AGP una attività di tipo immunomodulatorio, è possibile ipotizzare che la desialilazione di fAGP in corso di FIP sia connessa con la patogenesi di questa patologia.

#### ***Conclusione***

Questo studio riporta come FIP provochi una modificazione del tipo di glicosilazione di fAGP. Allo stato attuale la direzione della ricerca è di evidenziare la eventuale presenza di modificazioni post-traduzionali di fAGP anche in altre patologie, come per esempio in FIV, FeLV o patologie neoplastiche.

#### ***Bibliografia***

- 1) Pedersen, N.C. (1995) An overview of Feline Enteric Coronavirus and infectious peritonitis virus infection. *Feline Practice* 23, 7-20.
- 2) Duthie, P., Eckersall, P.D., Addie, D.D., Lawrence, C.E., Jarrett, O., (1997) Value of AGP in the diagnosis of FIP. *Vet. Rec.* 141, 299-303.
- 3) Hochepped, T., Berger, F.G., Baumann, H., Lebert, C., (2003). AGP: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties, *Cytokine & Growth Factor Rev.*, 14, 25-34.

#### ***Ringraziamenti***

Questo progetto è stato realizzato con il contributo del finanziamento FIRST 2001 attribuito al Prof. Saverio Paltrinieri.

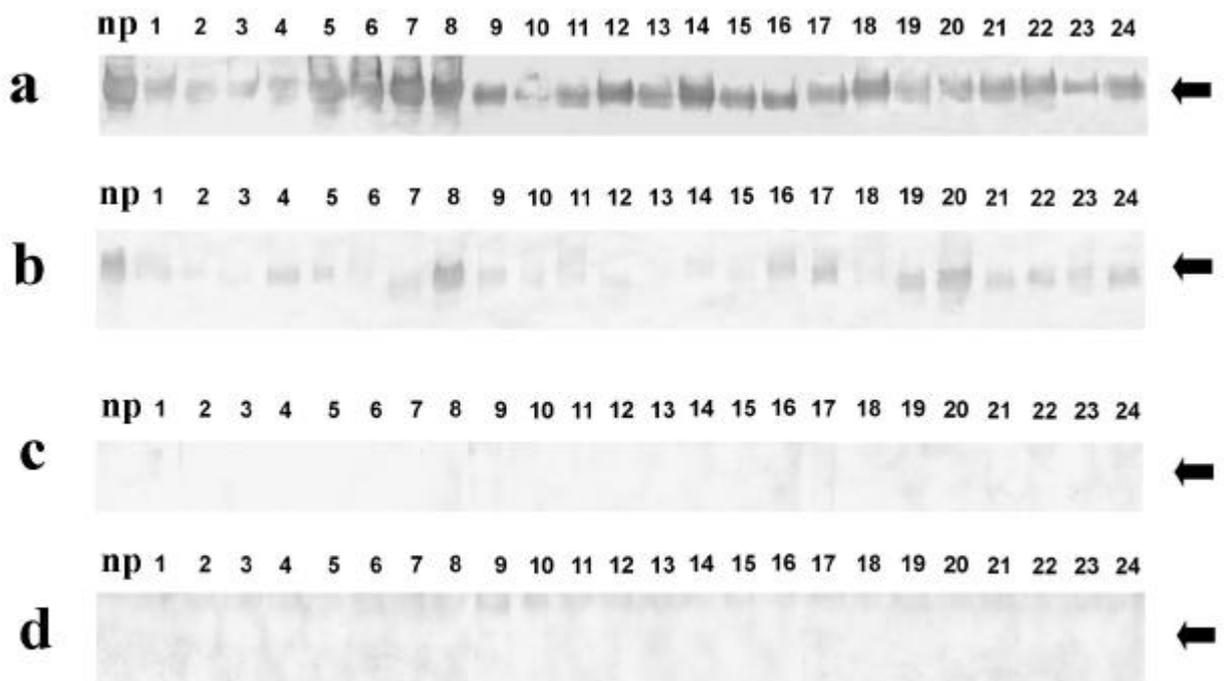


Figura 1: Analisi del pattern di glicosilazione della fAGP patologica. La valutazione delle catene oligosaccaridiche è stata eseguita mediante Western Blotting utilizzando l'interazione con le lectine: a) SNA I, b) MAA, c) ConA, d) AAL. np: 2 µg fAGP non patologica, da lane 1 a lane 24, 2 µg di fAGP da gatti FIP. Le frecce sulla destra indicano la posizione della fAGP.

**ASSOCIAZIONE ADENOCARCINOMA POLMONARE  
OVINO-MAEDI IN POLMONI OVINI NATURALMENTE  
INFETTI: TOPOLOGIA DI JAAGSIEKTE SHEEP  
RETROVIRUS**

*Sanna Maria Paola, Farigu Serrazina, Capucchio Maria  
Teresa\*, Guarda Franco\*, Zucca Rosalba, Nieddu Antonio  
Mario, Sanna Ennio*

Istituto di Patologia Generale, Anatomia Patologica e Clinica Ostetrico-Chirurgica  
Veterinaria, Università di Sassari e \*Dipartimento di Patologia Animale, Università di  
Torino.

---

***Riassunto***

L'Adenocarcinoma Polmonare Ovino (OPAC) o Adenomatosi Polmonare, è un tumore contagioso dei piccoli ruminanti a lento sviluppo e basso indice di metastatizzazione, il cui agente eziologico è un retrovirus tipo-D denominato Jaagsiekte Sheep Retrovirus (JSRV). Nel 10% circa dei casi, la patologia risulta associata a pneumopatie interstiziali croniche causate da Maedi Visna Virus (MVV), lentivirus tipo-B responsabile anche di lesioni encefaliche, mammarie e articolari (1). L'esistenza e la qualità di eventuali sinergie fra i due virus è stata più volte sospettata ma non ha ancora trovato convincenti conferme sperimentali.

Con l'obiettivo di verificare la distribuzione cellulare di JSRV in corso di OPAC associato a Maedi, abbiamo condotto prove ibridocitochimiche ed immunocitochimiche su polmoni ovini naturalmente infetti dai due virus e su controlli negativi e di reagente. Sono stati utilizzati a tal scopo: i) un protocollo di PCR-in situ specifico per DNA provirale di JSRV esogeno (Sanna et al, 2001); ii) un anticorpo policlonale sviluppato contro il major capsid antigen (MCA) di JSRV e gentilmente messo a disposizione dal Dr. Chris Cousens del Moredun Research Institute, Edinburgh (UK).

I tests di amplificazione in situ hanno consentito di rilevare segnali specifici, oltre che su cellule neoplastiche, pneumociti tipo II e macrofagi peritumorali, anche in elementi mononucleati presenti nelle lesioni causate da MVV. In particolare, DNA provirale è risultato associato a voluminosi elementi morfologicamente compatibili con macrofagi e a linfociti, localizzati sia nei

noduli linfoproliferativi che nei manicotti peribronco-vascolari e nell'interstizio. Le prove immunoistochimiche hanno dimostrato che, nei contesti lesivi tipici di Maedi, antigeni capsidici di JSRV risultavano espressi principalmente dai macrofagi.

Considerati nell'insieme, i dati ottenuti dimostrano che, nell'associazione fra Adenocarcinoma Polmonare Ovino e Maedi, i macrofagi presenti nelle lesioni indotte dal lentivirus costituiscono un serbatoio naturale di JSRV. I linfociti, per quanto permissivi, non sembrano invece sviluppare un'infezione produttiva.

***Bibliografia***

- 1) Gonzales L et al (1993). Res Vet Sci., 54(2):140-146.
- 2) Sanna MP et al (2001). J. Comp. Pathol., 125:145-152.

## **DISTRIBUZIONE DEL VIRUS DEL TUMORE NASALE ENZOOTICO IN ANIMALI NATURALMENTE INFETTI**

*Farigu Serrazina, Sanna Maria Paola, Antuofermo Elisabetta., Pirino Salvatore, Mechelli Luca\*, Vitellozzi Giovanni\*, Leoni Antonio, Sanna Ennio*

Istituto di Patologia Generale, Anatomia Patologica e Clinica Ostetrico-Chirurgica Veterinaria, Università di Sassari e \*Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie, Università degli Studi di Perugia.

---

### **Riassunto**

Il tumore nasale enzootico è un adenocarcinoma contagioso a lento sviluppo che colpisce le prime vie respiratorie della capra e della pecora (1, 2, 3). L'agente eziologico è il retrovirus tipo-D denominato Enzoootic nasal tumor virus (ENTV) il quale viene trasmesso orizzontalmente con il fluido nasale degli animali colpiti. ENTV è altamente correlato a Jaagsiekte Sheep Retrovirus (JSRV), agente causale dell'adenocarcinoma polmonare ovino, con cui condivide oltre il 95% del genoma e della struttura proteica (4). I meccanismi oncogenetici promossi da ENTV e le sue relazioni con quelli causati da JSRV non sono stati tuttavia sufficientemente chiariti.

Con l'obiettivo di verificare la distribuzione di ENTV su tessuti naturalmente infetti, abbiamo sottoposto campioni di tumore nasale enzootico provenienti da capre alpine e Saanen a prove ibridocitochimiche e immunoistochimiche condotte mediante impiego di sonde a DNA marcate con digoxigenina e di un anticorpo policlonale (gentilmente fornito dal Dr. Chris Cousens, Moredun Research Institute, Edinburgh, UK) sviluppato contro l'antigene capsidico maggiore di JSRV e dimostratosi cross-reattivo per ENTV. I tests hanno consentito di visualizzare DNA provirale e antigene capsidico di ENTV in tessuti neoplastici, epitelii non trasformati e cellule infiammatorie peritumorali e sub-epiteliali. Per quanto riguarda il DNA provirale, le cellule permissive hanno manifestato forti marcature in sede intracitoplasmatica e, in minor misura, intranucleare anche su linfociti, mentre l'esame dei preparati immunoistochimici ha dimostrato infezioni produttive, oltre che negli elementi neoplastici e nelle cellule mucipare normali, anche nei macrofagi.

I risultati ottenuti attestano che i) numerosi citotipi risultano permissivi per ENTV ma l'infezione non è sempre produttiva; ii) il virus è in grado di replicarsi, al di là

degli epitelii, anche nei macrofagi, probabilmente richiamati in loco a seguito della liberazione di citochine specifiche; queste cellule, analogamente a quanto accade per JSRV (5), amplificano la quota infettante e cooperano allo sviluppo della neoplasia. I differenti spettri di permissività e produttività suggeriscono, nella patogenesi del tumore nasale enzootico, l'intervento di meccanismi intracellulari di restrizione successivi alle limitazioni imposte dalla presenza di recettori cellulari specifici e dallo stesso tropismo virale LTR-dipendente.

***Bibliografia***

- 1) De las Heras M et al. (1991). Vet Pathol 28:474–481.
- 2) De las Heras M et al. (1993) Vet Rec 132:441.
- 3) Vitellozzi G et al. (1993) Zentbl. Vetmed. B 40:459–468.
- 4) Cousens C et al. (1999) J Virol 73:3986–3993.
- 5) Sanna MP et al. (2001). J. Comp. Pathol., 125:145-152.

**PCR IN SITU PER MAEDI VISNA VIRUS:  
COMPARAZIONE FRA TECNICHE "DIRETTE" E  
"INDIRETTE"**

*Sanna Ennio, Sanna Maria Paola, Farigu Serrazina, Leoni Antonio, Nieddu Antonio Mario*

Istituto di Patologia Generale, Anatomia Patologica e Clinica Ostetrico-Chirurgica Veterinaria, Università di Sassari.

---

***Riassunto***

La PCR in situ (IS-PCR) è una tecnica impiegata presso numerosi laboratori di patologia molecolare, ormai quasi routinariamente, allo scopo di evidenziare DNA o RNA genomico, batterico e virale. Essa consente indagini retrospettive su materiali d'archivio inclusi in paraffina e ai vantaggi delle metodiche in fase liquida associa la possibilità di visualizzare il target nei suoi naturali contesti topografici. Attualmente, le procedure utilizzate sono di tipo "diretto" o "indiretto": le prime marcano le sequenze di interesse già durante la fase di amplificazione mentre le seconde, dopo una PCR in assenza di marcatori, impongono il successivo impiego di sonde geniche contenenti le molecole rivelatrici. In letteratura sono comparsi studi basati su entrambi gli approcci, ma è opinione diffusa che le tecniche "dirette" possano causare la comparsa di segnali aspecifici dovuti all'attività primer-indipendente della TAQ polimerasi.

Allo scopo di verificare l'affidabilità di procedure "dirette" di recente proposizione, abbiamo eseguito prove di PCR in situ per Maedi Visna Virus su tessuti polmonari e mammari ovini naturalmente infetti e su controlli negativi etero- e intraspecifici. In parallelo sono state eseguite tecniche "indirette" da lungo tempo in uso presso il nostro laboratorio.

I risultati ottenuti dimostrano che l'incorporazione del marker nel mix di amplificazione, anche in presenza di pre-trattamenti termici, causa lo sviluppo di numerosi e forti segnali intranucleari nei controlli negativi etero ed intraspecifici. Nei tessuti mammari di cagna e gatta, il cromogeno marca infatti i nuclei degli epitelii secernenti e duttali e dei fibroblasti mentre, nei reni di agnello, esso si attesta in elementi mesangiali e tubulari. Conseguentemente, lo spettro di positività osservabile su mammelle e polmoni infetti da MVV, assai vasto e comprensivo di fibroblasti e cellule mucolari lisce, risulta completamente inattendibile. Viceversa, l'impiego di tecniche indirette consente di minimizzare il

background e non dà luogo a segnali aspecifici sui controlli negativi. La distribuzione del DNA provirale di MVV in ambito polmonare appare limitata, rispetto alle procedure dirette, ai soli macrofagi, pneumociti II ed epitelii bronchiolari e, nei tessuti mammari, agli epitelii secernenti e ai macrofagi.

In conclusione, l'impiego della IS-PCR "diretta", in assenza di precauzioni volte a prevenire l'attività primer-indipendente della TAQ polimerasi, non appare utile a definire i citotipi coinvolti nell'infezione da MVV.

**CARATTERIZZAZIONE IMMUNOFENOTIPICA DEI  
LEUCOCITI INFILTRANTI IL SEMINOMA CANINO:  
INDAGINE SU 5 CASI**

*Grieco Valeria, Rondena Marco, Romussi Stefano\*, Finazzi Mario.*

Dipartimento di Patologia, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria – Sezione di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviaria; \*Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie – Sezione di Chirurgia e Radiologia – Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano.

---

***Summary***

***Immunophenotypic characterisation of Leukocytes infiltrating canine seminoma: 5 cases***

Frozen section of 5 canine seminomas were immunohistochemically stained with Mabs directed against canine leukocytic antigen (CD18 - CD 11 a, b, c – CD3 –CD21 – CD8 - CD4) and MCH II kindly provided by Prof. Peter Moore of The Davis (CA) University. For each Mab, the infiltrating positive cells were evaluated semiquantitatively and scored from + to ++++ (0-20%, 20-40%, 40-70%, 70-100%). All the samples showed similar results. In the infiltrates, all the cells were positive for CD18 (++++). Infiltrates were mainly composed by T lymphocytes. The more represented T lymphocytes subset was T8 (+++), while T4 lymphocytes scored no more than +. B lymphocytes scored ++ and were generally present centrally in the pseudofollicular infiltrates while T lymphocytes occupied the periphery. Antigen presenting cells were abundant, while monocytes and granulocytes were practically absent. Almost all the infiltrating cells were positive for MHC II antigen and, in 3 cases, a moderate number of neoplastic cells expressed MHC II. The presence of APC and the large number of MHC II positive cells together with the large number of T8 lymphocytes detected in our cases suggest an effective anti-neoplastic activity that could support the favorable prognosis typical of canine seminomas.

***Parole chiave (key words)***

Cane (Dog), seminoma (seminoma), leucociti (leukocytes), caratterizzazione (characterisation), immunoistochimica (immunohistochemistry).

---

**Introduzione**

Il seminoma è una neoplasia testicolare frequente nel cane come nell'uomo (Dow, 1962; MacLachan and Kennedy, 2002). Tuttavia, mentre nell'uomo questa neoplasia è sostanzialmente maligna e tende spesso a metastatizzare, nel cane il suo comportamento biologico è molto variabile e le metastasi molto rare (Dow, 1962; ). In ogni caso, in entrambe le specie, questo tumore è quasi sempre accompagnato dalla presenza di infiltrati leucocitari (Preziosi *et al.*, 1996; Parker *et al.*, 2002). Essi possono avere dimensioni variabili ed aspetto di stria, banda o propriamente simifollicolare. Linfociti sparsi sono pure presenti tra le cellule neoplastiche in particolare nei seminomi d'aspetto diffuso. Come precedentemente dimostrato (Grieco *et al.* 2001), nel cane come nell'uomo, i linfociti che in maggior numero accompagnano il seminoma sono quelli di tipo T mentre i B, quando presenti, si ritrovano spesso al centro degli infiltrati di tipo simifollicolare. Il presente lavoro mira a tipizzare ulteriormente le popolazioni leucocitarie presenti in detti infiltrati.

**Materiali e metodi**

Per il presente lavoro sono state considerate sezioni seriate ottenute a criostato da 5 seminomi canini. Su di esse, mediante il metodo ABC, è stata svolta un'indagine immunoistochimica avvalendosi di anticorpi monoclonali specificamente diretti contro antigeni leucocitari canini e contro MHC II (tab.1), gentilmente forniti dal Prof. P. Moore dell'Università di Davis (USA).

**Tabella 1. Anticorpi monoclonali impiegati nel corso dell'esame immunoistochimico**

<i>Antigene</i>	<i>Specificità</i>
CD18	Tutti i leucociti
CD11a	Tutti i leucociti
CD11b	Monociti, granulociti
Cd11c	Monociti, granulociti, cellule presentanti l'antigene (APC), macrofagi
CD3	Linfociti T
CD21	Linfociti B, cellule dendritiche follicolari
CD4	Linfociti T4 (helper/inducer)
CD8	Linfociti T8 (suppressor/cytotoxic)
MCH II	Linfociti B e T, monociti, APC

Al fine di valutare la quantità di cellule positive per ciascun anticorpo, è stata impiegata una scala da 1+ a 4+ (rispettivamente 0-20%, 20-40%, 40-70%, 70-100% di cellule positive negli infiltrati).

### ***Risultati***

Per tutti i campioni, i risultati ottenuti erano pressoché sovrapponibili. Gli'antigeni CD18 e CD11a, marcando tutti i leucociti, hanno mostrato sempre valori di 4+. I linfociti T, positivi per CD3, sono stati valutati da 2+ a 3+. Le cellule positive per CD 21, vale a dire i linfociti B, solo in un campione dotato di grossi infiltrati d'aspetto similfollicolare, raggiungevano i 2+. Per ciò che riguarda la sottopopolazione dei linfociti T, i T8 erano sempre abbondantissimi (3+) mentre i linfociti T4 erano assai scarsi (1-2+) e mai singolarmente sparsi tra le cellule neoplastiche. Le cellule positive per CD11c erano sempre molto più numerose di quelle positive per CD11b a significare che, mentre sono scarsi i monociti e praticamente assenti i granulociti, sono molto ben rappresentati macrofagi e le cellule presentanti l'antigene (APC). Quasi tutte le cellule componenti gli infiltrati erano positive per MHCII (4+) e, in 3 campioni su 5, sono state individuate cellule neoplastiche positive per questo stesso antigene.

### ***Discussione.***

Nonostante la limitatezza dei nostri casi, la reazione immunitaria presente all'interno dei seminomi canini pare avere significato prevalentemente citotossico, ipotesi avvalorata dall'abbondante presenza di cellule di tipo T8 come osservato anche nell'uomo. Va ricordato però che, nell'uomo, il significato di questi infiltrati linfocitari rimane ancora oscuro. Infatti, dato che l'espressione di MCH nel seminoma umano non è del tutto accertata, sembra impossibile che i linfociti T8 possano esplicare una reale azione citotossica. Nonostante ciò, è statisticamente provato che ai seminomi accompagnati da abbondante infiltrazione linfocitaria si associ una prognosi più favorevole. Nei casi di seminoma canino da noi esaminati l'espressione di MHC è risultata costante ed ampia. Questo dato, associato alle numerosissime cellule presentanti l'antigene da noi osservate e unitamente all'espressione di MHC II da parte di alcune cellule neoplastiche, sembra suggerire che gli infiltrati presenti nei seminomi del cane svolgano una reale azione antitumorale. Questa attiva risposta immunitaria potrebbe contribuire a spiegare il differente comportamento biologico dei seminomi canini rispetto a quelli umani.

### ***Bibliografia***

– Dow, C. (1962). Testicular tumours in the dog. Journal of Comparative Pathology, 72, 247-265.

- Maclachlan, N.J., Kennedy, P.C. (2002) Tumour of the genital system. In: Tumors in domestic animals, 4th Edit. D.J. Meuten, Ed. Iowa State Press, D.J. Fourth Edition. 563-564 Tumors in domestic animals Iowa State Press, Ames.
- Parker, C., Milosevic, M., Panzanella, T., Banerjee, D., Jewett, M., Catton, C., Tew-George, B., Gospodarowicz, M., Warde, P. (2002). The prognostic significance of the tumour infiltrating lymphocyte count in stage I testicular seminoma managed by surveillance. European Journal of Cancer, 38, 2014-2019.
- Preziosi, R., Benazzi, C., Sarli, G., Marcato, P.S. (1996). Cytological characterization of canine testicular tumours: correlation with histological classification, cell proliferation and invasiveness. European Journal of Veterinary Pathology, 2, 41-47
- De Vico, G., Papparella, S., Di Guardo, G. (1994). Number and size of silver-stained nucleoli (Ag-NOR) clusters) in canine seminomas: correlation with histological features and tumour behaviour. Journal of Comparative Pathology, 110, 267-273.

## **MASTOCITOMA MULTICENTRICO IN UN PITBULL**

*Costantino Giuseppe, Sfacteria Alessandra, Mazzullo Giuseppe.*

Università di Messina, Facoltà di Medicina veterinaria, Dpt di Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Patologia.

---

### ***Summary***

#### ***Multicentric mast cell tumour in a pitbull dog.***

Canine mast cell tumour represents 6% of all tumours, accounting between 7 and 21% of all skin tumours. It mainly involves the dermis and the subcutis of the posterior regions of the body. Regional lymph nodes and, less commonly, internal organs could be involved. Visceral disseminated neoplasms can occur secondary to previous skin lesions, while true multicentric forms are rarely reported. The aim of this paper is to describe the pathological features of a case of multicentric mast cell tumour occasionally found in one dog.

A 4-year-old female Pitbull dog died after a short period of illness clinically characterised by prostration, recurring ascites and liver and spleen enlargement. The dog was then sent to the Unit of Veterinary Pathology of the University of Messina for necropsy.

The most important gross lesions, located in liver, spleen, abdominal lymph nodes and lungs, were characterised by neoplastic transformations extensively spread or in multiple nodular patterns.

Cytology, histopathology, histochemistry and tryptase immunohistochemistry examination of different tissue samples revealed a neoplastic mast cell proliferation. On this basis, the diagnosis of multicentric mast cell tumour was given.

Multicentric mast cell tumour is a very rare neoplastic condition, not commonly reported in veterinary literature. Disseminated forms represent a secondary localisation of primary skin lesions and the same are very rare without skin involvement. Cases of multicentric mast cell tumour with extensive multiple organic localisations but without skin lesions have not been reported in the main literary sources.

***Parole chiave (key words)***

Mastocitoma (mast cell tumour), cane (dog), immunoistochimica (immunohistochemistry), triptase (tryptase).

***Introduzione***

I mastociti sono cellule del tessuto connettivo di derivazione midollare, nel cui citoplasma sono presenti numerosi granuli citoplasmatici metacromatici contenenti sostanze biologicamente attive che intervengono nelle prime fasi delle reazioni infiammatorie e nell'anafilassi.

Negli animali domestici la proliferazione dei mastociti è, infatti, associata a fenomeni infiammatori ed allergici, ma anche a sindromi neoplastiche. Le lesioni neoplastiche interessano per lo più la cute e il sottocute sia come forme nodulari che, meno frequentemente, come disordine sistemico, con invasione diffusa degli organi interni. [1]

Nel cane, il mastocitoma, rappresenta il 6% di tutte le neoplasie e il 7-21% delle neoplasie cutanee, l'11-27% delle neoplasie cutanee maligne. Non sembrano esistere predisposizioni di sesso o di razza, anche se nel Boxer, nel Bull-dog, nel Boston Terrier e nel Labrador retriever si manifesta con maggiore frequenza. [2, 3]. Nel cane interessa per lo più il derma e il sottocute delle regioni posteriori del corpo (quelli che si sviluppano a livello prepuziale, perienale, inguinoscrotale o nella metà superiore degli arti posteriori sembrano dotati di maggiore aggressività) [3]. Si presenta per lo più come nodulo unico, nell'11-25% dei casi come noduli multipli.

Piuttosto raramente, nel cane si possono sviluppare forme sistemiche di mastocitosi di origine metastatica a partenza dalle lesioni cutanee. Ancora più rara è la mastocitosi sistemica in partenza da un mastocitoma extracutaneo (cavità orale, primi tratti delle vie respiratorie, linfonodi, intestino) o le forme di origine sistemica. Infrequente il rilievo di forme sistemiche associate a leucemia mastocitica [4, 5].

Scopo del nostro lavoro è fornire una descrizione di un caso di mastocitoma multicentrico in un cane, descrivendo i quadri anatomopatologici osservati e i quadri cito-istopatologici ed immunoistochimici.

***Materiali e metodi***

Un Pitbull di circa 4 anni di età, femmina, è stato condotto presso la nostra sezione in seguito a decesso spontaneo. Il soggetto manifestava in vita abbattimento, astenia, facile affaticamento ed ascite ricorrente. All'esame ecografico si evidenziava un cospicuo aumento del volume epatico e splenico.

Nel corso dell'esame autoptico preparati citologici venivano allestiti da campioni dai vari organi interessati dalla trasformazione neoplastica nonché dalle raccolte liquide patologiche. Ulteriori campioni tissutali coinvolti dalla crescita neoplastica e non venivano inoltrati alla normale routine istopatologica (ematossilina-eosina).

Il sospetto diagnostico, sorto in seguito soprattutto all'analisi citologica, ha condotto all'utilizzo di ulteriori indagini citochimiche (blu di toluidina) ed immunoistochimiche (triptase).

### ***Risultati***

All'esame necroscopico, preceduto da una laparotomia allo scopo di svuotare la cavità celomatica dal liquido ascitico, si evidenziava un esteso interessamento del parenchima splenico ed epatico. La milza, aumentata di volume, con capsula ispessita, si presentava cosparsa di noduli e nodi di varia dimensione, forma, colore e consistenza. Alla superficie di sezione i noduli erano di aspetto lardaceo e di consistenza sodo-elastica. A livello epatico, il lobo sinistro si presentava particolarmente globoso, a superficie irregolare e di colore variegato a causa della trasformazione subita dal parenchima. Si evidenziava, inoltre, un notevole aumento di volume dei linfonodi meseraici e pancreatici, che si presentavano fusi in un'unica massa delle dimensioni di cm 5x10 circa, a superficie irregolare, di colore chiaro e di aspetto lardaceo, che alla sezione rivelava un'architettura tissutale parzialmente lobulata, di colorito grigio-rossastro, di aspetto lucido e di consistenza da compatta a sodo elastica. Anche il polmone si presentava profondamente trasformato, soprattutto a livello del lobo caudale sinistro, fortemente aumentato di volume e di consistenza soda, la cui superficie viscerale, sia in visione d'insieme che al taglio, si mostrava di aspetto lardaceo, a superficie irregolare.

L'esame citologico dei diversi tessuti esaminati era caratterizzato da una popolazione rotondocellulare con modesta anisocitosi e anisocariosi, con nucleo periferico, talora ricoperto di granuli rosso porpora. L'esame istologico rivelava la presenza di infiltrati cellulari pleomorfici, con nuclei ampi e vescicolosi, di dimensioni differenti. Le cellule presentavano limiti citoplasmatici indistinti e apparivano disposte, in genere, in cordoni. Rare le figure mitotiche. In alcuni campi era possibile individuare la presenza di rari granulociti eosinofili. L'esame con il blu di toluidina rivelava, nei diversi campi osservati, la presenza di rare granulazioni metacromatiche. L'esame immunoistochimico rivelava, invece, una forte positività alla triptasi.

***Discussione***

I quadri macroscopici, cito-istopatologici e immunoistochimici permettevano di ascrivere il caso a una rara forma di mastocitoma multicentrico. Sebbene le indagini anatomopatologiche, unitamente ai rilievi anamnestici, non inducessero a pensare a tale patologia, le indagini citologiche, in prima istanza, ma soprattutto l'esame immunoistochimico si sono rivelati fortemente indicativi per la nostra diagnosi.

Le caratteristiche cito-istopatologiche osservate, quali pleomorfismo cellulare, citoplasma a limiti indistinti, nuclei di varia forma e dimensione, presenza di figure mitotiche e la scarsa presenza di granuli intracitoplasmatici, erano riferibili ad un mastocitoma di 3° grado (sec. Patnaik).

***Conclusione***

Il caso descritto riveste notevole interesse in quanto le forme multicentriche di mastocitoma, in assenza di interessamento cutaneo, sono estremamente rare e poco descritte in letteratura.

***Bibliografia***

- 1. Plier ML, MacWilliams PS. Systemic mastocytosis and mast cell leukemia.
- 2. Della Salda L. Il mastocitoma nel cane e nel gatto. Bollettino AIVPA n°4, 1998.
- 3. Tardy S, Bracco P, Guglielmino R, Peirone B, Bonioli A. Il mastocitoma nel cane: aspetti clinici, terapeutici e comparativi. Veterinaria 1992; 6(2): 61-77.
- 4. Davies AP, Hayden DW, Klausner JS, Perman V. Noncutaneous systemic mastocytosis and mast cell leukemia in a dog: case report and literature review. Journal of the American Animal Hospital Association, 1981; 17: 361-368.
- 5. Vail DM. Mast cell tumours. In : Withrow SJ, MacEwen EG. Small Animal Clinical Oncology. -2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996; 192-210.

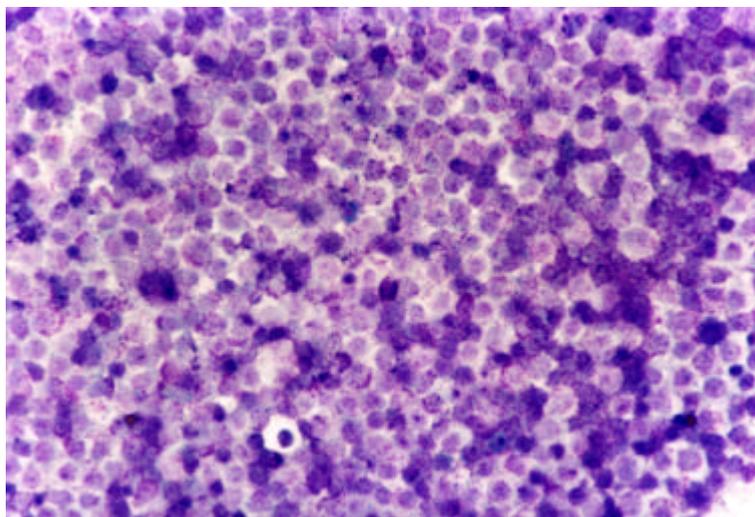


Figura 1. L'esame citologico dei linfonodi meseraici (MGG 40x) metteva in evidenza la presenza di numerose cellule rotondeggianti con modesta anisocitosi e anisocariosi, con nucleo periferico e citoplasma a limiti indistinti.

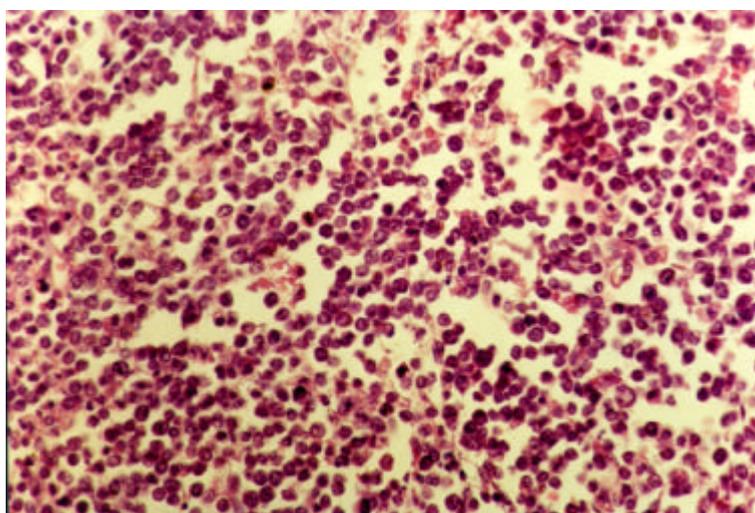


Figura 2. L'esame istologico del parenchima epatico metteva in evidenza focolai nodulari o vere e proprie infiltrazioni di cellule rotondeggianti (EE 20x), pleomorfe, con nucleo periferico e limiti citoplasmatici indistinti.

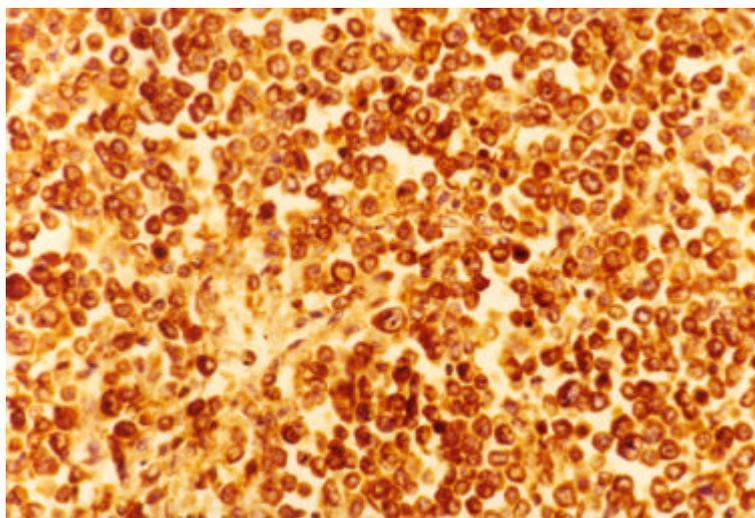


Figura 3. L'esame immunocistochimico rivelava la presenza di una forte positività alla triptasi (Fegato 40x).

**NEOPLASIE POST-TRAUMATICHE  
IN ONCOLOGIA VETERINARIA**

*Vezzali Enrico, Bettini Giuliano*

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna  
Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale  
Servizio di Anatomia Patologica

---

***Summary***

***Post-traumatic cancer in veterinary oncology***

Cancer rarely develops in sites previously involved by repeated violent or therapeutic trauma, usually associated with chronic inflammation; these can act as promoters, able to keep neoplastic progression after a starting event; sometimes they can also create conditions good enough to induce a neoplastic transformation by themselves. Here are presented some cases of post-traumatic cancer observed by our diagnostic service.

***Parole chiave (key words)***

Neoplasia (cancer), trauma (trauma), infiammazione (inflammation), induzione (induction), progressione (progression).

***Introduzione***

Per neoplasie post-traumatiche si intendono i tumori che talora si sviluppano nella sede di traumi pregressi e ripetuti, violenti o iatrogeni, solitamente in associazione ad infiammazioni che perdurano da tempo.

In un contesto di oncogenesi *multi-step* il trauma, l'infiammazione e i processi riparativi che ne fanno seguito possono agire da promotori (co-cancerogeni) che, pur privi di potere oncogeno proprio, sono in grado di realizzare un microambiente favorevole alla progressione neoplastica dopo un evento iniziante, attraverso l'aumento di concentrazione di diversi fattori di crescita, la neoangiogenesi e l'aumento di permeabilità degli stessi vasi.

Un trauma, o gli eventi che lo seguono, possono anche comportarsi da cancerogeni incompleti essi stessi (cioè da elementi inizianti) perché nella riparazione tissutale aumenta il numero di mitosi ed aumenta, quindi, la probabilità di avere mutazioni che normalmente sono riparate o bloccate da specifici meccanismi, che, tuttavia, per predisposizione genetica o associazione

di altri cancerogeni, possono essere inefficaci. Inoltre le cellule infiammatorie, soprattutto neutrofili e fagociti, liberano sostanze chimiche reattive (come radicali superossido, ossido nitrico, radicali idrossilici, perossido di idrogeno, acido ipocloroso, cloramine e lipidi ossidati) che sperimentalmente si sono dimostrati in grado di produrre danni al DNA, mutazioni, aberrazioni cromosomiali ed attivazione di proto-oncogeni. Agenti mutageni presenti in un focolaio traumatico possono infine essere costituiti da ioni metallici o da microcorrenti elettriche conseguenti a corpi estranei o impianti terapeutici (protesi e osteosintesi) che, secondo il parere non uniforme di diversi autori, potrebbero comportarsi anche da apteni in grado di attivare il sistema immunitario ed esitare in neoplasie del sistema immunolinfopoietico.

Vengono presentati e discussi alcuni casi di neoplasie post-traumatiche osservate presso il nostro servizio diagnostico.

### ***Descrizione dei casi***

Presso il Servizio di Anatomia Patologica del Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale dell'Università di Bologna sono stati studiati 6 casi di neoplasie correlate a traumi pregressi. Il primo è il caso di un cane Levriero Russo, maschio di 8 anni, afferrito al Dipartimento Clinico Veterinario per una voluminosa tumefazione a carico dell'arto posteriore destro, calda e dolente, diagnosticata inizialmente come flemmone o ematoma; il soggetto aveva subito in passato una frattura del femore, trattata con infibulazione centromidollare mantenuta in sede, come evidenziato dall'esame radiologico ([figura 1](#)); un esame citologico per agoaspirazione aveva evidenziato cellule mesenchimali maligne riferibili a sarcoma; l'animale è stato soppresso ed alla necropsia si è potuto chiaramente localizzare la massa in sede diafisaria ([figura 1](#)), sede solitamente risparmiata dai sarcomi spontanei non associati a frattura (tipicamente metafisari). Istologicamente il tumore è stato diagnosticato come osteosarcoma (OS) osteoblastico scarsamente produttivo.

Il caso n°2 è quello di un gatto europeo, femmina di 11 anni, colpito dalla proliferazione intraoculare di un tessuto neoformato che ha riempito la camera oculare e provocato la distruzione dell'iride e del cristallino. Il globo oculare è stato enucleato chirurgicamente ed è stato diagnosticato un sarcoma poco differenziato ([figura 2](#)).

Abbiamo poi osservato un caso in un altro gatto in cui un trauma aveva determinato la perdita delle dita dell'arto anteriore sinistro; dopo 5 anni la crescita nella stessa sede di un tessuto anomalo di consistenza dura, istologicamente coerente con un carcinoma squamocellulare (SCC) poco differenziato, ha portato all'amputazione della mano.

Un altro caso di SCC è stato osservato in un bovino, a livello di corno precedentemente traumatizzato (figura 3).

Il caso n°5 riguarda un gatto europeo, maschio di 12 anni, che in seguito ad una osteomielite purulenta aveva subito l'amputazione dell'arto anteriore destro, praticata a livello di terzo medio dell'omero; dopo 4 mesi è stata rilevata una neoformazione di circa 10 cm di diametro, compatta, aderente al moncone osseo (figura 4), istologicamente diagnosticato come linfoma diffuso a grandi cellule; in sede necroscopica non vennero evidenziati altri focolai linfomatosi; la sede di insorgenza primaria a livello osseo di questo linfoma, decisamente infrequente nel gatto, avvalorata l'ipotesi di una relazione con l'osteomielite o con l'amputazione.

L'ultimo caso riguarda un cane Segugio Valdeano che aveva subito estese lacerazioni neuro-muscolari nell'arto posteriore sinistro nello scontro con un cinghiale, con interruzione del nervo peroneo e paralisi; dopo 6 mesi era comparso, lungo la cicatrice, un nodulo dolente del diametro di 3 cm, diagnosticato istologicamente come neuroma, dunque come un'iperplasia reattiva più che come una neoplasia vera e propria, caratterizzato da proliferazione di cellule allungate e da aspetti rigenerativi dei lemnociti con formazione delle caratteristiche camere di gestione, circondate da intensa reazione fibrosa.

### ***Risultati e discussione***

In letteratura veterinaria sono state segnalate diverse altre neoplasie correlate a trauma. Alcune di esse sono più propriamente associate ad una reazione da corpo estraneo, per quanto la loro patogenesi sia simile: è questo il caso di sarcomi felini associati a corpo estraneo e vaccinazione, di un adenocarcinoma del corpo ciliare associato a protesi intra-oculare, di un mixoma nella sede di impianto di un *pace-maker* e di altre ancora che, perlopiù, derivano dalla trasformazione neoplastica del tessuto riparativo; infatti, nella nostra casistica ed in letteratura, la maggior parte delle neoplasie associate alla reazione verso un materiale non biodegradabile sono mesenchimali, il che suggerisce la trasformazione neoplastica del tessuto riparativo. Così accade anche per il sarcoma intraoculare, una neoplasia nota e peculiare del gatto, in cui il cristallino è costantemente coinvolto -a differenza di altre neoplasie intraoculari- ed in cui sono riportati traumi trapassanti all'anamnesi, e per i sarcomi associati a frattura (FAS), che sono le neoplasie post-traumatiche più studiate; la frequenza stimata dei FAS è bassa (nel cane circa 5 FAS ogni 10000 fratture) anche se rappresenterebbero comunque circa il 5% degli osteosarcomi. Anche i carcinomi squamocellulari sono stati associati ad eventi traumatici analoghi a quelli osservati da noi; i carcinomi squamosi possono insorgere anche nel bovino nella sede di marchiatura a fuoco o con azoto liquido: in questo caso il

trauma avrebbe però un ruolo perlopiù predisponente, perché renderebbe la cute più facilmente soggetta ad infezione da Papillomavirus, con formazione di un papilloma che può poi evolvere in senso maligno.

I processi infiammatori giocano un ruolo fondamentale nei meccanismi che mettono in relazione i traumi alle neoplasie. Dall'oncologia umana, oltre a sporadiche segnalazioni di neoplasie correlate a traumi, ci vengono numerosi esempi di neoplasie associate ad infiammazione: carcinoma epatocellulare ed epatite virale B, mesotelioma ed asbestosi, carcinoma del colon e colite ulcerativa, carcinoma transizionale della vescica urinaria e schistosomiasi, calcolosi o cateterizzazione urinaria a lungo termine, carcinoma dell'esofago ed esofagite da reflusso, adenocarcinoma del pancreas e pancreatite cronica ed infine carcinoma gastrico ed infezione e ulcera da *Helicobacter pylori*. In patologia veterinaria esempi analoghi sono rappresentati, nel cane, dal carcinoma dell'esofago indotto da *Spirocerca lupi* e dal colangiocarcinoma correlato ad infestazione da *Ancylostoma caninum* e *Trichuris vulpis*.

### **Conclusione**

In conclusione, gli eventi traumatici possono raramente essere cancerogeni. La piccola casistica presentata in questo studio rappresenta circa lo 0,1% della totalità delle neoplasie esaminate nel nostro Servizio, il che concorda con i dati riferiti da altri autori. Tuttavia l'insorgenza di una neoplasia deve essere considerata come una possibile, anche se rara, complicazione di un evento traumatico.

### **Bibliografia**

- Gordon L.I. e Weitzman S.A.: Inflammation and cancer. *The cancer journal*, 1993; 6: 257-261.
- Stevenson S.: Fracture-associated sarcomas. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 1991; 21 (4): 859-871.
- Dubielzig R.R., Everitt J., Shaddock J.A., Albert D.M.: Clinical and morphologic features of post-traumatic ocular sarcomas in cats. *Veterinary pathology*, 1990; 27: 62-65.
- Yeruham I., Perl S. e Nyska A.: Skin tumors in cattle and sheep after freeze or heat branding. *Journal of Comparative Pathology*, 1996; 114: 101-106.

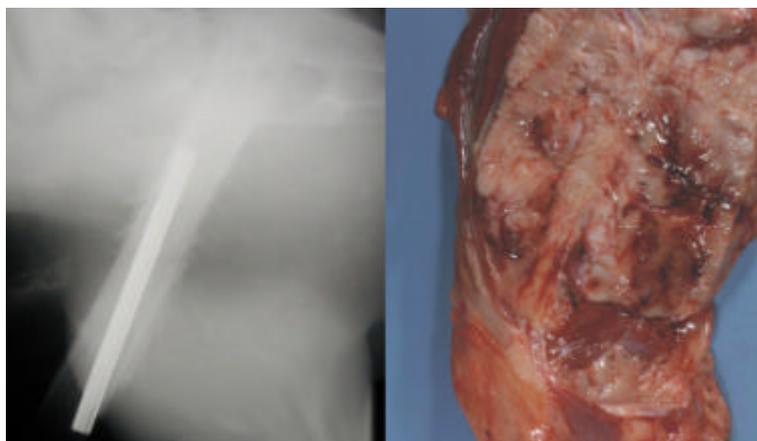


Figura 1. Cane, caso n°1, osteosarcoma associato a frattura, aspetto macroscopico e rx lat.-lat.. Sviluppo diafisario della massa neoplastica; neoproduzioni ossee (barbe e spicole) extra-corticali diafisarie in femore con infibulo *in situ*.

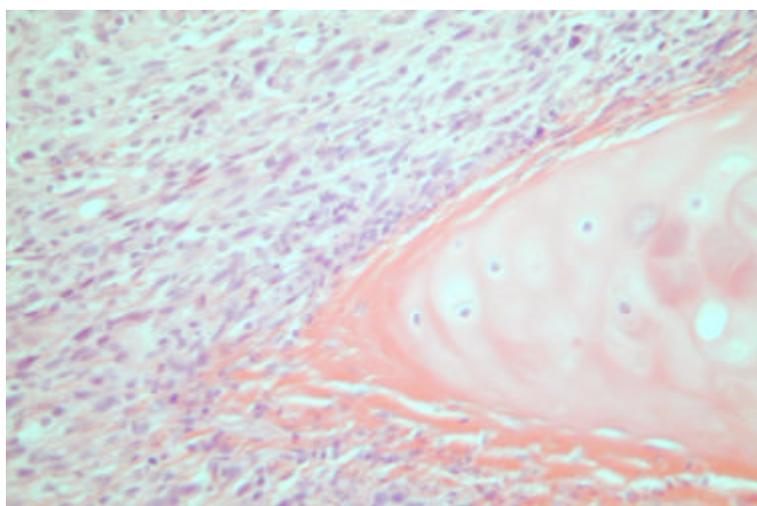


Figura 2. Gatto, caso n°2, sarcoma intraoculare, E.-E., 20x. Sarcoma indifferenziato e materiale compatibile con residui di cristallino che avvalorata la teoria dell'origine lenticolare di questa neoplasia.

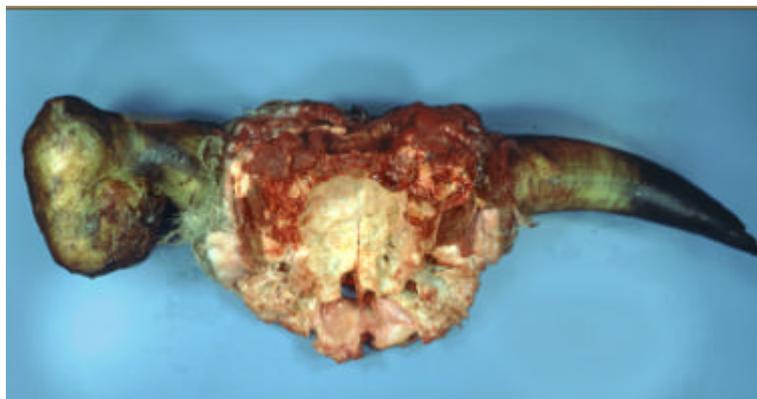


Figura 3. Bovino, caso n°4, carcinoma squamocellulare post-traumatico. Sezione trasversale di testa di bovino: neof ormazione in un corno.

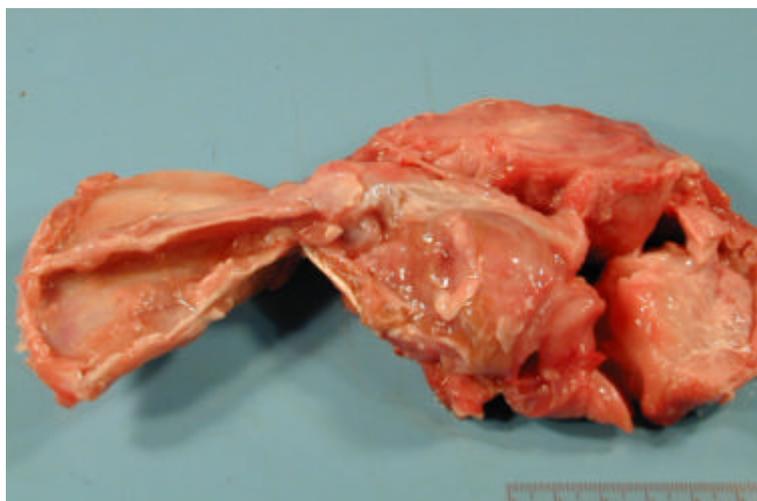


Figura 4. Gatto, caso n°5, linfoma post-amputazione. Moncone di omero completamente avvolto da tessuto linfomatoso.

## **I TUMORI GASTROINTESTINALI STROMALI (GIST) IN PATOLOGIA ANIMALE**

*Morini Maria, Bettini Giuliano*

Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Servizio di Anatomia Patologica

---

### **Summary**

#### ***Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) in animal pathology***

To assess the occurrence of GIST in domestic animals, a retrospective study was carried out on E-E stained sections of gastrointestinal tumors in dogs, cats and horses. Our data suggest that GISTs represent a distinctive group of mesenchymal tumors similar in morphology and immunoreactivity to human GISTs, which can be definitively distinguished by their expression of CD117.

### **Parole chiave (key words)**

Cane (dog), gatto (cat), cavallo (horse), tumori gastrointestinali (gastrointestinal tumors), GIST.

### **Introduzione**

I tumori gastrointestinali stromali (GIST) sono attualmente considerati, nella patologia umana, le più comuni neoplasie mesenchimali del tratto gastrointestinale (GI). Nei preparati istologici appaiono come neoplasie ad elevata cellularità, composte da elementi fusiformi, talora poligonali o pleomorfi, che presentano un'ampia sovrapposizione morfologica con altre neoplasie mesenchimali quali leiomiomi, leiomiosarcomi e schwannomi, e da cui possono essere distinti grazie ad un'immunoreattività tipicamente intensa e diffusa per la proteina KIT (CD117)<sup>8,9</sup>.

In patologia animale, recenti studi hanno dimostrato che nel cane e nel cavallo una parte dei tumori mesenchimali GI, generalmente classificati come tumori di derivazione muscolare liscia, esprimono il CD117 ed hanno morfologia tale da suggerire la loro riclassificazione in GIST<sup>1,2,3,4</sup>. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di riconoscere e riclassificare i GIST presenti in una casistica originale di neoplasie gastrointestinali di cane, gatto e cavallo, e di descriverne le caratteristiche istomorfologiche, immunofenotipiche ed ultrastrutturali.

***Materiali e metodi***

Un'indagine retrospettiva condotta presso gli archivi del Dipartimento di Patologia Generale ed Anatomia Patologica dell'Università di Bologna, ha permesso di raccogliere i casi di neoplasie GI di cane, gatto e cavallo pervenuti in venti anni al nostro servizio diagnostico. Questi preparati, precedentemente fissati in formalina, inclusi in paraffina, sezionati a 4 micron di spessore e colorati con ematossilina-eosina, sono stati osservati al microscopio e grossolanamente suddivisi, sulla base della loro derivazione istogenetica, in neoplasie epiteliali, mesenchimali ed a cellule rotonde. Dalle neoplasie mesenchimali così selezionate sono state allestite ulteriori sezioni seriali, su cui state effettuate colorazioni istochimiche (PAS, Alcian, Gomori, Masson, Orceina Van-Gieson) ed immunoistochimiche (CD117, vimentina, desmina, actina, S-100), e, da porzioni di tessuto fissate in formalina, sono stati allestiti preparati per la microscopia elettronica.

***Risultati***

Il riesame della casistica, composta da 105 neoplasie GI di cane, 95 di gatto e 13 di cavallo, ha permesso di selezionare 5 tumori intestinali del cane (3 nel duodeno, uno nella valvola ileo-cieco-colica ed uno nel cieco), un tumore gastrico del gatto e due nel cavallo (uno nello stomaco e l'altro nel piccolo intestino), con caratteristiche istopatologiche ed immunoistochimiche coerenti con la diagnosi di GIST. Il quadro istologico è caratterizzato dalla prevalenza di cellule fusiformi, fittamente stipate e disposte in fasci ad andamento irregolare ([figura 1](#)), con elevata attività mitotica, alternati ad aree in cui le cellule sono invece di forma poligonale, ed i nuclei mostrano un discreto pleomorfismo (3 casi nel cane) ([figura 2](#)). Frequente è il riscontro di aree emorragiche e necrotiche (4 casi nel cane e nell'unico caso di gatto). Le prove immunoistochimiche hanno evidenziato in tutti i casi una positività citoplasmatica diffusa ed intensa delle cellule tumorali al CD117 ([figura 3](#)) ed alla vimentina, negatività alla desmina ed alla proteina S-100, positività debole ed incostante all'actina del muscolo liscio. All'osservazione ultrastrutturale i GIST manifestano caratteristiche citologiche di cellule mesenchimali scarsamente differenziate, con la presenza sporadica di giunzioni simil-desmosomiali, e, nel gatto, di numerose ed articolate interdigitazioni citoplasmatiche ([figura 4](#)).

***Discussione***

In patologia umana i GIST, sebbene rari in termini assoluti, rappresentano la maggioranza delle neoplasie mesenchimali che colpiscono il complesso GI. Per definizione sono descritti come neoplasie mesenchimali GI composte da cellule

epitelioidi, fusiformi o pleomorfe, positive al marcatore immunoistochimico KIT (CD117)<sup>8</sup>. Possono manifestarsi come piccole neoformazioni nodulari intramurali o sottosierose a decorso benigno, oppure come voluminose masse, che possono coinvolgere tutto lo spessore della parete ed avere comportamento maligno. Lo stomaco è solitamente sede di forme benigne e rappresenta la localizzazione più comune (60-70%), mentre nelle altre sedi (piccolo intestino: 20-30%; colon-retto: 5%; esofago: <5%) prevalgono le forme a decorso maligno.

L'ipotesi considerata più attendibile è che questi tumori derivino dalle cellule interstiziali di Cajal (ICC), uniche nel tratto gastrointestinale, oltre ai mastociti, ad esprimere fisiologicamente il CD117. Le ICC sono cellule mesenchimali poco differenziate, la cui funzione sembra quella di cellule "pacemaker", in grado cioè di generare lente e ritmiche contrazioni ondulatorie nella muscolatura gastrointestinale. Le ICC sono state isolate, osservate e descritte in tutto il tratto GI di molti mammiferi, ed, in particolare, nell'uomo, nel ratto, nel coniglio, nella cavia, nel cavallo, nel cane e nel gatto<sup>6</sup>. Recentemente si è evidenziata nelle ICC l'iperespressione della proteina KIT (o CD117), dimostrabile tramite reazione immunoistochimica che permette di osservare una forte ed omogenea positività citoplasmatica e di riconoscere cellule di forma fusata, con lunghi e sottili prolungamenti citoplasmatici, inframmezzate a fasci di fibrocellule muscolari lisce ed intorno ai plessi del sistema nervoso periferico. Il CD117 è una proteina recettoriale di membrana codificata dal proto-oncogene *c-kit* facente parte della famiglia delle tirosina chinasi, che è in grado di attivare la proliferazione cellulare e sembra implicata nel dirigere ed indirizzare cellule mesenchimali totipotenti verso una differenziazione in ICC mature. Nei GIST dell'uomo è spesso riscontrata una mutazione del proto-oncogene *c-kit*<sup>5</sup>, responsabile della produzione di una proteina anomala in grado di legarsi al dominio intracellulare ATPasico del recettore e scatenare l'attivazione dei segnali intercellulari che portano ad una incontrollata proliferazione cellulare.

In patologia veterinaria il termine "tumori stromali gastrointestinali" è stato usato già nel 1997 nel cane<sup>7</sup>, ma solo più recentemente l'acronimo GIST è stato utilizzato nella sua accezione corretta, e non come sinonimo di neoplasia mesenchimale in genere, nel cane e nel cavallo<sup>1,2,3,4</sup>. Anche nel cane, come nell'uomo, è stata inoltre osservata un'analoga mutazione genomica<sup>3</sup>, che apre interessanti prospettive sul possibile utilizzo in medicina veterinaria di un farmaco inibitore delle tirosina-chinasi (imatinib mesylato), che in oncologia umana ha dimostrato ottimi risultati nel bloccare la crescita tumorale.

### **Conclusioni**

I GIST si propongono pertanto, fra le neoplasie gastrointestinali, come categoria diagnostica indipendente rispetto alle neoplasie d'origine muscolare, per la cui

diagnosi risulta indispensabile la positività immunohistochemica al CD117. Ulteriori studi dovranno essere effettuati al fine di analizzare, in una più ampia casistica, la prevalenza di questi tumori, e valutare se alla diversa istogenesi corrisponda anche un diverso comportamento biologico.

***Bibliografia***

- 1. Bettini G., Morini M., Marcato P.S. (2003). Gastrointestinal spindle cell tumours of the dog: histologic and immunohistochemical study. *Journal Comparative Pathology*, in stampa.
- 2. Del Piero F., Summers B.A., Cummings J.F., Mandelli G. and Blomme E.A. (2001). Gastrointestinal stromal tumors in equids. *Veterinary Pathology*, **38**, 689-697.
- 3. Frost D., Lasota J. and Miettinen M. (2003). Gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas in the dog: a histopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 50 cases. *Veterinary Pathology*, **40**, 42-54.
- 4. Hafner S., Harmon B.G. and King T. (2001). Gastrointestinal stromal tumors of the equine cecum. *Veterinary Pathology*, **38**, 242-246.
- 5. Hirota S., Isozaki K., Moriyama Y., Hashimoto K., Nishida T. et al. (1998). Gain-of-function mutation of *c-kit* in human gastrointestinal stromal tumors. *Science*, **279**, 577-580.
- 6. Komuro, T. (1999). Comparative morphology of interstitial cells of Cajal: ultrastructural characterisation. *Microscopy Research and Technique*, **47**, 267-285.
- 7. LaRock R.G. and Ginn P.E. (1997). Immunohistochemical staining characteristics of canine gastrointestinal stromal tumors. *Veterinary Pathology*, **34**, 303-311.
- 8. Miettinen M. and Lasota J. (2001). Gastrointestinal stromal tumors - clinical, histological, immunohistochemical and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Archiv*, **438**, 1-12.
- 9. Sandberg A.A. and Bridge J.A. (2002). Updates on the cytogenetics and molecular genetics of bone and soft tissue tumors: gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **135**, 1-22.

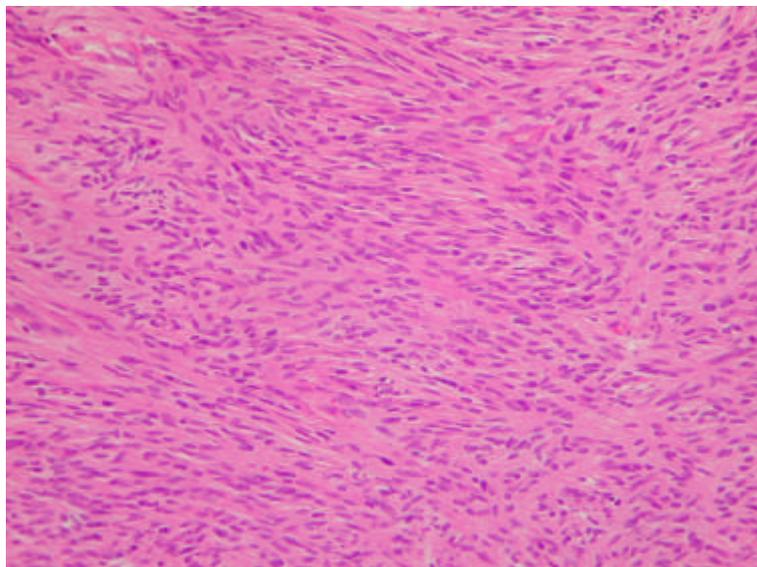


Figura 1: Duodeno, cane, GIST. Fasci e vortici intrecciati di cellule fusiformi fittamente stipate. E-E, piccolo ingrandimento.

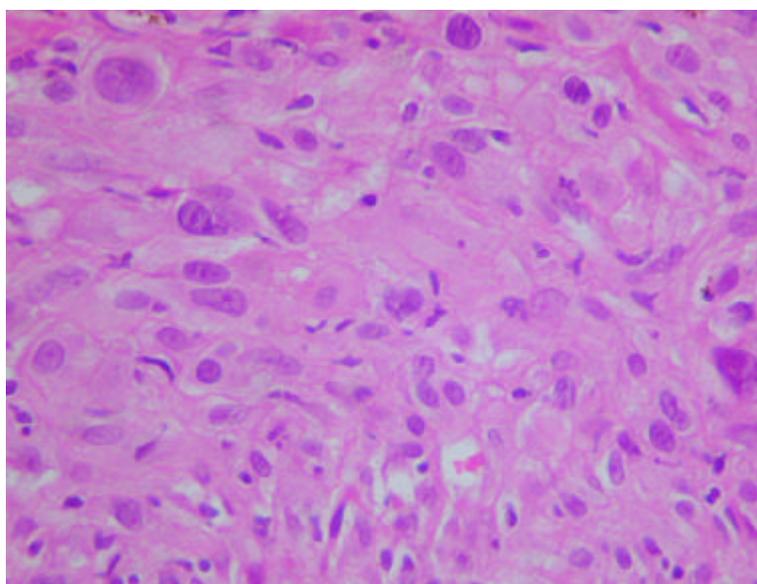


Figura 2: Duodeno, cane, GIST. Cellule poligonali, con discreto pleomorfismo, che compongono un'area della neoplasia. E-E, forte ingrandimento.

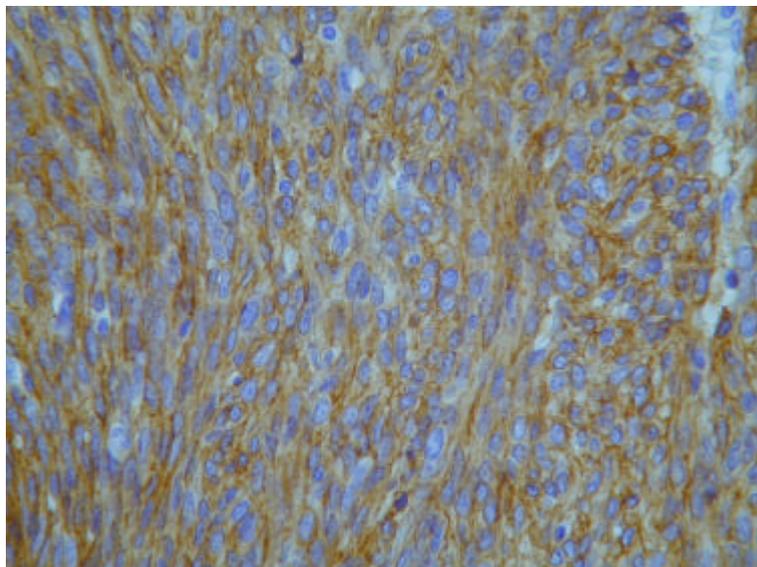


Figura 3: Duodeno, cane, GIST. Marcata ed omogenea positività citoplasmatica delle cellule tumorali. CD117, forte ingrandimento.

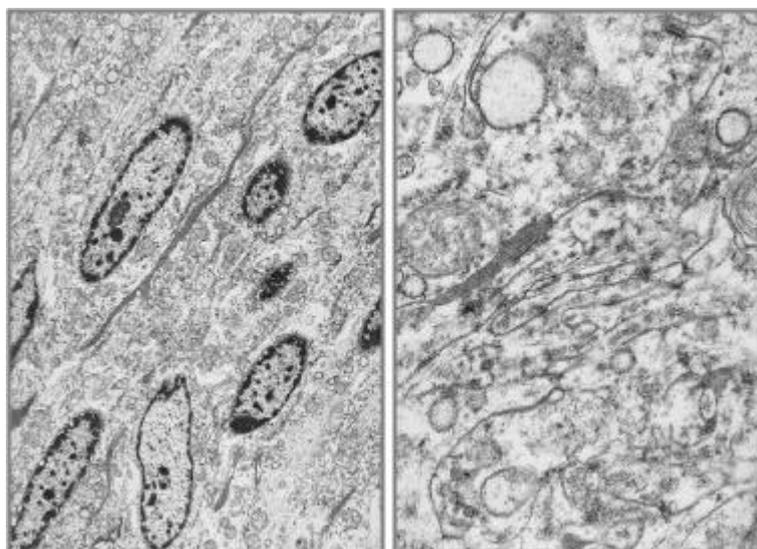


Figura 4: Stomaco, gatto, GIST. Numerose ed articolate interdigitazioni citoplasmatiche. Microscopio elettronico a trasmissione, 2.800x (immagine a sinistra); 14.500x (immagine a destra)

## **LIPOSARCOMA IN SEDE DI APPLICAZIONE DEL MICROCHIP IN UN CANE**

*Vascellari Marta\**, *Mutinelli Franco\**, *Cossettini Romina\*\**,  
*Altinier Emanuela \*\**

(\*) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10 35020 Legnaro (PD); (\*\*) Libero Professionista, Via Tulipifero 11, 33080 Porcia (PN)

---

### **Summary**

#### ***Liposarcoma at the site of implanted microchip in a dog***

A subcutaneous neoplastic mass was surgically removed craniodorsally to the top of the left shoulder blade of a 11-year-old, male, mixed breed dog at the site of microchip implant. The microchip was implanted in April 2000. At the time of removal (March 2003), the mass was 10x6 cm in diameter. The presence of the microchip within the mass was demonstrated radiographically and was confirmed on sectioning. Macroscopically, the mass was dark reddish due to haemorrhages and crumbly on sectioning. Histologically, it was composed of readily recognizable adipose cells and pleomorphic cells with round nuclei and abundant cytoplasm containing lipid droplets. Few mitotic figures and some multinucleated giant cells were observed. According to the histopathological findings, a diagnosis of liposarcoma was made. Despite the huge number of microchips that are implanted annually in pets, the number of adverse reactions reported is limited, with migration, loss from the body and failure to work being the most common. In contrast, inflammatory reactions such as swelling and abscess are unusual. Tumours have never before been associated with microchip implantation in pets. Veterinary surgeons are therefore encouraged to check the microchips that have been implanted to pets at least annually, e.g. when they come in for vaccinations, and report any adverse reaction.

#### ***Parole chiave (key words)***

microchip (microchip), cane (dog), liposarcoma (liposarcoma), corpo estraneo (foreign body).

#### ***Introduzione***

Il microchip è un metodo di identificazione per gli animali d'affezione largamente utilizzato, grazie alle sue caratteristiche di sicurezza, facilità di applicazione e

inalterabilità. Il microchip è costituito da una capsula di vetro contenente il trasmettitore. Una volta inserito in sede sottocutanea, il microchip viene ancorato ai tessuti grazie ad una reazione fibroconnettivale degli stessi. Alcune reazioni indesiderate quali migrazione dalla sede di impianto, espulsione dal tessuto sottocutaneo, mancato funzionamento e processi infiammatori a carattere ascessuale (Shift, 1997; 2002) sono state segnalate in seguito all'impianto del microchip negli animali d'affezione.

### ***Materiali e metodi***

Nel marzo 2003 un cane meticcio, maschio, di undici anni è stato sottoposto a visita clinica in seguito all'osservazione, da parte del proprietario, di una neoformazione, non ulcerata, localizzata nel sottocute del collo cranialmente alla spina della scapola sinistra. Il cane era regolarmente vaccinato ed identificato mediante applicazione del microchip, avvenuta nell'aprile 2000. Il veterinario, in seguito all'attuazione dell'esame fisico generale, degli esami ematobiochimici e radiografici ha deciso per l'asportazione chirurgica della neoformazione, eseguita in anestesia generale. La massa escissa è stata immediatamente fissata in formalina tamponata al 10% e processata per l'esame istologico.

### ***Risultati***

La neoformazione presentava un diametro di 10 x 6 cm, ed era localizzata nel sottocute del lato sinistro del collo, cranialmente alla spina della scapola. Il microchip è stato visualizzato all'interno della massa, nella porzione più basale della stessa, con l'ausilio dell'intensificatore di brillantezza. In sede chirurgica, eseguita in anestesia generale, la neoformazione si presentava riccamente vascolarizzata, ma ben isolata dai tessuti circostanti. La consistenza era friabile al taglio ed il microchip è stato estratto integro dalla massa neoformata. Istologicamente, la massa era composta da cellule adipose ben differenziate a cui si alternavano cellule pleomorfe, con nuclei rotondi e abbondante citoplasma contenente vacuoli lipidici. La massa presentava setti fibrosi al suo interno, senza tuttavia che vi fosse la formazione di una capsula. Erano presenti rare figure mitotiche e alcune cellule giganti multinucleate da corpo estraneo. La diagnosi emessa è stata di liposarcoma a basso grado di malignità.

### ***Discussione***

Il microchip viene utilizzato su larga scala per l'identificazione degli animali d'affezione, in particolare cani e gatti. Nei piccoli animali le segnalazioni di reazioni indesiderate all'applicazione del microchip sono modeste e comprendono la migrazione dal punto di applicazione, espulsione dalla sede

d'impianto, mancato funzionamento e processi infiammatori a carattere ascessuale. In ratti (Elcock *et al.*, 2001) e topi (Tillman *et al.*, 1997) da laboratorio è stata segnalata l'insorgenza di neoplasie mesenchimali in sede di applicazione del microchip. Nel cane il liposarcoma è una neoplasia ad insorgenza piuttosto rara, di cui non è stato individuato un agente causale. E' segnalato in letteratura un caso di liposarcoma insorto nella sede di impianto accidentale di una scheggia di vetro nel tessuto sottocutaneo di un cane (McCarthy *et al.*, 1996). Le caratteristiche istopatologiche erano confrontabili con quelle della neoplasia descritta nel presente lavoro.

### **Conclusioni**

Sulla base della letteratura esistente, quello descritto è il primo caso di neoplasia insorta in sede di applicazione del microchip descritto negli animali d'affezione. Sebbene non sia possibile trarre alcuna conclusione di causa-effetto, si vuole tuttavia sottolineare l'importanza del monitoraggio dei microchip applicati e della segnalazione di eventuali reazioni indesiderate.

### **Bibliografia**

- Elcock, L.E., Stuart, B.P., Wahle, B.S., Hoss, H.E., Crabb, K., Millard, D.M., Mueller, R.E., Hasting, T.F. & Lake, S.G. (2001). Tumors in long-term rat studies associated with microchip animal identification devices. *Experimental Toxicological Pathology* **52**, 483-491.
- McCarthy, P.E., Hedlund, C.S., Veazy, R.S., Prescott-Mathews, J. & Cho, D.-Y. (1996). Liposarcoma associated with a glass foreign body in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **209**, 612-614.
- Swift, S. (1997). Microchip adverse reactions reporting scheme. *Journal of Small Animal Practice* **38**, 370.
- Swift, S. (2002). Keeping track of microchip adverse reactions. *Journal of Small Animal Practice* **43**, 570.
- Tillmann, T., Kamino, K., Dasenbrock, C., Ernst, H., Kohler, M., Morawietz, G., Campo, E., Cardesa, A., Tomatis, L. & Mohr, U. (1997). Subcutaneous soft tissue tumours at the site of implanted microchips in mice. *Experimental Toxicological Pathology* **49**, 197-200.

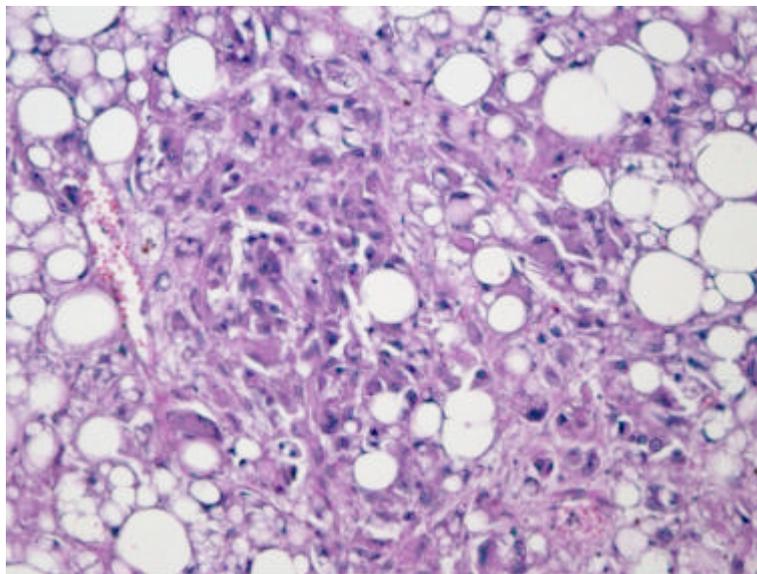


Figura 1: aspetto istologico della neof ormazione: sono presenti cellule adipose ben differenziate e cellule pleomorfe con citoplasma contenente vacuoli lipidici. (E&E, 20X)

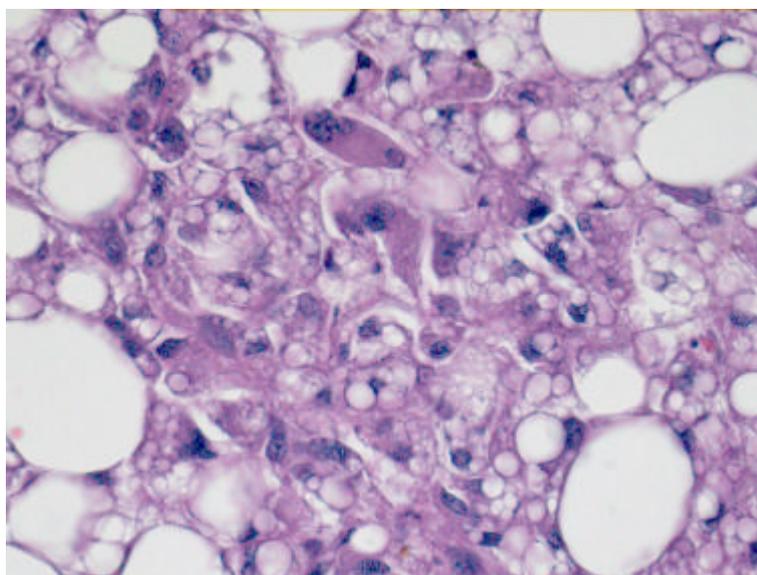


Figura 2: presenza di cellule giganti multinucleate da corpo estraneo. (E&E, 40X)

**IDENTIFICAZIONE DEI MASTOCITI NEL LIQUIDO DI  
LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE (BAL) DEL CAVALLO  
AI FINI DELLA DIAGNOSI DI MALATTIA  
INFIAMMATORIA DELLE VIE AEREE DISTALI (SAID)**

*Palmieri Chiara, \*Mascioni Angela, Marruchella Giuseppe,  
Bongiovanni Laura, Malatesta Daniela, Romanucci Maria  
Rita, Di Guardo Giovanni, Della Salda Leonardo*

Università degli Studi di Teramo – Facoltà di Medicina Veterinaria, Dipartimento di Scienze Biomediche Comparate; \* Medico Veterinario Libero Professionista, Roma

---

**Summary**

***Identification of mast cells in equine bronchoalveolar lavage fluid (BALF) for the diagnosis of small airway inflammatory disease (SAID)***

Small Airway Inflammatory Disease (SAID) is an allergic respiratory disease, cause of poor performance among racing horses and represent the early stage of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). The cytologic analysis of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) is an useful diagnostic tool, especially in subclinic forms of SAID. Nevertheless, there are serious troubles in the diagnosis of SAID characterized only by an increase number of mast cells, that are barely distinguished with routine stainings. The purpose of this study was to search an appropriate staining for the identification of mast cells in equine BALF, that would combine an easy and fast execution, with an high specificity in the identification of these cells by means of the typical metachromasia of their granules.

The bronchoalveolar lavage was performed in 10 saddle-horses and 1 pony (age range: 6-20 years). The BALF was centrifugated, the supernatant was aspirated and smears were air-dried. For each BALF sample, two slides were prepared and stained with modified Wright-Giemsa (Diff Quik) and several toluidine blue' protocols described in human and veterinary literature. In Diff Quik stained slides, differential cell count was determined by the examination of 200 consecutive leukocytes and the cellular typologies, as well as the presence of acellular material, were evaluated. In toluidine blue stained slides, the mast cells were counted in consecutive fields up to a totals of 200 cells.

In five cases, the best procedure of toluidine blue staining confirmed the cytologic diagnosis of SAID and COPD made by means of observation of Diff Quik stained slides and in two cases the cytologic profile was normal. The most interesting results were obtained in four cases in which it was possible to make a cytologic diagnosis of SAID only by means of the observations of an increase mast cells' number (median value: 6.75%; normal value: < 2%) in toluidine blue stained slides, against a normal cytologic profile in Diff Quik stained slides. The present study demonstrated the importance of toluidine blue staining for the identification of mast cells in horses with asymptomatic SAID, not revealed using routine cytologic stainings. The procedure applied turned out to be very useful for bringing out the mast cells' metachromasia and it is characterized by a simple and fast execution, in accordance with the immediateness of cytologic analysis.

***Parole chiave (key words)***

Mastociti (mast cells), lavaggio broncoalveolare (bronchoalveolar lavage), citologia (citology), cavallo (horse), polmone (lung).

***Riassunto***

La malattia infiammatoria delle vie aeree distali (SAID) è una patologia respiratoria a sfondo allergico causa di scarso rendimento nei cavalli da corsa, identificabile con lo stadio iniziale della bronchite cronica ostruttiva (COPD). Un valido ausilio diagnostico, in particolare nelle forme subcliniche, risulta essere l'esame citologico del liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL). Tuttavia, gravi difficoltà sorgono nel riconoscimento delle forme di SAID caratterizzate unicamente da aumento del numero dei mastociti, data l'incapacità delle normali colorazioni di routine di svelare la presenza di tali cellule. Scopo di questo studio è stata la ricerca di una colorazione idonea per l'evidenziazione dei mastociti nel BAL equino, che associasse alla facilità e rapidità di esecuzione un'alta specificità nell'identificazione di tali cellule attraverso il fenomeno della metacromasia.

Il lavaggio broncoalveolare è stato eseguito su 10 cavalli da sella e 1 pony, di età compresa tra i 6 e i 20 anni. Dopo centrifugazione ed eliminazione del surnatante, il materiale è stato strisciato ed asciugato all'aria. Di ogni campione sono stati preparati due vetrini, colorati rispettivamente con una colorazione Wright-Giemsa modificata (Diff Quik) e con diversi protocolli di blu di toluidina descritti in letteratura umana e veterinaria. Nei vetrini colorati con Diff Quik è stata eseguita la conta cellulare differenziale ad un ingrandimento di 400x su un totale di 200 leucociti e la valutazione della popolazione cellulare presente e di

materiale non cellulare. Nei vetrini colorati con blu di toluidina è stata eseguita la conta dei mastociti su un totale di 200 cellule.

In 5 casi la colorazione con il blu di toluidina risultata più idonea ha confermato la diagnosi citologica di SAID e COPD effettuata attraverso l'osservazione dei vetrini colorati con Diff Quik e in 2 casi il quadro citologico è risultato normale applicando entrambe le colorazioni. I risultati più interessanti sono emersi in 4 casi in cui è stato possibile diagnosticare la forma di SAID con mastocitosi unicamente attraverso l'osservazione dell'incremento delle cellule metacromatiche (media : 6.75%; valore normale : < 2%) nel vetrino colorato con il blu di toluidina, a fronte di un quadro citologico perfettamente normale nel vetrino colorato con Diff Quik. I risultati del presente studio hanno evidenziato l'importanza dell'utilizzazione del blu di toluidina nella ricerca dei mastociti in soggetti con forme asintomatiche di SAID, non altrimenti svelate dalle comuni colorazioni citologiche. Il protocollo adottato si è dimostrato particolarmente valido nell'evidenziazione della metacromasia mastocitaria e di rapida ed agevole esecuzione, consone all'immediatezza dell'analisi citologica.

**MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, M. BOVIS E M. AVIUM INFLUENZANO LO STRESS OSSIDATIVO IN MACROFAGI DI TOPO E MONOCITI UMANI IN COLTURA**

*Pregel Paola\**, *Bollo Enrico\**, *Dondo Alessandro<sup>#</sup>*, *Biolatti Bartolomeo\**

\*Dipartimento di Patologia Animale, Università degli studi di Torino; <sup>#</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale - Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta.

---

**Summary**

***Mycobacterium tuberculosis, M. bovis and M. avium influence oxidative stress in mouse macrophages and human monocytes in culture***

Oxidative stress is involved in the pathogenesis of several diseases, such as infections, cancer and ageing. Aim of our work was to evaluate oxidative stress in a cell culture model of mycobacterial infection. Supernatants collected after 2, 4, 24 and 48 hours from murine macrophage and human monocyte cultures infected with *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* and *M. avium* were evaluated for oxidative stress using the P.A.O.-MED-DIA kit. In control samples an early phase of decrease, followed by an increase of anti-oxidative activity was detected. The supernatants obtained from all the infected cultures showed, at each collection time, anti-oxidative activity values lower than controls and constant in time. Probably, oxidative stress detected in supernatants from infected cultures is lower than controls, because cells don't release any anti-oxidant in the medium, needing to survive the bacterial invasion. Besides, microorganism's uptake of antioxidants could counteract the cellular defences, contributing to diminish antioxidant activity in supernatants.

***Parole chiave (key words)***

Mycobacterium (Mycobacterium), stress ossidativo (oxidative stress), macrofagi (macrophages), monociti (monocytes), colture (cultures).

### ***Introduzione***

Lo stress ossidativo sembra essere coinvolto nella patogenesi di diverse malattie, quali aterosclerosi, infezioni, cancro e invecchiamento. La concentrazione e l'efficienza dei sistemi antiossidanti sono molto importanti per la resistenza delle cellule allo stress ossidativo.

### ***Materiali e metodi***

Lo scopo del presente lavoro è stato di valutare l'efficienza globale dei sistemi antiossidanti in un modello *in vitro* costituito da colture di monociti umani e macrofagi di topo infettate sperimentalmente con tre diversi ceppi di micobatteri (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* e *M. avium*). Trascorse 2, 4, 24 e 48 ore dall'infezione delle cellule con i micobatteri ( $5-6 \times 10^8$  UFC), il surnatante delle colture veniva prelevato e testato per determinarne l'attività antiossidante mediante il kit P.A.O. (MED-DIA), in riferimento ad una curva di taratura ottenuta con campioni a concentrazione nota di acido urico, utilizzato come tipico agente riducente. L'attività antiossidante veniva quantificata anche in colture di controllo (cellule non infette, terreno di coltura da solo o inoculato con ciascuno dei tre ceppi di micobatteri).

### ***Risultati***

Nei campioni di controllo, è stata rilevata nelle fasi precoci una riduzione dell'attività antiossidante, seguita da una successiva fase di aumento. I surnatanti ottenuti da tutte le colture infette presentavano invece, ad ogni tempo di prelievo, valori dell'attività antiossidante inferiori rispetto ai controlli e costanti nel tempo. L'attività antiossidante veniva espressa sia come  $\mu\text{mol/l}$  sia in percentuale (rispetto al valore più elevato riscontrato nelle cellule non infette). I campioni di controllo (terreno di coltura da solo e terreno inoculato con i tre ceppi di micobatteri) non presentavano alcuna attività antiossidante.

### ***Discussione.***

È possibile formulare diverse ipotesi. Le cellule non infette devono controllare lo stress provocato dalle condizioni colturali e, in seguito, dall'esaurimento del terreno di coltura e dall'invecchiamento della coltura; nelle prime fasi della coltura l'assunzione dei nutrienti e delle sostanze antiossidanti presenti nel terreno da parte delle cellule potrebbe essere la causa della diminuzione dell'attività antiossidante nei surnatanti. Dopo 24-48 ore, le cellule sono in grado con molta probabilità di indurre una propria produzione di antiossidanti, rilasciati nel terreno, con un conseguente aumento dell'attività antiossidante rilevata nel

surnatante. Presumibilmente, l'attività antiossidante osservata nei surnatanti delle colture infette è bassa, in quanto le cellule, sottoposte ad un elevato stress ossidativo, non rilasciano antiossidanti nel terreno, dovendo sopravvivere all'invasione batterica.

***Conclusione***

I risultati ottenuti con il presente studio hanno consentito di verificare che l'infezione sperimentale delle colture di monociti umani e macrofagi murini con i tre diversi ceppi di micobatteri ha prodotto una considerevole variazione nella presenza di sostanze antiossidanti rilasciate nel terreno di coltura. Ciò induce a pensare che le cellule, dovendo sopravvivere all'invasione batterica ed essendo sottoposte ad un elevato stress ossidativo, rilascino nel surnatante della coltura quantità di sostanze antiossidanti marcatamente inferiori rispetto alle colture di controllo. Inoltre, l'assunzione di tali sostanze da parte del microrganismo potrebbe contrastare le difese cellulari, contribuendo a diminuire l'attività antiossidante nei surnatanti.

**MICOBATTERIOSI ITTICA DA *MYCOBACTERIUM FORTUITUM* NEL BRANZINO  
(*DICENTRARCHUS LABRAX* L.)**

*Sarli Giuseppe, Zanoni Renato Giulio, Preziosi Rosario,  
Florio Daniela, \*Prearo Marino*

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale – Bologna;  
\*Laboratorio di Ittiopatologia - IZS Torino.

---

**Summary**

***Piscine mycobacteriosis by *Mycobacterium fortuitum* in sea bass  
(*Dicentrarchus labrax* L.)***

Using sea bass (*Dicentrarchus labrax*) as a model for the study of piscine mycobacteriosis was carried out by intraperitoneal injecting *Mycobacterium fortuitum*. The animals developed multiple granulomas in peritoneum, intestine, kidney, liver and spleen, at the 1<sup>st</sup> post infection (p.i.) week. An enlargement and confluence of granulomas was revealed in the 2<sup>nd</sup> p.i. week, while the characterizing lesions in the 3<sup>rd</sup> p.i. week were necrosis and fibrosis mainly in the peritoneal granulomas and to a lesser extent in other organs.

***Parole chiave (key words)***

Branzino (sea bass), micobatteriosi (mycobacteriosis), *Mycobacterium fortuitum* (*Mycobacterium fortuitum*), infezione sperimentale (experimental infection).

***Introduzione***

Le micobatteriosi dei pesci sono malattie sistemiche ad andamento cronico sostenute da batteri appartenenti al genere *Mycobacterium* (tra i più frequenti *M. marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*) (3, 4). Tali agenti eziologici, che sono oggi annoverati come NTM (non tuberculous mycobacteria) o MOTT (mycobacteria other than tuberculosis), sono causa di patologie anche nell'uomo. Le micobatteriosi stanno acquisendo sempre maggiore attenzione sia in ambito ittico (interessano sia specie ornamentali che d'allevamento) che umano. Segnalazioni di forme spontanee di micobatteriosi in pesci sono numerose, mentre frammentarie sono le informazioni sulla patogenesi della

---

malattia in modelli sperimentali (2, 6-8) ([figura1](#)). Tale frammentarietà deriva dal fatto che le specie ittiche in cui la malattia è stata riprodotta sono diverse (*Carassius auratus*, *D. labrax*, *Morone saxatilis*, *Oreochromis* sp.) come pure differenti sono i micobatteri impiegati per l'infezione (*M. marinum*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*). A ciò si aggiunga che alcune informazioni, come la modalità di eliminazione da parte di soggetti infetti, sono a tutt'oggi non dimostrate. Quindi è importante creare dei modelli sperimentali della malattia, che siano di facile realizzazione e riproducibili, per indagini sulla patogenesi e sull'epidemiologia.

### **Materiali e metodi**

Branzini (*Dicentrarchus labrax*) di 8-10g sono stati inoculati a livello intraperitoneale con *Mycobacterium fortuitum* a tre diversi dosaggi di inoculo ( $10^4$ ,  $10^5$  e  $10^7$  ufc/10g pv). Prima dell'inizio della sperimentazione, su 25 soggetti sono state condotte analisi al fine di escludere infezioni batteriche o parassitarie. Da nessun soggetto è stato isolato *Mycobacterium* sp. Trenta soggetti del gruppo di controllo sono stati inoculati per via intraperitoneale solo con PBS. Tre soggetti provenienti da ogni dosaggio di inoculo, nonché i soggetti di controllo alla fine dell'esperimento (10 settimane), sono stati soppressi a 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 10 settimane ed impiegati a) per l'isolamento batteriologico e b) per l'esame istologico di routine. Per l'esame batteriologico porzioni di organo venivano sottoposte all'esame colturale per micobatteri. Per l'esame istologico i soggetti sono stati fissati interi previa asportazione di un tassello di parete addominale per permettere una più rapida penetrazione della formalina negli organi interni. Dai soggetti sono stati isolati campioni di cute e piano muscolare sottostante, fegato, rene, milza, intestino, peritoneo che sono stati inclusi in paraffina e, sezioni istologiche di 4  $\mu$ , sono state colorate con ematossilina-eosina e Ziehl-Neelsen.

### **Risultati**

Da tutti i soggetti inoculati è stato reisolato il ceppo batterico usato per l'infezione. Indipendentemente dal dosaggio dell'inoculo le lesioni si sono riscontrate sovrapponibili. Ad una settimana post-infezione (p.i.) si osservava frequentemente una peritonite granulomatosa ([figura 2](#)), con aggregati nodulari di istiociti e rari linfociti alla periferia. Nella milza i centri melano-macrofagici erano iperplastici o con lesione granulomatosa simile a quella già riferita. Poco frequenti apparivano nel fegato e rene microgranulomi formati da accumulo interstiziale di istiociti e rari linfociti. In soli due soggetti si è riscontrata una enterite granulomatosa transmurale. In tutti i granulomi si rilevavano, con la colorazione di Ziehl-Neelsen, rari acido-resistenti. Le lesioni della 2<sup>a</sup> settimana differivano per una maggiore estensione alle sierose della peritonite

granulomatosa con anche focolai perisplenici, periepatici ed in continuità con la sierosa intestinale. Rari e di modesta entità apparivano i focolai di necrosi nelle lesioni granulomatose che, solo in 3<sup>a</sup> settimana, assumevano maggiore estensione ed erano accerchiate da un vallo connettivale (figura 3). La comparsa della necrosi era associata ad elevate quantità di acido resistenti (figura 4). I tipici focolai granulomatosi con fibrosi accerchiante erano un reperto tipico della milza e del peritoneo, in cui i focolai, ampliandosi, tendevano alla confluenza. Nel fegato e rene, invece, i focolai tendevano a rimanere come granulomi senza necrosi, con scarsa tendenza alla confluenza e alla delimitazione fibrosa. Dopo la 3<sup>a</sup> settimana era frequente il riscontro di granulomi, sia peritoneali che parenchimali, recenti senza necrosi e fibrosi accerchiante accanto ad altri con necrosi precedentemente formati.

### ***Discussione.***

Le lesioni riprodotte nel presente modello sperimentale ricalcano quelle note in letteratura sia per casi spontanei (1, 3-5) che sperimentali (2, 6-8) della malattia. E' infatti nota la presenza di lesioni granulomatose in diversi parenchimi (fegato, rene, milza) nonché di una peritonite granulomatosa. In letteratura è discordante, sia in casi spontanei che sperimentali, la definizione delle caratteristiche dei granulomi, in termini di presenza di cellule giganti, necrosi, calcificazione e fibrosi. La forma più frequentemente riportata annovera la presenza di granulomi in cui prevalgono istiociti e/o cellule epitelioidi, ma non sempre le cellule giganti. Sono però presenti la necrosi (non sempre riferita come caseosa) e la fibrosi accerchiante (1, 5). La calcificazione delle aree di necrosi è riportata in casi spontanei o in forme sperimentali molto vecchie (1, 5). Nei casi da noi osservati la lesione più frequente è stata la peritonite, sicuramente legata anche alla via di inoculazione. La coesistenza di lesioni più recenti (assenza di necrosi e di fibrosi accerchiante) associata a lesioni più vecchie (presenza di necrosi e fibrosi) era prevalente nel peritoneo ed in minore misura negli organi parenchimali. Ciò ricalca la situazione patogenetica della diffusione ematogena nella tubercolosi primaria del bovino. Resta quindi da definire se nelle micobatteriosi ittiche la diffusione ematogena, sia primaria che secondaria, sia una evenienza importante. Non si deve escludere l'infezione per continuità a partire da liquido peritoneale infetto, peraltro sospettata nella trasmissione transovarica. Nel confronto con altri modelli sperimentali (2, 6-8) va sottolineata la maggiore precocità delle lesioni che nel modello qui rappresentato si sono rilevate già alla 1<sup>a</sup> settimana p.i. anche con il dosaggio più basso, mentre in altre indagini con bassi dosaggi si registravano le prime lesioni tra 4-8 settimane p.i. oppure la mortalità precoce p.i. con dosaggi più elevati.

**Conclusione**

Si ritiene che il modello realizzato nel branzino, specie ittica di facile reperibilità, allevata, e quindi di interesse pratico, abbinato ad un micobatterio c.d. "a rapida crescita" e risultato particolarmente patogeno per l'ospite impiegato, permetta di riprodurre la malattia in tempi molto brevi, e possa essere validamente impiegato per indagini sulla patogenesi ed epidemiologia della micobatteriosi ittica.

**Bibliografia**

- 1. Chinabut S: Mycobacteriosis and nocardiosis. In: Woo PTK e Bruno DW: Fish disease and disorders, vol. 3, Viral, bacterial and fungal infections. Eds. Woo PTK e Bruno DW, CABI Publishing, 319-340, 1999.
- 2. Colorni A., Avtalion R, Knibb W, Berger E, Colorni B, Timan B: Histopathology of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) experimentally infected with *Mycobacterium marinum* and treated with streptomycin and garlic (*Allium sativum*) extract. Aquaculture, 160, 1-17, 1998.
- 3. Noga EJ: Fish disease diagnosis and treatment. Mosby, 1996.
- 4. Roberts RJ: Fish pathology. Third Ed., WB Saunders, 2001.
- 5. Schäperclaus W: Fish diseases. 5<sup>th</sup> Ed, A.A. Balkema, Rotterdam, 1992.
- 6. Talaat AM, Reimschuessel R, Wasserman SS, Trucksis M: Goldfish, *Carassius auratus*, a novel animal model for the study of *Mycobacterium marinum* pathogenesis. Infect. Immun., 66(6), 2938-2942, 1998.
- 7. Talaat AM, Trucksis M, Kane AS, Reimschuessel R: Pathogenicity of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium smegmatis* to goldfish, *Carassius auratus*. Vet. microbiol., 66, 151-164, 1999.
- 8. Wolf JC e Smith SA: Comparative severity of experimentally induced mycobacteriosis in striped bass *Morone saxatilis* and tilapia *Oreochromis* spp. Dis. Aquat. Org. 38, 191-200, 1999.

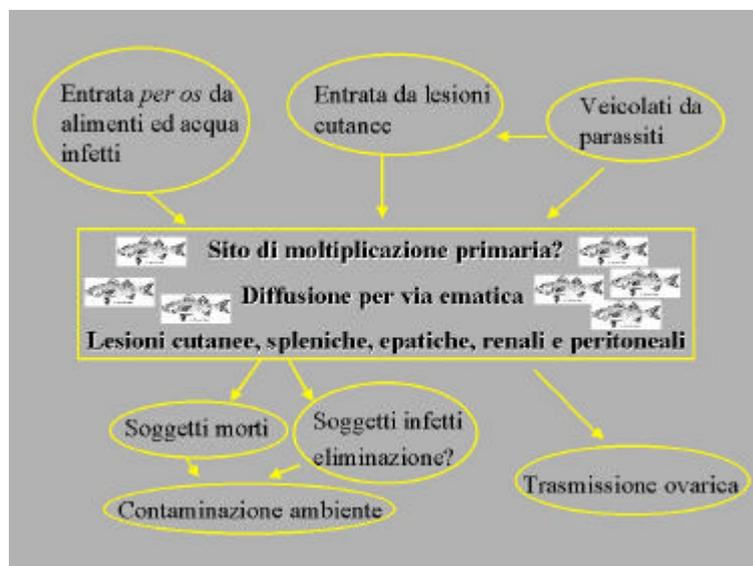


Figura 1. Patogenesi dell'infezione nelle micobatteriosi ittiche.

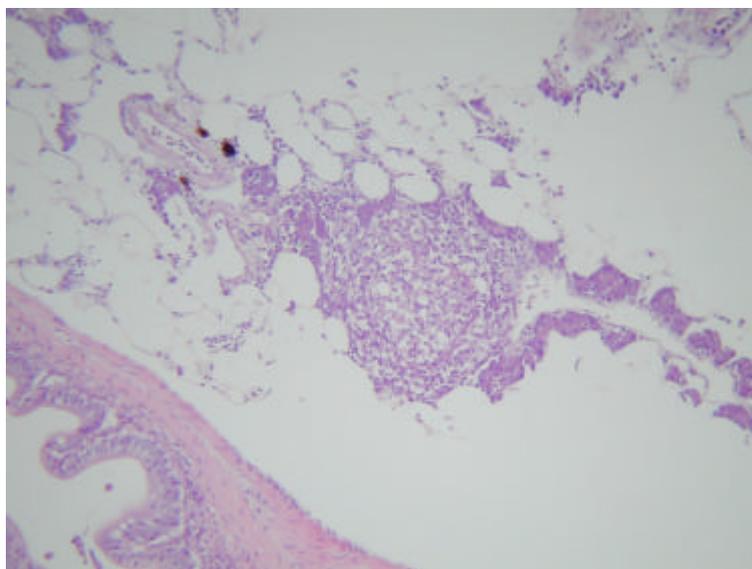


Figura 2. Branzino. Peritoneo. Granuloma senza necrosi. 1 settimana p.i. 20x.

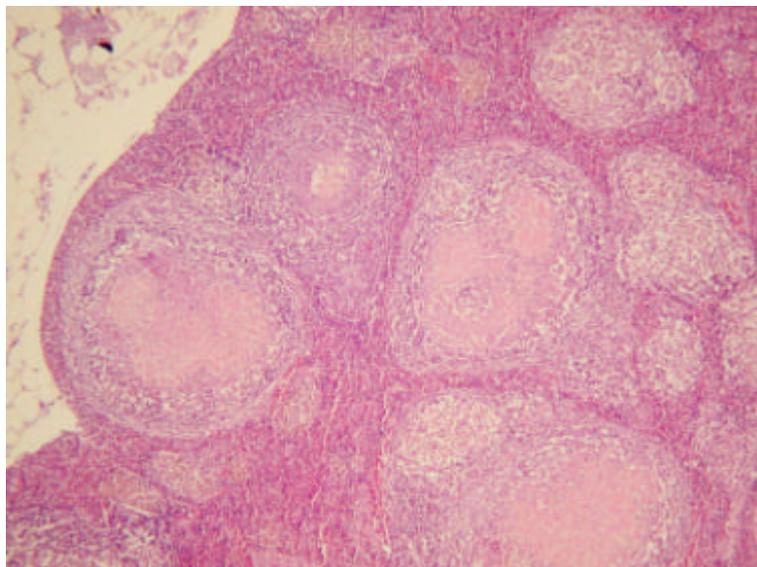


Figura 3. Branzino. Milza. Granulomi multipli con necrosi e fibrosi accerchiante. 3 settimane p.i. 10x.

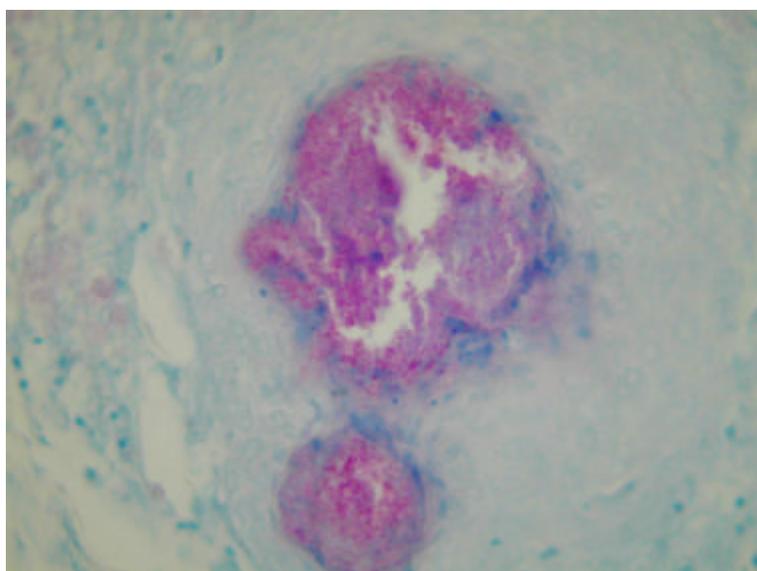


Figura 4. Branzino. Peritoneo. Granuloma con necrosi e presenza di numerosi acido-resistenti. 4 settimane p.i. Ziehl-Neelsen, 63x.

**ALTERAZIONI EMATOLOGICHE E DELLA  
FUNZIONALITA' IMMUNITARIA ASPECIFICA NEL  
PERIODO DEL PERIPARTO IN BOVINE CON  
ENDOMETRITE**

*Giordano Alessia\*, Sartorelli Paola\*, Spagnolo Valentina\*,  
Gelain Maria Elena\*, Battocchio Massimiliano Leopoldo\*\**

\*Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica veterinaria – Sezione di Patologia Generale e Parassitologia – Università degli Studi di Milano

\*\*Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie – Sezione di Clinica Ostetrica e Ginecologia Veterinaria – Università degli Studi di Milano

---

***Summary***

***Hematological and non-specific defensive changes in periparturient dairy cows affected by endometritis***

Blood samples were collected from nine dairy cows admitted to uterine flushing. Blood collection was repeated 7 times, starting 15 days before partum and ending 28 days after partum. A complete hematological examination and a phagocytosis test were performed on whole blood; on serum, haptoglobin (Hp), total protein, glucose, NEFA and beta-OH butyrate (BOHB) were measured. Within two weeks after parturition six cows showed endometritis. These cows showed a reduced number of leucocytes before partum and decreased phagocytic activity at partum. At the onset of the symptoms of the endometritis, a decrease in leucocyte number and an increase in haptoglobin concentration were observed. However, Hp levels increased about parturition also in healthy animals. A significant negative correlation was observed between phagocytic activity and NEFA and BOHB.

***Parole chiave (key words)***

Bovina da latte (Dairy cow), periparto (peripartum), endometrite (endometritis), immunità (immune defences), aptoglobina (haptoglobin).

***Introduzione***

Le bovine da latte selezionate per un'elevata produzione, nel periodo di transizione tra asciutta e inizio della lattazione, vanno incontro a profonde alterazioni del quadro metabolico ed ormonale. In conseguenza della ridotta ingestione di alimenti che caratterizza il periparto e delle elevate esigenze energetiche dell'apparato mammario, l'organismo deve rivolgersi alle riserve endogene. L'insorgenza di patologie metaboliche (chetosi, sindrome di lipomobilizzazione, collasso puerperale) è frequente ed è spesso associata alla comparsa di malattie infettive (Goff e Horst, 1997). In questo periodo la bovina può andare incontro ad immunodepressione dovuta al passaggio di anticorpi nel colostro, allo stress legato al parto e alle alterazioni metaboliche. Queste ultime, oltre a pregiudicare le potenzialità produttive dell'animale e a ridurre la fertilità (Cook et al., 2001), possono anche indurre alterazioni funzionali dei leucociti che facilitano l'insorgenza di patologie, soprattutto ad eziologia infettiva. In questa indagine abbiamo quindi voluto valutare, in bovine da latte che nel postpartum hanno sviluppato un'endometrite, le modificazioni quali/quantitative e funzionali dei leucociti che si manifestano all'insorgere della patologia, associandole al dosaggio dell'aptoglobina (Hp), quale possibile precoce spia di processo infiammatorio. Allo scopo di individuare possibili fattori predisponenti a patologie infettive, sono state indagate anche le variazioni di alcuni parametri ematochimici indicativi del metabolismo proteico ed energetico, che possono influire negativamente sulle capacità difensive.

***Materiali e metodi***

Da nove bovine in periparto, sottoposte per altre indagini a flushing uterino, sono stati raccolti campioni di sangue con EDTA, eparinato di sodio e senza anticoagulante, da 15 giorni prima del parto fino al termine del primo mese di lattazione, per un totale di 7 prelievi (gruppo1= tra 28 e 11 giorni prima del parto; 2=tra 10 e 2 gg prima; 3= tra 1 giorno prima e 2 dopo il parto; 4=tra 3 e 7 gg dopo; 5= tra 8 e 14 gg dopo; 6=tra 15 e 21 gg dopo; 7=tra 21 e 28 gg dopo).

Sul campione di sangue in EDTA è stato effettuato l'esame emocromocitometrico completo; sul campione in eparina è stato effettuato un test di fagocitosi su sangue in toto (Bellavite et al., 1983) basato sulla valutazione della produzione di anione superossido (SO) da parte dei fagociti del sangue a seguito dall'inglobamento di particelle di zymosan, opsonizzate dal siero del soggetto in esame.

Sul siero è stato effettuato il dosaggio dell'Hp (Tridelta) e sono stati valutati glucosio, NEFA, beta-OH butirato (BOHB), proteine totali, calcio e fosforo.

***Risultati***

Tre soggetti non hanno evidenziato patologie infettive, mentre sei hanno sviluppato un'endometrite nelle 2 settimane successive al parto,

Il numero dei leucociti circolanti è risultato significativamente inferiore nei gruppi 1 e 2 nei soggetti che hanno sviluppato successivamente l'endometrite; in tutti i soggetti, a partire dal parto, i globuli bianchi hanno presentato una diminuzione, per poi aumentare nuovamente nei gruppi 6 e 7 ([Figura 1](#)). Al momento della diagnosi di endometrite si è osservato nei singoli animali un ridotto numero di leucociti associato ad elevati livelli di Hp. Tuttavia rialzi relativamente marcati dell'Hp nel post partum sono stati riscontrati anche nei soggetti sani ([Figura 2](#)).

L'attività fagocitaria nel sangue in toto è diminuita dopo il parto in tutte le bovine; in prossimità del parto è risultata inferiore nelle bovine che hanno sviluppato successivamente l'endometrite ([Figura 3](#)).

Sono emerse correlazioni negative significative fra l'attività fagocitaria e i livelli di BOHB ( $r = -0,51$ ;  $p < 0,001$ ) e di NEFA ( $r = -0,43$ ;  $p < 0,001$ ).

Gli altri parametri ematochimici hanno mostrato le variazioni tipiche del periodo iniziale della lattazione, senza differenze significative tra animali sani e malati.

***Discussione.***

Considerando il basso numero di animali esaminati, soprattutto i soggetti sani, dobbiamo considerare i nostri risultati come preliminari. Dato che le manualità cui erano sottoposte le bovine dopo il parto hanno probabilmente influito sulla comparsa della patologia, abbiamo effettuato il confronto solo con animali sottoposti alle stesse procedure. Nonostante l'elevata variabilità individuale, che caratterizza sia le risposte difensive che le modificazioni metaboliche all'inizio della lattazione, è stato possibile evidenziare alcune variazioni degne di nota.

Tra gli animali sani e quelli che hanno manifestato l'endometrite sono apparse alcune differenze significative ancor prima dell'insorgere della patologia, in particolare nel numero dei leucociti nel preparto e nell'attività fagocitaria al parto; ulteriori indagini su un maggior numero di soggetti sono necessarie per confermare il valore predittivo di questi due parametri.

La diminuzione dell'attività fagocitaria nel sangue delle bovine, a partire dal parto, appare imputabile a varie cause: l'osservata riduzione numerica dei leucociti, la presenza di livelli relativamente elevati di BOHB e NEFA e la diminuzione del potere opsonizzante del plasma per trasferimento degli anticorpi al colostro. Il calo di leucociti, che si è osservato nei singoli animali all'insorgere della patologia, è probabilmente imputabile alla massiccia diapedesi verso il sito flogistico; il concomitante incremento dell'Hb ne conferma

la validità come marker di flogosi (Eckersall et al., 2001). Nelle nostre condizioni, tuttavia, il valore diagnostico dell'Hb è limitato dall'aumento osservato anche nei soggetti sani, che, pur segnalato in letteratura ed imputato al riassorbimento di batteri durante l'involutione uterina (Regassa e Noakes, 1999), si mantiene di norma su livelli inferiori. E' possibile quindi che, negli animali oggetto di questa indagine, le manipolazioni a livello uterino, pur eseguite in sterilità, abbiano comportato un maggior ingresso di batteri anche nei soggetti che non hanno poi sviluppato l'endometrite.

### ***Conclusione***

I nostri risultati portano a ipotizzare che una riduzione dei leucociti nel pre-parto e una scarsa attività fagocitaria al parto possano predisporre alla successiva comparsa di malattie infettive. E' stato inoltre possibile confermare che la presenza di alterazioni metaboliche all'inizio della lattazione svolga un ruolo inibente sulle capacità difensive dell'organismo. L'Hp si è dimostrata un buon marker di flogosi, ma ulteriori indagini sono necessarie per definire un eventuale livello soglia nel post-partum.

### ***Didascalie***

### ***Bibliografia***

- Bellavite P., Dri P., Della Bianca V, Serra M.C. The measurement of superoxide anion production by granulocytes in whole blood. A clinical test for the evaluation of fagocyte function and serum opsonic capacity. Europ. J. Clin. Invest. 13: 363-368, 1983
- Cook N.B., Ward W.R., Dobson H., Concentrations of ketones in milk early lactation, and reproductive performance of dairy cows. Vet. Rec. 148: 769-722, 2001
- Ecker 9999999sall P.D., Young F.J., McComb C., Hogarth C.J., Safi S., Weber A., McDonald T., Nolan A.M., Fitzpatrick J.L.. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. Vet Rec. 148:35-41, 2001.
- Goff J.P., Horst R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. J. Dairy Sci. 80:1260-1268, 1997.
- Regassa F., Noakes D.E. Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. Vet. Rec. 144:502-506, 1999.

***Ringraziamenti:*** Lavoro eseguito con finanziamento MIUR (COFIN 2000) e FIRST.

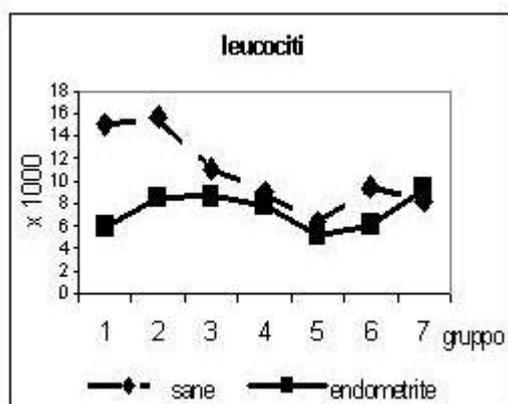


Figura 1: variazioni numeriche dei leucociti negli animali sani e malati nel corso del periodo considerato

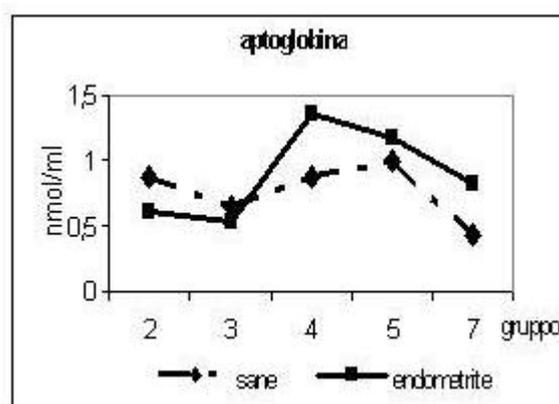


Figura 2: variazioni della concentrazione sierica di aptoglobina negli animali sani e malati nel corso del periodo considerato

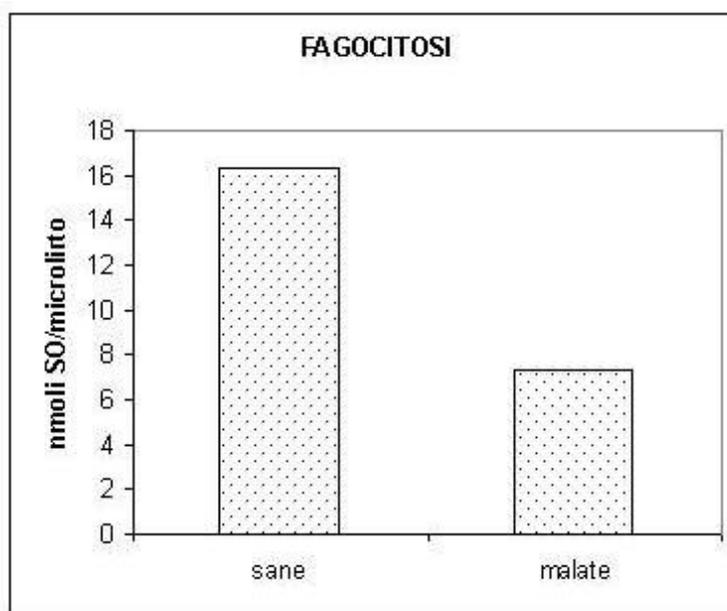


Figura 3: attività fagocitaria al parto nelle bovine sane e con endometrite.

**INDAGINE RETROSPETTIVA SULLA PREVALENZA DI  
ALTERAZIONI MORFOLOGICHE LEUCO-  
ERITROCITARIE IN CANI CON LEUCOCITOSI**

*Spagnolo Valentina, Paltrinieri Saverio, Dal Pastro Flavia,  
Gelain Maria Elena, Caniatti Mario*

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria - Milano

---

***Summary***

***Morphologic changes of leukocytes and erythrocytes in dogs with leukocytosis.***

In order to define the possible correlations among leukocytosis, changes in leukocyte (WBC) morphology and presence of diseases, we selected from our archives 47 haematological records which were enough complete (counts, slides, additional tests, follow up) to allow us to correctly classify the dogs as controls or as affected by inflammation or by haematological disorders (leukaemias or lymphoma). The results of this study confirm that the presence of leukocytosis does not necessarily correspond to the presence of disease and vice versa. On the contrary, WBC morphology is frequently altered in ill dogs: in particular, neutrophils (PMNs) and monocytes with hyperbasophilic cytoplasm and hyposegmented nuclei and activated lymphocytes (immunocytes) can be detected in dogs with inflammations; leukemic dogs showed atypical leukocytes and poikilocytotic erythrocytes (RBC); dogs with lymphoma had PMNs with evident cytoplasmic granules, lymphocytes with homogeneous chromatin pattern and anisocytotic but not polychromatic RBC. In conclusion, WBC morphology should always be carefully evaluated in dogs, apart from the presence of leukocytosis.

***Parole chiave (key words)***

Leucocitosi (leukocytosis), cane (dog), morfologia delle cellule ematiche (blood cell morphology).

***Introduzione***

Al fine di stabilire quali siano le possibili cause di leucocitosi, che rappresentano un reperto comunemente riscontrabile in ematologia canina<sup>1</sup>, è importante non solo definire quale sia la linea cellulare interessata e in quale misura questa sia coinvolta, ma anche rilevare eventuali alterazioni morfologiche leucocitarie ed eritrocitarie, che potrebbero peraltro essere presenti anche in assenza di leucocitosi<sup>2</sup>. Nel presente lavoro si è dunque voluto verificare, attraverso un'indagine retrospettiva, la relativa presenza di alterazioni sia quantitative che qualitative delle cellule ematiche, al fine di delineare diversi possibili patterns morfologici in rapporto a diversi quadri patologici.

***Materiali e metodi***

Dall'archivio ematologico della Sezione di Patologia Generale Veterinaria sono stati selezionati 47 casi di cani di cui erano disponibili, oltre agli esami ematologici e ad eventuali esami collaterali (citologia midollare e/o linfonodale, citochimica dei leucociti nei casi di sospetta leucemia, esami biochimici), informazioni anamnestiche e di follow up che consentissero di giungere ad una diagnosi certa. Di tali campioni erano dunque già disponibili i risultati relativi all'esame emocromocitometrico completo (analizzatore automatico Hemat 8, SEAC) e alla formula leucocitaria, valutata su strisci ematici colorati con colorazione di May Grünwald-Giemsa mediante l'esame microscopico di almeno 200 cellule. Nel presente lavoro gli strisci ematici sono stati riesaminati al microscopio ottico da due osservatori indipendenti, ponendo una particolare attenzione, oltre che alla qualità dello striscio, alle alterazioni morfologiche delle cellule della serie bianca, della serie rossa e delle eventuali forme atipiche. Sulla base della sintomatologia è stato possibile dividere i cani in 4 gruppi: senza sintomi clinici (gr.1, n=8), con flogosi o forme immuno-mediate (gr.2, n=17), con leucemie (gr.3, n=19) e con linfomi (gr.4, n=3). In base al numero di leucociti totali gli animali sono stati anche suddivisi in due gruppi: senza leucocitosi (gr.A, n=31) e con leucocitosi (gr.B, n=16). I risultati ottenuti dal gruppo A sono stati confrontati con quelli del gruppo B mediante il test t di Student per campioni indipendenti o, quando la distribuzione non era normale, mediante il corrispondente test non parametrico di U Mann Withney. All'interno dei singoli gruppi i valori riscontrati nei cani con diversi processi patologici sono stati confrontati tra loro mediante ANOVA a una via o mediante il corrispondente test non parametrico di Kruskall Wallis, seguiti da test di Tukey.

***Risultati***

- Alterazioni numeriche

I cani senza leucocitosi includevano soggetti sani ed affetti da flogosi, mielodisplasie (MDS), policitemia vera e linfomi. Ciò nonostante, i valori medi rilevati nei cani malati non differivano significativamente da quelli dei controlli (tabella 1). Il gruppo di cani con leucocitosi comprendeva un soggetto sano ed animali con flogosi o con leucemie (linfoidi acute o ALL, linfoidi croniche o CLL, mieloidi acute o AML, Large Granular Lymphocytes o LGL). Rispetto ai cani senza leucocitosi, quelli con leucocitosi presentavano livelli significativamente più elevati di granulociti. Anche in questo caso, però, i valori medi relativi ai parametri eritroidi ed al numero di leucociti totali rilevati nei diversi gruppi di cani con leucocitosi non erano significativamente diversi tra loro (tabella 2). La conta differenziale ha invece permesso di rilevare, nei cani leucemici, valori significativamente più elevati di cellule riferibili alla classe leucocitaria colpita da neoplasia.

- Alterazioni morfologiche

I cani sani mostravano scarse alterazioni morfologiche; in quelli con leucocitosi infiammatoria era comune il riscontro di PMN con basofilia citoplasmatica, di immunociti e di monociti con citoplasma basofilo e con nucleo simil band; i soggetti leucemici presentano spesso poichilocitosi e atipie cellulari; in caso di linfoma è stato possibile osservare un aumento delle granulazioni citoplasmatiche nei PMN, un aspetto omogeneo della cromatina linfocitaria e anisocitosi in assenza di policromasia.

***Discussione.***

Dai risultati ottenuti emerge un ridotto significato diagnostico delle sole alterazioni del numero totale di leucociti. L'assenza di leucocitosi è stata infatti riscontrata non solo in cani sani, ma anche in soggetti con patologie infiammatorie o neoplastiche<sup>3</sup>. Alla mera conta leucocitaria totale, che non permette di confermare né di escludere la presenza di patologie, risulta opportuno associare l'esame morfologico cellulare. Il riscontro di rare alterazioni morfologiche depone per l'assenza di patologia, anche in caso di conte leucocitarie, assolute o relative, elevate. Al contrario la presenza di alterazioni morfologiche deve indurre il sospetto di patologia anche in caso di conte relativamente normali<sup>4</sup>. Nel caso dei linfomi, per esempio, pur in assenza di leucocitosi, sono state riscontrate anomalie morfologiche, non solo a carico dei linfociti, ma anche dei PMN e degli eritrociti. In caso di leucocitosi, infine, occorre porre particolare attenzione non solo agli eventuali dettagli morfologici anomali, ma anche alla presenza di cellule atipiche. La presenza di tali elementi

può indurre il sospetto di leucemia e le loro caratteristiche morfologiche possono suggerire le tecniche più adatte ai fini di una corretta classificazione della leucemia (citochimica, immunocitochimica, citofluorimetria).

***Conclusione***

Il lavoro svolto ha permesso di verificare che all'accurata osservazione morfologica delle cellule ematiche è opportuno affiancare i dati ematologici (conta leucocitaria, sia totale che differenziale, e parametri eritrocitari). L'analisi morfologica è risultata di estrema utilità diagnostica al fine di delineare patterns ematologici tipici di alcune delle patologie prese in esame.

***Bibliografia***

- 1. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, Schalm's veterinary hematology, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2000.
- 2. Fournel-Fleury C, Magnol JP, Guelfi JF, Color atlas of cancer cytology of the dog and cat, Conférence Nationale des vétérinaires spécialisés en petits animaux, Parigi, 1994.
- 3. Breuer W, Stahr K, Majzoub M, Hermanns W, Bone-marrow changes in infectious diseases and lymphohaemopoietic neoplasias in dogs and cats - A retrospective study, Journal of Comparative Pathology. 119(1):57-66, 1998.
- 4. Wilkes RD, Goldston RT, Seybold IM, The clinical pathology laboratory; interpretation of the leukocyte hemogram, Veterinary Medical/Small Animal Clinician, 75(9):1355-1358, 1980.

## A.P.I.V. - Associazione Italiana Patologi Veterinari

### ATTI del XXI CONVEGNO NAZIONALE

---

	gr.1 (controlli)	gr.2 (flogosi/pat. immunomediate)	gr.3 (leucemie)	gr.4 (linfomi)	ANOVA
Eritrociti x 10 <sup>6</sup> /μl	6,13 ± 1,14	4,95 ± 2,06	6,36 ± 1,86	5,48 ± 0,82	ns
Hb g/dl	14,29 ± 3,37	12,03 ± 3,70	14,83 ± 5,27	11,80 ± 2,46	ns
Ht %	38,61 ± 6,73	31,73 ± 10,74	40,83 ± 16,26	34,30 ± 4,85	ns
Reticolociti %	0,61 ± 0,67	0,48 ± 0,36	1,32 ± 0,55	0,47 ± 0,66	ns
Piastrine x 10 <sup>3</sup> /μl	191,00 ± 59	357,00 ± 76	212,00 ± 174	153,00 ± 56	ns
Leucociti x 10 <sup>3</sup> /μl	9,34 ± 3,81	13,81 ± 2,92	7,40 ± 6,51	7,14 ± 2,56	ns
Neutrofili x 10 <sup>3</sup> /μl	4,71 ± 3,17	9,86 ± 4,46	4,59 ± 4,16	5,28 ± 3,99	ns
Neutrofili Band x 10 <sup>3</sup> /μl	0,07 ± 0,08	0,43 ± 0,75	0,05 ± 0,09	0,08 ± 0,15	ns
Basofili x 10 <sup>3</sup> /μl	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,09	0,00 ± 0,00	ns
Eosinofili x 10 <sup>3</sup> /μl	0,27 ± 0,39	0,52 ± 0,76	1,09 ± 1,89	0,04 ± 0,04	ns
Linfociti x 10 <sup>3</sup> /μl	4,09 ± 1,89	2,57 ± 2,75	1,46 ± 0,80	1,19 ± 0,66	ns
Monociti x 10 <sup>3</sup> /μl	0,16 ± 0,20	0,38 ± 0,34	0,16 ± 0,14	0,27 ± 0,24	ns
Cell. non classificate x 10 <sup>3</sup> /μl	0,02 ± 0,04	0,05 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,05	ns
Eritrociti nucleati x 10 <sup>3</sup> /μl	0,01 ± 0,03	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,05	0,08 ± 0,15	ns

Tabella 1: valori medi ± D.S. rilevati nei diversi gruppi di cani senza leucitosi e relativa analisi statistica

	<b>gr.2 (flogosi)</b>	<b>gr.3a (ALL)</b>	<b>gr.3b (CLL)</b>	<b>gr.3c (CML)</b>	<b>gr.3d (LGL)</b>	<b>ANOVA</b>	<b>Tukey</b>
Eritrociti x 10 <sup>6</sup> /μl	4,1 ± 1,5	4,2 ± 0,4	4,1 ± 1,9	3,6 ± 2,6	4,5 ± 1,1		
Hb g/dl	9,3 ± 3,5	0,5 ± 0,8	2,2 ± 1,7	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,4		
Ht %	24,7 ± 9,3	11,0 ± 0,6	10,0 ± 4,7	8,4 ± 6,0	11,6 ± 2,3		
Reticolociti %	2,2 ± 4,5	27,4 ± 3,1	24,8 ± 11,8	23,9 ± 15,0	28,7 ± 4,9		
Piastrine x 10 <sup>3</sup> /μl	245 ± 200	109,0 ± 79	283,0 ± 296	116,0 ± 106	301,0 ± 293		
Leucociti x 10 <sup>3</sup> /μl	48,3 ± 28,3	47,8 ± 32,5	64,7 ± 44,6	64,6 ± 48,3	77,3 ± 60,0		
Neutrofili x 10 <sup>3</sup> /μl	39,1 ± 27,9	16,1 ± 19,8	22,2 ± 21,8	45,0 ± 57,9	18,7 ± 12,6		
Neutrofili Band x 10 <sup>3</sup> /μl	0,3 ± 0,9	0,1 ± 0,2	1,5 ± 2,1	0,9 ± 1,3	0,1 ± 0,2		
Basofili x 10 <sup>3</sup> /μl	0 ± 0,00	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	*	2 vs 3c
Eosinofili x 10 <sup>3</sup> /μl	0,6 ± 1,1	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,7	0,6 ± 1,0		
Linfociti x 10 <sup>3</sup> /μl	6,3 ± 8,1	16,4 ± 17,4	34,8 ± 35,5	5,1 ± 4,9	57,4 ± 72,0	*	2 vs 3d
Monociti x 10 <sup>3</sup> /μl	1,6 ± 2,3	0,9 ± 1,0	0,0 ± 0,0	10,6 ± 14,2	0,4 ± 0,6	*	3c vs 2, 3a, 3b, 3d
Cell. non classificate x 10 <sup>3</sup> /μl	0,2 ± 0,7	14,1 ± 25,4	5,9 ± 11,8	1,7 ± 1,5	0,0 ± 0,0		
Eritrociti nucleati x 10 <sup>3</sup> /μl	0,5 ± 0,9	0,3 ± 0,4	0,0 ± 0,0	1,6 ± 2,9	0,4 ± 0,7		

Tabella 2 valori medi ± D.S. rilevati nei diversi gruppi di cani con leucocitosi e con diverse forme leucemiche e relativa analisi statistica

## **EFFETTI DEL DESAMETAZONE SULLA MORFOLOGIA DEL TIMO E SUL SISTEMA IMMUNITARIO DEL BOVINO**

*Cannizzo Francesca Tiziana<sup>1</sup>, Bollo Enrico<sup>1</sup>, Biolatti Pier Giuseppe<sup>3</sup>, Dacasto Mauro<sup>2</sup>, Carletti Monica<sup>2</sup>, Cantiello Michela<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Dipartimento di Patologia Animale – sez. Anatomia Patologica – Facoltà di Medicina Veterinaria – Università degli Studi di Torino

<sup>2</sup>Dipartimento di Patologia Animale – sez. Farmacologia e Tossicologia – Facoltà di Medicina Veterinaria – Università degli Studi di Torino

<sup>3</sup>Medico Veterinario libero professionista

---

### **Summary**

#### ***Effects of dexamethasone on the thymus morphology and bovine immune system***

Dexamethasone is often illegally used in veterinary medicine alone or in combination with other drugs (e.g.  $\beta$ -adrenergic agonists, steroids) to improve growth performances of veal calves. The differences among species and the effects of the administration of glucocorticoids associated with anabolics on the immune system still remain unclear. Three groups of five veal calves each were included in the study: group D was administered dexamethasone-21-phosphate os for 23 days; group V was administered dexamethasone-21-isonicotinate im at days 4 and 11, and group K served as control. Blood samples were collected at regular intervals, and lymphocyte proliferation assay and radial immunodiffusion assay for IgG, IgM and IgA were performed. At slaughter, the weight of thymic tissue was evaluated and *in situ* apoptosis of thymic lymphocytes was studied in control and treated animals by means of TUNEL. The thymus of treated groups showed severe atrophy of the cortex associated with hyperplasia of fat tissue which replaced most of the outer part of the cortex. In animals of group D a statistically significant reduction of the proliferative responses ( $p < 0.05$ ) following stimulation with ConA in comparison with control animals was observed after 4 days, followed by a further decline until day 14 ( $p < 0.05$ ). As regards Ig concentration in blood samples, no significant differences were detected in the animals of treated groups. A statistically significant decrease ( $p < 0.05$ ) in the nuclear area of apoptotic cells was observed in animals of group V compared to controls. Our

results confirm the need to include the anatomo-pathological examination of thymus at slaughter as a preventive measure.

***Parole chiave (key words)***

Desametazone (dexamethasone), timo (thymus), bovino (cattle), linfociti (lymphocytes), apoptosi (apoptosis).

***Introduzione***

Il desametazone è un potente corticosteroide largamente utilizzato in medicina veterinaria come antinfiammatorio. Tuttavia in alcuni Paesi Europei è noto l'utilizzo illegale dei glucocorticoidi come promotori della crescita nei vitelli da latte, in associazione con steroidi anabolizzanti e/o -agonisti, per aumentare la produzione di carne.

Scopo della ricerca è descrivere l'effetto della somministrazione di basse dosi di desametazone sulla morfologia del timo degli animali trattati rispetto a quelli di controllo. Inoltre valutare l'effetto del desametazone sulla proliferazione linfocitaria e sulla concentrazione delle immunoglobuline sieriche.

***Materiali e metodi***

Lo studio è stato condotto su 15 vitelli maschi, di razza Frisona, alimentati con latte in polvere ricostituito, suddivisi in tre gruppi: Gruppo K o di controllo; Gruppo D: trattato per via orale con desametazone-21-fosfato sodico alle dosi di 0,4 mg/dì per 23 giorni; Gruppo V: trattato per via intramuscolare con desametazone-21-isonicotinato alle dosi di 2 mg/capo per 2 volte a distanza di 8 giorni. Ad intervalli regolari venivano prelevati campioni di sangue da tutti i soggetti su cui venivano eseguiti il test di blastizzazione linfocitaria ed il test di immunodiffusione radiale per IgG, IgM e IgA. Inoltre, il timo di tutti gli animali, prelevato al momento della macellazione, è stato pesato e sottoposto ad esame istologico ed è stata valutata la presenza di quadri apoptotici attraverso metodica TUNEL.

***Risultati***

In seguito alla somministrazione di desametazone, il peso del timo degli animali subiva una significativa riduzione rispetto a quello degli animali di controllo. All'esame istologico i timi dei soggetti trattati presentavano un quadro profondamente alterato della corticale, una marcata atrofia e vaste aree di tessuto linfoide venivano sostituite da tessuto adiposo. Negli animali del gruppo

D si osservava una significativa riduzione della risposta proliferativa dei linfociti ( $P < 0,05$ ) rispetto agli animali di controllo dopo solo 4 giorni dall'inizio del trattamento, seguita da un ulteriore declino al 14° giorno ( $P < 0,05$ ). Non si osservavano differenze significative nelle concentrazioni sieriche delle diverse sottoclassi di immunoglobuline tra i gruppi di animali in esperimento. Nel timo degli animali del gruppo V si osservava una diminuzione significativa ( $P < 0,05$ ) delle aree apoptotiche rispetto ai controlli.

### ***Discussione***

I risultati ottenuti dimostrano che basse dosi di corticosteroidi provocano in modo dose-dipendente una grave atrofia del timo, pertanto la valutazione del peso del timo e la successiva osservazione istologica si rivelano ottimi indicatori per discriminare gli animali trattati da quelli non trattati. Inoltre, dai risultati ottenuti dal test di blastizzazione linfocitaria e dalla titolazione delle immunoglobuline sieriche, è possibile dedurre che l'azione dei corticosteroidi compromette l'immunità cellulo-mediata degli animali, mentre non sembra influire sull'immunità umorale.

## **MIOCARDIOPATIA DILATATIVA IN UN GATTO IPERTIROIDEO**

*Rondena Marco, Giudice Chiara, Cammarata Giorgio*

Dipartimento di patologia animale, igiene e sanità pubblica veterinaria, Sezione di anatomia patologica veterinaria e patologia aviare, Facoltà di Medicina Veterinaria, Milano.

---

### **Summary**

#### ***Dilatative Cardiomyopathy in a Cat with Hyperthyroidism.***

Thyroid disorders are frequent in aged cats and thyroid tumors represent the most common feline endocrine neoplasia. We report a case of end-stage thyrotoxicosis with severe systemic involvement, secondary to thyroid follicular adenoma in a old cat from a colony.

### **Parole chiave (key words)**

Gatto (feline), ipertiroidismo (hyperthyroidism), Graves' disease, miocardiopatia (cardiomyopathy), isole pancreatiche (pancreatic islets).

### **Introduzione**

I disordini tiroidei sono tra le patologie endocrine più comunemente riscontrabili nel gatto, soprattutto nei soggetti anziani<sup>1</sup>. Questo lavoro si propone di portare un contributo alla conoscenza dell'ipertiroidismo felino mediante la descrizione delle lesioni riscontrate in un gatto di colonia, mai sottoposto a terapia specifica e, nel quale, la malattia si è evoluta fino allo stadio estremo con conseguente decesso spontaneo.

### **Materiali e metodi**

Un gatto di colonia maschio castrato, di circa dieci anni, deceduto spontaneamente, è stato conferito alla sezione di Anatomia Patologica Veterinaria di Milano e sottoposto ad esame necroscopico, durante il quale sono stati campionati fegato, pancreas, reni, surreni, cuore, tiroide, ipofisi ed encefalo. Questo materiale è stato immediatamente fissato in formalina

---

isotonica al 10% e processato per l'inclusione in paraffina. Successivamente, sono state ottenute sezioni microtomiche di 4 µm di spessore che sono state colorate con Ematossilina-Eosina e Rosso Congo. Sezioni supplementari sono state utilizzate per le indagini immunostochimiche, condotte con il metodo ABC-perossidasi, utilizzando gli anticorpi riportati in tabella 1.

**Tabella 1:** anticorpi utilizzati, smascheramento e loro diluizione

<b>Anticorpo</b>	<b>Clone</b>	<b>Fonte</b>	<b>Unmasking</b>	<b>Diluizione</b>
NSE	Policlonale	Dako		1:25
Cromogranina A	Policlonale	Dako	MW	1:1000
Tireoglobulina	Policlonale	Dako		1:4000
Calcitonina	Policlonale	Dako		1:4000
Citocheratina 19	b170	Novocastra	Pepsina	1:200
IgG	JBCMCA624	Oxford Biomarketing	Tripsina	1:50

Legenda:

MW= Microonde 500W x 10 minuti in tampone citrato pH 6

### **Risultati**

All'esame autoptico, accanto ad un discreto stato di nutrizione dell'animale, erano rilevabili versamento sierofibrinoso in cavità addominale e toracica, fegato con stasi subacuta, di colore screziato giallo-rossastro, con consistenza aumentata al taglio, nefropatia bilaterale diffusa, presenza di numerosi noduli biancastri nel parenchima pancreatico, grave miocardiopatia dilatativa ventricolare sinistra in presenza di aumento di volume tiroideo monolaterale. Istologicamente, a livello miocardico, si notavano fenomeni di degenerazione muscolare, di gravità variabile da rigonfiamento delle miofibre, fino a necrosi a zolle, con fibrosi interstiziale e piccole emorragie multifocali. Il fegato era colpito da diffusa degenerazione epatocitaria da torbido-vacuolare a steatosica con stasi biliare epatocitaria, iperemia e piccole emorragie multifocali con deposizione di pigmento ceroidale ed emosiderina. Erano inoltre presenti infiltrati linfocitari, soprattutto perivasali. Nel rene si riscontravano focolai multipli di nefrite interstiziale linfoplasmacellulare cronica in presenza di glomerulopatia membranosa-proliferativa. Nel parenchima tiroideo, si evidenziava la presenza di un adenoma tiroideo follicolare, a crescita multifocale, con alcune aree ad alta densità cellulare caratterizzate da maggior differenziazione citologica. L'indagine immunostochimica, con anticorpo anti-tireoglobulina, evidenziava il

notevole accumulo di tale proteina nel lume dei follicoli e nel citoplasma degli elementi epiteliali. Sempre a livello tiroideo, era interessante notare la presenza di una flogosi linfocitaria da lieve a moderata, sia nelle aree colpite dalla neoplasia, sia nelle zone di parenchima normale (tiroidite linfocitaria). A livello pancreatico, erano evidenti un adenocarcinoma tubulare (citocheratina 19 positivo) ed un'intensa e diffusa degenerazione insulare con deposizione di una sostanza ialina tra le cellule  $\beta$ , solo in piccola parte positiva alla colorazione con Rosso Congo ma, immunoistochimicamente, positiva per anticorpo anti-IgG felina.

***Discussione.***

I tumori tiroidei sono la neoplasia endocrina più diffusa nel gatto, specialmente nei soggetti anziani. I tumori tiroidei della porzione follicolare, qualora secernenti, possono essere causa di ipertiroidismo<sup>1</sup>. Nel caso illustrato, il tumore tiroideo è risultato positivo, all'esame immunoistochimico per tireoglobulina perciò, sebbene in questo gatto non siano disponibili dati riguardanti i livelli serici di ormoni tiroidei, si può ipotizzare che il tumore fosse ormono-secernente. L'esame degli altri organi, specialmente del miocardio, confermerebbero l'ipotesi di un quadro di tipo tireotossico, in quanto l'eccessiva increzione di triiodotironina e tetraiodotironina provocano alterazioni del sistema circolatorio, con aumento della pressione sistolica, della gittata e della frequenza cardiaca. A questa situazione il cuore reagisce, dapprima, con un'ipertrofia compensata, mentre nelle fasi più avanzate si assiste ad uno scompenso sempre maggiore che può sfociare in miocardiopatia dilatativa<sup>2</sup>. Parallelamente, il reperto di tiroidite linfocitaria può essere considerato, oltre che una reazione antitumorale, anche una risposta immunitaria contro antigeni tiroidei normalmente segregati, esposti in seguito allo sviluppo della neoplasia. Questa ipotesi concorderebbe con la presenza di intensa flogosi anche in aree di parenchima tiroideo risparmiato dal tumore. In corso di ipertiroidismo è nota inoltre, nell'uomo, l'insorgenza di una forma secondaria di diabete insulino dipendente, dovuta sia alla continua stimolazione, con conseguente esaurimento, delle cellule  $\beta$  pancreatiche<sup>3</sup>, sia ad una risposta autoimmunitaria, di tipo policlonale<sup>4</sup> diretta verso insulina ed altri antigeni presenti nelle cellule delle isole pancreatiche. Tale fenomeno, nell'uomo, è descritto soprattutto nelle forme di ipertiroidismo di origine autoimmunitaria (come la Graves' disease), ed è caratterizzato dalla presenza in circolo di IgG, specifiche per antigeni insulari, prodotte in sede extra-pancreatica<sup>5</sup>. Quest'ultima considerazione, nel caso riportato, troverebbe parziale conferma nella dimostrazione di deposizione di IgG nell'interstizio insulare.

***Conclusion***

L'insieme delle lesioni sopra descritte configura un quadro anatomo patologico sovrapponibile a quelli caratteristici dell'ipertiroidismo dell'uomo, confermando che il gatto può essere utile nel corso di studi comparativi in tutti gli stadi della malattia, compresi quelli più avanzati. L'ipotesi di un'origine autoimmune per le lesioni riscontrate in sede pancreatica necessita tuttavia di essere verificata con ulteriori studi condotti su una popolazione felina idonea.

***Bibliografia***

- 1: Turrel J.M., Feldman E.C., Nelson R.W., Cain G.R.: Thyroid carcinoma causing hyperthyroidism in cats: 14 cases (1981-1986); JAVMA, vol. 193 (1988), pagg. 359- 364.
- 2: Jones T.C., Hunt R.D., King N.W.: Endocrine glands; in: Veterinary Pathology, sixth edition (1997), Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimora (USA), cap. 26, pagg. 1223-1258.
- 3: Fukuchi M., Shimabukuro M., Yoshinori S., Oshiro Y., Higa M., Akamine H., Komiya I., Takasu N.: Evidence for a deficient pancreatic b-cell response in a rat model of hyperthyroidism; Life Sciences, vol 71 (2002), pagg. 1059-1070.
- 4: Nuovo J.A., Baker J.R.jr, Wartofsky L., Lukes Y.G., Burman K.D.: Autoantibodies to insulin are present in sera of patients with autoimmune thyroid disease; Diabetes, vol. 37 (1988), pagg. 317-320.
- 5: Maugendre D., Vèrité F., Guilhem I., Genetet B., Allanic H., Delamaire M.: Anti-pancreatic autoimmunity and Graves' disease: study of a cohort of 600 caucasian patients; European Journal of Endocrinology, vol. 137 (1997) pagg. 503-510.

## **INSUFFICIENZA MITRALICA NEL PASTORE TEDESCO. OSSERVAZIONI PRELIMINARI**

*Tursi Massimiliano<sup>1</sup>, Prunotto Marco<sup>2</sup>, Borgarelli Michele<sup>1</sup>,  
Pucci Angela<sup>3</sup> e Galloni Marco<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino – Dipartimento di Patologia Animale

<sup>2</sup> Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino – Dipartimento di Morfologia Veterinaria

<sup>3</sup> Anatomia Patologica – Azienda Sanitaria Ospedaliera OIRM – S. Anna

---

### **Summary**

#### ***Mitral valve insufficiency in german shepherd: preliminary investigation***

The mitral valve insufficiency (MVI) is a typical disease of aged dogs. Clinical investigation, mostly with ecocardiography, and pathological data allow in most cases the detection of anatomical damage which is the responsible for the functional alteration.

Nevertheless in some cases it's difficult to evaluate the actual pathology due to lack of available specific morphometrical data.

The aim of this research is the study of the morphological and morphometrical modifications of the German Shepherd's mitral valve insufficiency. Four hearts of German Shepherds which had been previously studied with ecocardiography and evaluated as pathological were examined. Control groups considered were: clinically normal small and large breed dogs, small breed dogs with endocardiosis. Hearts were formalin-fixed and *annulus* dimensions, leaflets characteristics, cordae and their insertion were evaluated.

In German Shepherd the morphological alterations due to MVI are different from small breed dogs and similar to humans because of an enlargement of the valve leaflets free margins. This distribution of lesions may suggest a congenital disorder of connective tissue worsening with age similar to human mitral valve insufficiency.

#### ***Parole chiave (key words)***

Mitrace (mitral valve), insufficiencia (insufficiency), pastore tedesco (german shepherd).

***Riassunto***

La malattia cronica valvolare, o endocardiosi, rappresenta la patologia cardiaca acquisita più frequente nel cane e può rappresentare un modello animale per lo studio della malattia anche nell'uomo. I maschi sono più colpiti delle femmine e la malattia peggiora con l'età. I cani di piccola taglia sono più frequentemente colpiti rispetto a quelli di grossa taglia, in cui la patologia sembra presentare caratteristiche cliniche diverse. Inoltre le lesioni a carico dei lembi valvolari nei cani di grossa taglia appaiono meno importanti. Lavori preliminari riportano una prevalenza del Pastore Tedesco tra i cani di grossa taglia colpiti dalla malattia mitralica.

Scopo del lavoro è descrivere le alterazioni morfologiche responsabili dell'insufficienza mitralica del Pastore Tedesco, anche per studiare se la causa del disturbo funzionale possa essere congenita o acquisita, e confrontare la patologia in questa razza con quella dell'uomo.

Sono stati esaminati i cuori di 4 Pastori Tedeschi con insufficienza della mitrale diagnosticata tramite visita cardiologia, esame ecocardiografico ed eco Doppler. Sui campioni sono state eseguite indagini morfometriche e morfologiche delle strutture valvolari. I dati così raccolti sono stati confrontati con gruppi di controllo rappresentati da cani di altre razze normali e con insufficienza mitralica provocata dall'endocardiosi e sottoposti ad esame ecocardiografico. Porzioni dei lembi valvolari e di miocardio dei soggetti esaminati sono state sottoposte ad esame istologico.

La mitrale dei Pastori Tedeschi con insufficienza, rispetto ai controlli, presenta corde tendinee più lunghe e margini liberi moderatamente ispessiti. A carico dell'atrio sx si rileva grave dilatazione e la presenza di jet impact lesions secondari al reflusso ematico. L'esame istologico dei lembi valvolari evidenzia la deposizione di tessuto mixoide uguale a quello presente nell'endocardiosi prevalentemente lungo i margini liberi.

Le alterazioni morfologiche finora da noi studiate nell'insufficienza mitralica del Pastore Tedesco appaiono simili a quanto si osserva nell'uomo; la distribuzione delle lesioni in questa razza può fare ipotizzare una alterazione congenita intrinseca del connettivo che si manifesta nel cane adulto, così come avviene in patologia umana. Sono da approfondire le eventuali alterazioni del connettivo valvolare presenti.

**STUDIO RETROSPETTIVO SULL'ENDOCARDITE  
ULCERO-POLIPOSA DEL BOVINO**

*Bianco Paolo, Capucchio Maria Teresa\*, Catalano Deborah\*, Saracco Mauro, Dondo Alessandro\*\*, Grattarola Carla\*\*, Guarda Franco\*.*

Azienda Sanitaria Regionale n° 11, Vercelli; \*Dipartimento Patologia Animale, Torino;  
\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Torino

---

**Summary**

***Retrospective study on bovine vegetative endocarditis***

Endocarditis are flogosis of endocardium, usually of bacterial origin, located especially on the valves. This communication is a retrospective study on vegetative endocarditis observed during last 30 years at the Department of Animal Pathology of Torino. Macroscopical, histological and bacteriological investigations were performed on 140 endocarditis. The vegetations involved especially the right atrio-ventricular valve (nr 30) but frequently they extended to the adjacent endocardium (nr 37). *Actinomyces pyogenes*, according to literature, was the most frequent isolated bacteria.

***Parole chiave (key words)***

Endocardite (endocarditis), bovini (cattle), istologia (histology), esami batteriologici (bacteriological investigations).

***Introduzione***

Le endocarditi sono flogosi parietali, cordali o più spesso valvolari, dell'endocardio. L'endocardite ulcero-poliposa è la più comune nei bovini generalmente secondaria a batteriemie o conseguente a sindrome da corpo estraneo. La valvola tricuspide è la più colpita seguita dalle valvole mitrale, polmonare ed aortica. La presente comunicazione è uno studio retrospettivo sulle endocarditi ulcero-polipose osservate durante l'attività diagnostica del Dipartimento di Patologia Animale negli ultimi 30 anni.

***Materiali e metodi***

Dopo il riscontro macroscopico delle flogosi endocardiche campioni di tessuto sono stati sottoposti ad esame istopatologico e, relativamente a 54 campioni raccolti durante gli ultimi tre anni, ad esame batteriologico presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Torino. I ceppi batterici isolati in purezza mediante semina su terreni colturali idonei, sono in seguito stati sottoposti ad identificazione biochimica .

***Risultati e discussione.***

Complessivamente sono state evidenziate 140 endocarditi di cui 77 valvolari (30 a livello di valvola tricuspide ([figura 1](#)), 13 a livello mitralico; rispettivamente in 5 casi ed in 3 erano anche coinvolte le valvole semilunari polmonare ed aortica; 26 ad entrambe le valvole atrio-ventricolari); 29 parietali di cui 2 coinvolgenti l'intero atrio destro; 37 valvolari e parietali ([figura 2](#)); 5 cordali. La maggior parte erano processi acuti e sub-acuti, solo in 7 casi si trattava di endocarditi croniche. Gli animali colpiti erano quasi sempre vacche a fine carriera, solo 2 endocarditi sono state rilevate in vitelli e 3 nei vitelloni. In 42 casi le endocarditi erano associate alla presenza di un corpo estraneo ed in particolare erano visibili ascessi epatici con conseguente flebite della vena cava caudale ([figura 3](#)) o trombi venosi; in 11 casi era contemporaneamente osservabile una miocardite purulenta. Circa le specie microbiche isolate ([tabella 1](#)) *Actinomyces pyogenes* è stato il più frequente (n° 21 casi). In 2 casi è stato isolato *Escherichia coli* ed in 4 casi *Corynebacterium pyogenes*. In 8 casi è stato rilevato polimicrobismo ed in 7 campioni l'esito dell'esame batteriologico è stato negativo. Gli altri microrganismi isolati erano cocchi Gram positivi appartenenti ai generi *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*. In 2 casi è stata riscontrata l'associazione di due generi microbici e precisamente di *Actinomyces pyogenes* e di *Staphylococcus* spp. o *Streptococcus dysgalactiae*.

***Conclusione***

Tale indagine, conformemente a quanto riportato in letteratura, evidenzia il maggior coinvolgimento della valvola atrio-ventricolare destra, l'importanza dei corpi estranei come causa di endocardite nel bovino e il ruolo delle specie *Actinomyces* e *Corynebacterium pyogenes* nel determinismo di queste flogosi batteriche.

***Bibliografia***

– Evans E.T., Bacterial endocarditis in cattle, Vet Rec., 69:1190-1206, 1957.

## **A.P.I.V. - Associazione Italiana Patologi Veterinari**

### **ATTI del XXI CONVEGNO NAZIONALE**

---

- Healy A.M., Endocarditis in cattle: a review of 22 cases. Irish Vet J. 49:43-48, 1996.
- Power H.T., Rebhun W.C. Bacterial endocarditis in adult dairy cattle. J. Am Med Assoc, 182:806-808, 1983.



Figura 1: endocardite ulcero-poliposa localizzata a livello di valvola tricuspide.



Figura 2: grave endocardite parietale e valvolare destra.

**A.P.I.V. - Associazione Italiana Patologi Veterinari**  
**ATTI del XXI CONVEGNO NAZIONALE**

---

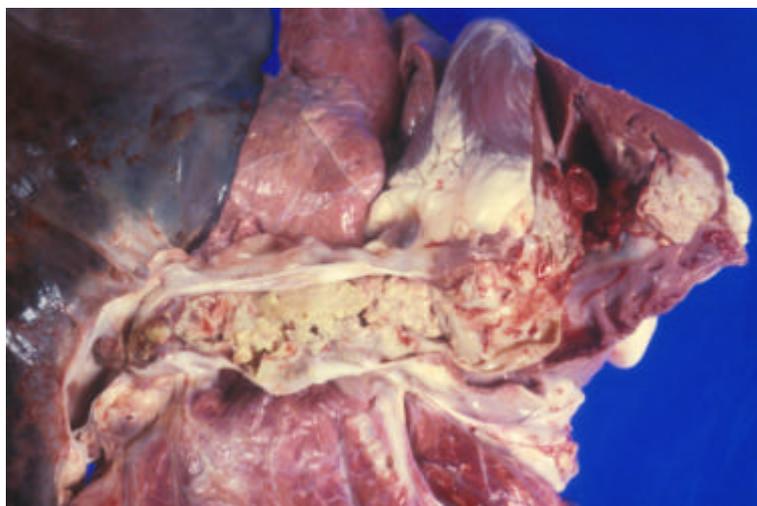


Figura 3: grave flebite fibrin-purulenta nella vena cava caudale.

<i>Actinomyces pyogenes</i>	21
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	4
<i>Escherichia coli</i>	2
<i>Enterococcus</i> spp.	3
<i>Streptococcus</i> spp.	3
<i>Staphylococcus</i> spp.	2
<i>Aerococcus</i> spp.	1
<i>Micrococcus</i> spp.	1
Assenza di germi	7
Polimicrobismo	8
<i>A. pyogenes</i> + <i>Staphylococcus</i> spp.	1
<i>A. pyogenes</i> + <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1

Tabella 1: specie microbiche isolate.