

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BOLOGNA

Facoltà di Medicina Veterinaria

Dottorato di Ricerca in discipline anatomoistopatologiche veterinarie
XIX Ciclo

Tesi di Dottorato di Ricerca

**INDAGINE ISTOPATOLOGICA ED IMMUNOISTOCHEMICA SU
FETI BOVINI ABORTITI IN FRIULI VENEZIA GIULIA**

Coordinatore: Prof. Paolo Stefano MARCATO - Università degli Studi di BOLOGNA
Docente guida: Prof. Marco GALEOTTI - Università degli Studi di UDINE
Dottorando: Eugenio Dr. PITTIONI

SETTORE SCIENTIFICO-DISCIPLINARE: VET03 - PATOLOGIA GENERALE E ANATOMIA
PATOLOGICA VETERINARIA
A.A: 2005 – 2006

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BOLOGNA

Facoltà di Medicina Veterinaria

Dottorato di Ricerca in discipline anatomoistopatologiche veterinarie
XIX Ciclo

Tesi di Dottorato di Ricerca

**INDAGINE ISTOPATOLOGICA ED IMMUNOISTOCHEMICA SU
FETI BOVINI ABORTITI IN FRIULI VENEZIA GIULIA**

Coordinatore: Prof. Paolo Stefano MARCATO - Università degli Studi di
BOLOGNA
Docente guida: Prof. Marco GALEOTTI - Università degli Studi di UDINE
Dottorando: Eugenio Dr. PITTIONI

SETTORE SCIENTIFICO-DISCIPLINARE: VET03 - PATOLOGIA GENERALE E ANATOMIA
PATOLOGICA VETERINARIA
A.A: 2005 – 2006

FIRME:

Coordinatore: Prof. Paolo Stefano MARCATO
Facoltà di Medicina Veterinaria
Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale
Servizio di Prova di Anatomia Patologica
Università degli Studi di BOLOGNA

Docente guida: Prof. Marco GALEOTTI
Facoltà di Medicina Veterinaria
Dipartimento di Scienze Animali
Sezione di Biologia e Patologia Animale
Università degli Studi di UDINE

Dottorando: Eugenio Dr. PITTIONI

SOMMARIO

ELENCO TABELLE	pag.	1
ABBREVIAZIONI UTILIZZATE	pag.	2
PARTE 1 INTRODUZIONE	pag.	3
Scopi della ricerca	pag.	9
PARTE 2 MATERIALI E METODI	pag.	10
Raccolta casistica e campionamento	pag.	11
Preparazione dei campioni istologici	pag.	13
Valutazione istologica	pag.	13
Protocollo di valutazione dei preparati istologici	pag.	16
<i>Parametri di conservazione dei campioni</i>	pag.	16
<i>Valutazione degli aspetti non catalogabili.</i>	pag.	17
<i>Valutazione delle lesioni di tipo infiammatorio</i>	pag.	17
<i>Valutazione delle lesioni di tipo progressivo/regressivo e metabolico</i>	pag.	19
<i>Valutazione delle lesioni vascolari</i>	pag.	19
Colorazioni speciali	pag.	21
Valutazione immunoistochimica	pag.	22
Protocollo immunoistochimico standard	pag.	22
Anticorpi primari, anticorpi secondari e controlli positivi	pag.	23
Valutazione della colorazione immunoistochimica	pag.	24
Trattamento informatico dei dati	pag.	25
Database	pag.	25
Elaborazione dei dati	pag.	25
Gestione bibliografica	pag.	25
PARTE 3 RISULTATI	pag.	26
Esiti del campionamento e valutazione qualitativa dei casi raccolti	pag.	27
Casi raccolti	pag.	28
Valutazione dello stato di conservazione dei campioni istologici	pag.	29
Quadri istopatologici ed immunoistochimici riscontrati suddivisi per singolo caso	pag.	33
Riepilogo diagnostico	pag.	58
Quadri istopatologici ed immunoistochimici riscontrati suddivisi in base all'eziologia	pag.	62
Aborti di origine virale	pag.	62
<i>Aborti dovuti ad infezione da BVDV</i>	pag.	62
<i>Aborti dovuti ad infezione da HBV-1</i>	pag.	63
Aborti di origine batterica	pag.	65
<i>Placentiti batteriche</i>	pag.	65
<i>Placentiti e polmoniti batteriche</i>	pag.	66
<i>Polmoniti batteriche</i>	pag.	66
Aborti di origine micotica	pag.	67
Aborti di origine non determinabile	pag.	67

PARTE 4 DISCUSSIONE	pag.	73
Osservazioni sulla casistica e sullo stato di conservazione dei campioni raccolti	pag.	74
Casi raccolti	pag.	74
Stato di conservazione dei campioni istologici	pag.	75
Osservazioni epidemiologiche sul fenomeno aborto	pag.	78
Osservazioni sui quadri istopatologici e immunoistochimici osservati	pag.	84
Aborti di origine virale	pag.	84
<i>Aborti dovuti ad infezione da BVDV</i>	pag.	84
<i>Aborti dovuti ad infezione da BHV-1</i>	pag.	85
Aborti di origine batterica	pag.	87
Aborti di origine micotica	pag.	88
Ossalosi renale congenita	pag.	90
Aspetti istopatologici osservati in assenza di diagnosi	pag.	91
PARTE 5 CONCLUSIONI	pag.	93
TAVOLE FOTOGRAFICHE	pag.	97
BIBLIOGRAFIA	pag.	101
RINGRAZIAMENTI	pag.	111

ELENCO TABELLE

PARTE 2

<i>Tabella 2.1</i>	Località di campionamento dei casi	pag.	12
<i>Tabella 2.2</i>	Valutazione del parametro conservazione strutturale	pag.	16
<i>Tabella 2.3</i>	Valutazione del parametro di dettaglio citoplasmatico	pag.	16
<i>Tabella 2.4</i>	Valutazione del parametro di dettaglio nucleare	pag.	16
<i>Tabella 2.5</i>	Parametri di valutazione dell'infiltrato diffuso	pag.	16
<i>Tabella 2.6</i>	Parametri di valutazione dell'infiltrato perivasale	pag.	18
<i>Tabella 2.7</i>	Parametri di valutazione del richiamo intravasale di cellule leucocitarie	pag.	18
<i>Tabella 2.8</i>	Parametri di valutazione di marginazione di cellule leucocitarie	pag.	18
<i>Tabella 2.9</i>	Parametri di valutazione delle emorragie	pag.	19
<i>Tabella 2.10</i>	Elenco delle lesioni presenti nella tabella "lesioni"	pag.	20
<i>Tabella 2.11</i>	Elenco degli anticorpi primari utilizzati	pag.	23
<i>Tabella 2.12</i>	Elenco degli anticorpi secondari utilizzati	pag.	23

PARTE 3

<i>Tabella 3.1</i>	Riepilogo anamnestico dei casi raccolti	pag.	29
<i>Tabella 3.2</i>	Numero dei casi suddivisi per stagione in cui è avvenuto il campionamento	pag.	28
<i>Tabella 3.3</i>	Numero dei casi suddivisi per periodo di gestazione in cui è occorso l'aborto	pag.	28
<i>Tabella 3.4</i>	Numero di campioni valutati suddivisi per organo	pag.	31
<i>Tabella 3.5</i>	Riepilogo dei dettagli di conservazione per gli organi con più di dieci campioni	pag.	32
<i>Tabella 3.6</i>	Riepilogo dei dettagli di conservazione per caso valutato	pag.	32
<i>Tabella 3.7</i>	Percentuali di successo diagnostico	pag.	58
<i>Tabella 3.8</i>	Percentuali delle cause di aborto diagnosticate	pag.	58
<i>Tabella 3.9</i>	Percentuali di successo diagnostico nei casi in cui la placenta è stata valutata	pag.	59
<i>Tabella 3.10</i>	Percentuali delle cause di aborto diagnosticate nei casi in cui la placenta è stata valutata	pag.	59
<i>Tabella 3.11</i>	Agenti patogeni e lesioni riscontrate in base alla grandezza della stalla	pag.	60
<i>Tabella 3.12</i>	Agenti patogeni raggruppati per tipologia in base alla grandezza della stalla	pag.	60
<i>Tabella 3.13</i>	Agenti patogeni e lesioni riscontrate in base all'età del feto	pag.	61
<i>Tabella 3.14</i>	Agenti patogeni raggruppati per tipologia in base all'età del feto	pag.	61
<i>Tabella 3.15</i>	Percentuali di successo diagnostico per stato di conservazione dei campioni	pag.	61

PARTE 4

<i>Tabella 4.1</i>	Risultati ottenuti in 20 studi sull'aborto bovino ordinati per anno di pubblicazione	pag.	81
<i>Tabella 4.2</i>	Risultati ottenuti in 20 studi sull'aborto bovino ordinati per percentuale di successo diagnostico	pag.	82
<i>Tabella 4.3</i>	Risultati ottenuti in 20 studi sull'aborto bovino ordinati per percentuale di casi che, pur presentando lesioni istopatologiche, non sono stati diagnosticati	pag.	83
<i>Tabella 4.4</i>	Posizione per frequenza delle cause di aborto in 18 studi consultati	pag.	79
<i>Tabella 4.5</i>	Percentuali di frequenza di cause di aborto bovino divise per periodo di studio	pag.	80

ABBREVAZIONI UTILIZZATE

ABC	Avidin-Biotin Complex	Complesso Avidina-Biotina
Ab(s)	Antibody(ies)	AntiCorpo(i)
BALT	Bronchial-Associated Lymphoid Tissue	Tessuto Linfoide Associato al (sistema) Bronchiale
BHV-1	Bovine HerpesVirus type 1	Herpes Virus Bovino tipo 1
BHV4	Bovine HerpesVirus type 4	Herpes Virus Bovino tipo 4
BVD	Bovine Viral Diarrhea	Diarrea Virale Bovina
BVDV	Bovine Viral Diarrhea Virus	Virus della Diarrea Virale Bovina
CNS	Central Nervous System	Sistema Nervoso Centrale
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay	Prova di immunoadsorbimento enzimatico
FFPE	Formalin Fixed Parrafin Embedded	Fissato in formalina incluso in paraffina
GALT	Gut-Associated Lymphoid Tissue	Tessuto Linfoide Associato al (sistema) Gastroenterico
GMS	Grocott's methamine silver	Argento metaminico di Grocott
HE	Hematoxylin Eosin	Ematossilina Eosina
IBR	Infectious Bovine Rhinotracheitis	RinoTracheite Infettiva Bovina
IFA	ImmunoFluorescent Antibody	Anticorpo ImmunoFluorescente
IHC	ImmunoHisto Chemistry	ImmunoIstoChimica
M.Ab(s)	Monoclonal Antibody(ies)	Anticorpo(i) Monoclonale(i)
MALT	Mucosa-Associated Lymphoid Tissue	Tessuto Linfoide Associato alla Mucosa
PAS	Periodic Acid Schiff	Acido Periodico di Schiff
PCR	Polimerase Chain Reaction	Reazione a Catena della Polimerasi
SD	Standard Deviation	Deviazione standard

PARTE 1

INTRODUZIONE

Nel 1972 il Comitato sulla nomenclatura riproduttiva bovina (Committee on Bovine Reproductive Nomenclature Terms, 1972), ha definito l'evento aborto come una "interruzione di gravidanza che si verifica in un periodo tra il 42° ed il 260° giorno di gestazione", intendendo con il 42° giorno il primo giorno utile per la diagnosi transrettale di gravidanza. Questa definizione si contrappone a quella legale, che definisce l'aborto come l'espulsione di un feto o vitello nato morto o che viene a morte nelle prime 48 ore dopo il parto (Tainturier et al., 1997), estendendola includendo anche i fenomeni di interruzione precoce della gestazione, che hanno pari importanza nella fertilità bovina. Comunque lo si voglia definire, l'aborto è un evento drammatico che incide in modo consistente sull'economia e igiene dell'allevamento bovino. Questo perché ai danni non va annoverata la sola perdita del prodotto del concepimento (perdita di per sé non grave se non in caso di vitelli di alto pregio genetico), ma anche la mancata produzione di latte (Cavirani, 2003) e, in caso di complicanze infettive post-aborto, la possibile infertilità della bovina che ha abortito (Bondurant, 1999).

Il miglioramento delle condizioni sanitarie dell'allevamento bovino quali le profilassi vaccinali e i piani di eradicazione, hanno di molto ridotto la frequenza di tale evento, che si può stimare, negli allevamenti da latte in ITALIA, intorno al 2-3% (Cavirani, 1999).

Tuttavia il problema permane in quanto nessun allevamento si può considerare immune dal rischio dell'evento aborto che può, di volta in volta, assumere carattere sporadico, endemico o epizootico. Tutto ciò presenta una sfida che coinvolge tutti gli operatori (allevatore, alimentarista, veterinario d'azienda) del settore, non ultimo l'eventuale anatomo patologo interpellato per una diagnosi eziologica.

Questa risulta particolarmente difficile e complessa in quanto le cause possono essere assai diverse fra loro ed includere sia fattori che riguardano la gestione dell'azienda che agenti infettivi.

Tra i fattori gestionali si devono includere (Benazzi et Marcato, 2002):

1. errori dietetici;
2. fattori fisici;
3. fattori genetici;
4. fattori iatrogeni,
5. azione di tossici (veleni, medicinali, micotossine, endotossine batteriche (Foley et Schlafer, 1994));
6. disturbi ormonali.

Mentre gli agenti infettivi possono essere suddivisi in:

1. virus;

2. batteri;
3. funghi;
4. parassiti.

Quest'ultimi sono senz'altro gli agenti abortigeni più comuni e la bibliografia internazionale è quanto mai ricca nell'elencarli, sia in testi generalisti sull'evento aborto bovino (Kirkbride 1992b e 1993; Barr et Anderson, 1993; Biolatti e Pau, 1996; Belletti et al., 1996; Conigliaro, 1997; Tainturier et al., 1997; Yaeger et Holler, 1997; Barr et BonDurant, 1997; Abbitt, 1997; Walker, 1997; Pritchard, 1990; Del Piero, 2003; Cavirani, 2003), sia in ricerche epidemiologiche focalizzate su particolari aree (a tal proposito si veda le tabelle 4.1; 4.2 e 4.3).

In base a quanto descritto nei testi poc'anzi citati si possono elencare, come più comuni, i seguenti patogeni, ordinati all'interno di ogni gruppo per capacità abortigena e frequenza di isolamento in corso di aborto bovino:

Virus

Pestivirus: BVDV (agente della BVD);

Herpesvirus: BHV Type 1 (agente dell'IBR) e BHV tipo 4;

Paramixovirus: agente della Parainfluenza 3;

Bunyaviruses: Akabane virus.

Batteri

Batteri presenti nell'ambiente che non causano malattie nel bovino adulto ma, venuti a contatto col feto, possono causare aborto, solitamente sporadico:

Arcanobacterium pyogenes;

Bacillus spp.;

Escherichia coli;

Streptococcus spp.

Batteri patogeni anche per il bovino adulto causa di aborto sporadico ma anche epizootico:

Listeria monocytogenes;

Lepstospira spp.;

Haemophilus somnus;

Campylobacter spp.;

Coxiella burnetii;

Ureaplasma diversum;

Mycoplasma bovis;

Chlamydia spp.;

Brucella spp.

Miceti solitamente causa di aborto sporadico:

Aspergillus fumigatus;

Wortierella wolfii;

Candida spp.;

Mucor spp.;

Absidia ramosa

Parassiti

Neospora caninum;

Toxoplasma gondii;

Tritrichomonas foetus;

Sarcocystis spp.

Anche se si ritiene che gli agenti patogeni elencati siano in assoluto la più comune causa di aborto bovino (Kirkbride, 1985; 1992a e 1993; Barr et Anderson, 1993;) raramente, e solo negli ultimi anni, nella bibliografia degli studi epidemiologici è riportata una diagnosi eziologica superiore al 50% dei casi.

Questo perché la diagnosi eziologica è molto spesso impedita dai seguenti fattori:

- il feto, spesso ritenuto in utero per ore o giorni, presenta grave autolisi che nasconde le lesioni;
- le membrane fetali, che comunemente sono affette dalla patologia per prime e più gravemente, molto spesso non sono reperibili per la valutazione;
- fattori genetici e tossici, che possono causare morte fetale e aborto, molto spesso non sono rilevabili nei campioni a disposizione;
- molte cause di aborto non hanno un'efficiente procedura d'investigazione, intendendo per efficiente una procedura praticabile in ambito laboratoristico routinario; pertanto restano più un interesse accademico che pratico (Kirkbride, 1982).

Considerati questi elementi, l'alto numero di possibili cause, e le possibili metodiche impiegate, si può spiegare perché le percentuali di riuscita diagnostica possano variare di molto (dal 15% al 56%) negli studi sull'argomento presenti nella letteratura scientifica.

A proposito dei metodi investigativi impiegabili nello studio del fenomeno aborto si rileva che la ricerca degli agenti patogeni di origine infettiva può essere effettuata con diverse tecniche diagnostiche, principalmente: sierologia, batteriologia, micologia, isolamento virale, istologia e metodiche “in situ” (IHC, IFA, ISH) ed, infine, tecniche molecolari (PCR *in primis*). Tali tecniche sono dotate di diversa sensibilità, specificità, semplicità e praticità d'utilizzo.

Le indagini sierologiche, così come le più moderne tecniche molecolari (PCR), permettono di ottenere interessanti dati di tipo epidemiologico ma spesso non consentono di stabilire la reale azione patogena dei diversi agenti biologici (Cavirani, 1999), anche se possono essere d'aiuto nell'individuare possibili problemi a livello aziendale (Miller et Wilkie, 1978; Thurmond et al., 1990; Magnino et al., 2001) e mettere in relazione rilievi sierologici con fenomeni abortivi (Czaplicki et al., 1998; Langoni et al., 1999; Cavirani, 2001; Moore et al.; 2003a; Atxaerandio et al., 2005). Le metodiche sierologiche, inoltre, richiedono particolari piani attuativi (doppio campione, in fase acuta e in fase cronica, grandi gruppi di animali coinvolti) o valori di confronto fra i titoli anticorpali della madre con quelli del feto (Kirkbride et al., 1977). Di conseguenza, le risposte fornite dalla sierologia, soffrono di una scarsa applicabilità per veterinario di campo, soprattutto nel caso di aborti sporadici. Gottstein (2001), sottolinea come, nel caso della *Neospora caninum*, ritenuto ad oggi una delle più importanti cause di aborto bovino al mondo (Dubey e Lindsay, 1996), la positività sierologica trovi scarsa correlazione con la reale presenza dell'agente patogeno ed ancor più con lesioni istologiche tipiche della sua azione patogena. Ancor più complessa e labile è la relazione tra sieropositività all'agente della diarrea virale bovina (BVD-V) ed i casi di aborto attribuibili allo stesso (Rufenacht et al., 2001). La necessità di applicare, perlomeno in associazione alle tecniche diagnostiche routinarie classiche (sierologia, batteriologia ed isolamento su cultura), metodiche di indagine "in situ" che consentano una corretta interpretazione del ruolo patogeno di determinati agenti abortigeni, è ancor più evidente alla luce di frequenti stati di positività sierologica multipla. Biuk-Rudan et al. (1998), in uno studio in Croazia, rilevano che il 59% delle vacche con disordini riproduttivi erano sierologicamente positive sia al virus della rinotracheite infettiva bovina (BHV-1) che a quello della diarrea bovina (BVDV). Moore et al. (2003a), in Argentina, hanno indagato sulla prevalenza sierologica ai principali agenti abortigeni ed hanno rilevato una positività sierologica multipla elevata: 34% dei feti abortiti analizzati, evento simile ma di maggiore intensità viene evidenziato anche da Santos et al. (2005) in Brasile, con risposte sierologiche positive multiple nel 76% delle vacche che avevano abortito. Infine Kirkbride (1982) fa notare che l'eventuale agente patogeno può espletare la propria azione lesiva e abortiva senza dar luogo a reazione anticorpale valutabile.

L'isolamento virale è una metodica di non facile utilizzo, costosa e che richiede molto tempo, pertanto, come si diceva, risulta poco agevole in condizioni operative di "campo" (Kirkbride 1982).

Come la sierologia anche il metodo della cultura batterica non è esente dalla rilevazione di batteri il cui ruolo nell'evento aborto può essere secondario se non ininfluenza.

Kirkbride (1986) infatti considera validi i risultati della cultura batterica solo se essa è presente in purezza (colonie pure composte da una sola specie batterica senza inquinanti) ed associata, a livello istologico a lesioni compatibili con la presenza dello stesso patogeno. Stesso principio viene ripreso anche da Johnson et al. (1994) per quanto riguarda la placenta, che molto spesso, venendo a contatto con l'ambiente esterno, è ricca di contaminanti ambientali.

Appare perciò evidente l'importanza dell'utilizzo di un'approfondita analisi istopatologica associata a metodiche diagnostiche "in situ" (immunoistochimiche e molecolari) per avere una sicura e rapida individuazione di un determinato agente patogeno in un tessuto (Sarli, 1997) consentendo, nel caso dello studio delle cause infettive di aborto, di correlare la presenza dell'agente a lesioni tissutali e perciò a fenomeni patologici.

Come detto, negli studi epidemiologici, questa metodica viene molto spesso utilizzata solo come supporto e/o conferma di diagnosi ottenute con altri metodi investigativi, mentre i risultati con essa ottenuti vengono ampiamente descritti nei lavori scientifici che trattano solo un determinato agente abortigeno e i suoi effetti sui tessuti fetali (solo a titolo di esempio: Schuh et. Weinstock, 1985; Kirkbride et al., 1989; Alexander et al., 1992; Welsh et Stair, 1993; Cox et al., 1998).

1.1 SCOPI DELLA RICERCA

La presente ricerca, tramite una raccolta standardizzata di campioni provenienti da feti abortiti nel territorio del Friuli Venezia Giulia, si pone i seguenti obiettivi:

- vagliare l'influenza dei processi autolitici nello stato di conservazione dei campioni e nella successiva diagnosi istopatologica;
- ottenere un quadro parametrizzato delle lesioni reperite da correlarsi alla rilevazione di agenti eziologici, quest'ultima effettuata con l'ausilio di colorazioni istochimiche ed immunoistochimiche;
- elaborare, in funzione della distribuzione nei vari organi delle lesioni osservate, un corretto protocollo di campionamento da seguirsi in caso di aborto bovino nella pratica veterinaria;
- valutare le potenzialità ed i limiti dell'istopatologia nella diagnostica degli eventi abortivi in buiatria mediante il confronto dei risultati ottenuti con le informazioni presenti in letteratura relative all'applicazione di altre tecniche.
- ottenere alcuni dati preliminari sull'eziologia del fenomeno abortivo che possono essere considerati originali per il territorio del Friuli Venezia Giulia.

PARTE 2

MATERIALI E METODI

2.1 RACCOLTA CASISTICA E CAMPIONAMENTO.

2.2 PREPARAZIONE DEI CAMPIONI ISTOLOGICI

2.3 VALUTAZIONE ISTOLOGICA

2.3.1 Protocollo di valutazione dei preparati istologici

2.3.1.1 Parametri di conservazione dei campioni

2.3.1.2 Valutazione di aspetti non catalogabili.

2.3.1.3 Valutazione di lesioni di tipo infiammatorio

2.3.1.4 Valutazione di lesioni di tipo metabolico

2.3.1.5 Valutazione di lesioni vascolari

2.3.2 Colorazioni speciali

2.4 VALUTAZIONE IMMUNOISTOCHEMICA

2.4.1 Protocollo immunoistochimico standard

2.4.2 Anticorpi primari, anticorpi secondari e controlli positivi

2.4.3 Valutazione della colorazione immunoistochimica

2.5 TRATTAMENTO INFORMATICO DEI DATI

2.5.1 Database

2.5.2 Elaborazione dei dati

2.5.3 Gestione bibliografica

2.1 RACCOLTA CASISTICA E CAMPIONAMENTO.

La ricerca ha interessato 53 casi di aborti bovini spontanei, provenienti da 30 stalle del Friuli Venezia Giulia avvenuti nel periodo tra il 30 aprile 2003 e il 7 novembre 2006.

Per la maggior parte dei casi la raccolta dei campioni è avvenuta sul campo ad opera di veterinari libero professionisti. In un minor numero di casi, invece, la necropsia e successivo campionamento degli organi di interesse è stato diretto e operato presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Animali dell'Università degli Studi di UDINE o presso la stalla in cui si è verificato l'aborto.

In figura 2.1 (pagina seguente) viene mostrata la distribuzione geografica dei casi, mentre dalla tabella 2.1 si può evincere che 27 casi provengono dalla zona della bassa pordenonese (Friuli sud-occidentale), raccolti e campionati dal Dr. Daniele GALLO e 26 casi dalla zona del Friuli nord-orientale (Cividalese e Valli del Natisone); di questi, 19 sono stati raccolti e campionati dal Dr. Bruno CANTARUTTI e i rimanenti 7, come si è detto, esaminati direttamente.

Per la raccolta delle notizie anamnestiche del caso si è predisposta una scheda di invio dei campioni (figura 2.2) tuttavia per le condizioni di lavoro ed impegno dei colleghi libero professionisti, tale modulo non sempre è stato correttamente e completamente compilato, ciò è avvenuto solo nei casi esaminati direttamente dal personale della Facoltà. I dati anamnestici più significativi (stalla di origine, età e razza del feto, data dell'aborto, stima del tempo intercorso fra l'aborto e la raccolta dei campioni), tuttavia, sono presenti per la quasi totalità dei casi.

Come da letteratura presente (Cavirani, 1999; Del Piero 2003) gli organi richiesti ai colleghi o campionati direttamente sono stati: lingua; encefalo; timo; polmone; cuore; prestomaci; intestino; fegato; milza; muscolo; cute e, qualora possibile, placenta, in alcuni casi si sono aggiunti organi quali: cordone ombelicale; aorta; linfonodo; testicolo; utero e ovaie.

Dagli organi è stata prelevata una porzione rappresentativa, fissata con formalina tamponata al 10% (soluzione al 4% di formaldeide). I tempi di permanenza nel liquido fissativo sono risultati variabili, tale variabilità è da imputarsi alla frequenza con cui i colleghi liberi professionisti portavano i campioni in laboratorio. Più costante (48 ore) è risultata la fissazione per i campioni tissutali prelevati direttamente.

Azzano Decimo - PN	4
Fossalta di Portogruaro - VE	1
Gorgo al monticano - TV	5
Morsano al Tagliamento - PN	1
Pasiano - PN	1
Porcia - PN	3
Prata di PN - PN	1
Pravisdomini - PN	1
Rauscedo - PN	1
Turrida di Sedegliano - UD	3
Villotta di Chions - PN	4
non riportato	1
Totale	26

Buttrio - UD	1
Cividale del Friuli - UD	6
Cormons - GO	1
Gagliano di Cividale del Friuli - UD	5
Oculus di San Pietro al Natisone - UD	1
Povoletto - UD	1
Purgessimo di Cividale del Friuli - UD	1
Salt di Povoletto - UD	4
Siacco di Povoletto - UD	1
Spessa di Cividale del Friuli - UD	4
Tiglio di San Pietro al Natisone - UD	1
Torreano di Cividale del Friuli - UD	1
Totale	27

Tabella 2.1

Tabella 2.1 A sinistra le località relative alla zona della bassa pordenonese con relativo numero di casi per ogni località, a destra la zona del Friuli nord-orientale.



2.2 PREPARAZIONE DEI CAMPIONI ISTOLOGICI

Una volta terminato il periodo di fissazione, i campioni venivano sottoposti ad ulteriore riduzione di volume (“rifinitura” o “*gross section*”) per l’inserimento nelle gabbiette istologiche e la successiva processazione.

I campioni fissati e “rifilati”, destinati alle osservazioni istologiche, sono stati disidratati con i classici passaggi in bagni di alcool (alcool 80° per 2 h; alcool 95° per 2 h; 1° alcool 100° per 1 h; 2° alcool 100° per 1h; 1° xilolo per 30 min; 2° xilolo per 30 min) (processatore automatico: Top processor LX-120) e successivamente inclusi in paraffina (3 passaggi per 15 min). Dai campioni così trattati sono state ottenute, con microtomo rotativo (Leitz 1512), sezioni istologiche di 5 micron. Le sezioni così preparate venivano colorate all'ematossilina eosina (HE) e valutate microscopicamente.

2.3 VALUTAZIONE ISTOLOGICA

La valutazione istologica è stata effettuata con microscopio ottico Leica DMLB.

Al fine di standardizzare l'interpretazione dei preparati e permettere perciò un successivo confronto tra gli organi provenienti da diversi soggetti, si è ritenuto necessario stilare un protocollo di valutazione dettagliato.

Tutti i parametri di seguito elencati e descritti sono stati inseriti in una specifica tabella del database (MySQL 5.0) contenente tutti i dati della ricerca. Tale tabella era composta dai seguenti campi, qui raggruppati per semplicità espositiva:

TIPO DI DATO	CAMPI DEL DATABASE
segnalamento	N° del caso, codice vetro, organo
parametri di conservazione dei campioni	completezza strutturale, dettaglio nucleare, dettaglio citoplasmatico, eventuale presenza di inquinamento batterico, eventuale autolisi, presenza di inquinamento post mortale, parti mancanti
aspetti non catalogabili	eventuale assenza di lesioni, eventuale presenza di patogeni (batteri, ife fungine) e loro entità, difficoltà od impossibilità alla lettura istologica
lesioni si tipo infiammatorio	quattro campi: due campi descrizione (tipo di lesione) e due campi entità
lesioni di tipo metabolico	vedi sopra
lesioni vascolari	vedi sopra
descrizione	campo di testo libero per eventuali descrizioni aggiuntive (per es. colorazioni speciali) o per altre lesioni (infiammatorie, metaboliche o vascolari) oltre a quelle già segnalate

CASI(sola lettura) - OpenOffice.org Writer

File Modifica Visualizza Inserisci Formato Tabella Strumenti Finestra ?

Record di dati 33 da 53

Pagina 1 / 1 Standard STD HYP

CASO 9964	MANDANTE GALLO	ANAMNESI NT	PLACENTA SI
PROVENIENZA	DATA ABO. 27/04/2004	DATA LAB 15/06/2004	INTERTEMPO 1 ORA
ETA' FETO 8-9 MESI	LUNG.	LETTO SI	DIAGNOSI BVD
NOTE			

Figura 2.3 Maschera di inserimento nel database dei dati anamnestici per singolo caso

PRINCIPALE(sola lettura) - OpenOffice.org Writer

File Modifica Visualizza Inserisci Formato Tabella Strumenti Finestra ?

Record di dati 473 da 693

Pagina 1 / 1 Standard STD HYP

CASO 9512	VETRO B	ORGANO PLACENTA
STRUT. 5 su 5	D. CITO 1 su 5	D. NUC 2 su 5
BATTERI	LISI 30	PARTI MANCANTI
PATOGENI / ALTRO COLONIE BATTERICHE	ENTITA' 3 su 5	PATOGENI / ALTRO
LESIONE INFIAMMATORIA	ENTITA'	LESIONE INFIAMMATORIA
INFILT. GRANULO. MULTIFOCALE	ENTITA' 4 su 5	RICHIAMO CELLULE IMMUNITARIE
LESIONE METABOLICA	ENTITA'	LESIONE METABOLICA
NECROSI - VEDI DESCRIZIONE	ENTITA' 3 su 5	NECROSI CARIORETTICA
LESIONE CIRCOLATORIA	ENTITA'	LESIONE CIRCOLATORIA
DESCRIZIONE		
<p>FOCALI DI FLOGOSI PURULENTA INGLOBANTE PARTE DEL TROFBLASTO IL RICHIAMO E' MULTIFOCALE E GRANULOCITARIO PROBABILE PRESENZA DI MUCOSA UTERINA GRAM: PRESENZA DI BATTERI GRAM NEGATIVI BASTONCELLARI QUASI FILAMENTOSI LA CUI PRESENZA E' NETTAMENTE ASSOCIATA ALLE LESIONI</p>		

Figura 2.4 Maschera di inserimento nel database dei dati istopatologici per singolo organo

2.3.1 Protocollo di valutazione dei preparati istologici

2.3.1.1 Parametri di conservazione dei campioni

Al fine di raccogliere informazioni sull'adeguatezza dei campioni sono stati formulati dei parametri ritenuti correlati allo stato di avanzamento dei processi autolitici enzimatici e di alterazione dei tessuti determinata dall'attività di microorganismi. Questo in considerazione del fatto che in caso di aborto la morte del feto può avvenire anche molto tempo prima dell'effettivo aborto e, pertanto, i processi degenerativi dei tessuti fetali possono essere notevoli anche in caso di campionamento in tempi brevissimi. Inoltre, per alcuni casi il campionamento stesso è stato eseguito con ritardo rispetto alla morte fetale, per esempio aborti avvenuti di notte, con conseguente possibile alterazione dei tessuti.

Tramite questi parametri si rende possibile, inoltre, anche un confronto di procedura con lavori futuri.

Conservazione strutturale

Tabella 2.2 valutazione del parametro conservazione strutturale

5/5	presenza di tutti gli strati (organi cavi) o strutture (organi parenchimatosi)
4/5	mancanza di uno strato/struttura
3/5	mancanza di due strati/strutture
2/5	mancanza di tre strati/strutture
1/5	mancanza di quattro o più strati/strutture(campione non valutabile)

Dettaglio citoplasmatico

Tabella 2.3 valutazione del parametro dettaglio citoplasmatico

5/5	perfetta definizione del materiale citoplasmatico, assenza di alterazioni di membrana
4/5	lievi alterazioni citoplasmatiche, assenza di alterazioni di membrana
3/5	modeste alterazioni citoplasmatiche, visibili alterazioni di membrana
2/5	evidenti alterazioni citoplasmatiche, marcate alterazioni di membrana
1/5	difficile interpretazione del tipo cellulare

Dettaglio nucleare

Tabella 2.4 valutazione del parametro dettaglio nucleare

5/5	perfetta definizione delle caratteristiche morfologiche nucleari
4/5	lievi alterazioni delle caratteristiche nucleari
3/5	modeste alterazioni delle caratteristiche nucleari (es. vacuolizzazioni, alterazioni cromatiniche)
2/5	evidenti alterazioni delle caratteristiche nucleari (es. vescicolazione, marginazione nucleoli)
1/5	caratteristiche nucleari non valutabili

Qualora presente veniva valutata anche la presenza di autolisi (completa perdita contemporanea di tutti i parametri sopracitati), tale parametro veniva annotato come percentuale del preparato coinvolto dal processo.

Infine, veniva valutata la presenza di batteri di possibile irruzione secondaria, dovuti ad inquinamento post mortale (campionamento in condizioni igieniche scarse, permanenza del feto su superfici a carica batterica elevata). Per questa valutazione veniva analizzata la localizzazione dei batteri sul preparato istologico (solitamente ai margini del preparato), la quantità e conformazione dei batteri stessi, l'organo coinvolto (comune reperimento sulla cute) e la presenza o meno di reazione flogistica.

2.3.1.2 Valutazione di aspetti non catalogabili.

Gli aspetti inclusi in questa voce sono stati:

- non leggibile: parametri di qualità troppo scadenti, non permettono alcuna valutazione;
- difficilmente leggibile: parametri di qualità scadenti, non permettono una valutazione attendibile;
- nulla da rilevare: assenza di qualunque alterazione;
- cisti parassitarie o parassiti: presenza parassiti, liberi o incistati;
- colonie o focolai batterici: presenza di batteri non considerabili come inquinamento post mortale, e quindi probabile causa dell'aborto. Tale carattere veniva parametrizzato in base alla diffusione e grandezza delle colonie/focolai;
- ife fungine: presenza di ife fungine.

Si è stabilito di valutare questi aspetti immediatamente dopo i parametri di qualità, in quanto altamente suggestivi dell'importanza diagnostica del preparato. Preparati non leggibili, senza alcuna lesione o presentanti agenti patogeni sono, in questo modo, facilmente estrapolabili dal complesso di dati in possesso e posti in immediato risalto.

2.3.1.3 Valutazione delle lesioni di tipo infiammatorio

Infiltrati di cellule infiammatorie

Parametri valutati

I parametri presi in considerazione sono stati:

- il tipo cellulare, integrato da una stima delle proporzioni percentuali se di tipo misto;
- la distribuzione tissutale (*focale, multifocale, diffuso*);

- il tipo strutturale (*perivasale o diffuso*).

Tabella 2.5 parametri relativi all'infiltrato diffuso

1/5	2 – 5 cellule/campo (su una media di 5 campi)
2/5	5 – 20 cellule/campo (su una media di 5 campi)
3/5	20 – 50 cellule/campo (su una media di 5 campi)
4/5	50 – 150 cellule/campo (su una media di 5 campi)
5/5	> 150 cellule/campo (su una media di 5 campi)

Nel caso di *infiltrati multifocali* per la stima dell'entità si è valutato il numero e l'ampiezza dei focolai

Nel caso di *infiltrati perivasali* sono stati forniti i seguenti parametri di ampiezza dei manicotti e di densità cellulare.

Tabella 2.6 parametri descrittivi dell'infiltrato perivasale

AMPIEZZA			DENSITA'		
molto sottile	< 10 mcm		1/5	molto rado	appena percettibile
sottile	10 – 30 mcm		2/5	rado	percettibile
medio	30 – 100 mcm	E	3/5	denso	ben evidente
ampio	100 – 200 mcm		4/5	fitto	evidente con cellule stipate
molto ampio	> 200 mcm		5/5	molto fitto	cellule molto stipate

Richiamo intravasale di cellule infiammatorie, marginazione leucocitaria

Viene valutata la presenza di cellule infiammatorie all'interno dei vasi sanguigni del preparato e la loro eventuale adesione (marginazione) alle pareti dei vasi.

Tabella 2.7 parametri descrittivi del richiamo cellulare

1/5	presenza molto rara di cellule bianche all'interno dei vasi
2/5	presente in numero limitato
3/5	discreta quantità
4/5	elevata quantità
5/5	presenza di trombi leucocitari

Quando ben definita veniva indicata anche il tipo di popolazione leucocitaria coinvolta.

Tabella 2.8 parametri descrittivi della marginazione cellulare

1/5	rara	
2/5	5 – 25% endotelio rivestito	diffusa
3/5	25 – 50% endotelio rivestito	E focale
4/5	50 – 75% endotelio rivestito	multifocale

Altre lesioni di tipo infiammatorio

Quadri riferibili ad aspetti infiammatori complessi (es. enteriti catarrali, necrotiche, vasculiti, gliosi, satellitosi), sono stati parametrizzati in base all'imponenza del fenomeno.

2.3.1.4 Valutazione delle lesioni di tipo progressivo/regressivo e metabolico

In questo tipo di lesioni venivano catalogate tutte le iper/ipoplasie iper/ipotrofie sia di organo che di tessuto, le necrosi, le atrofie, le displasie, i depositi di pigmento o calcio, le degenerazioni (ialina, idropica), anche in questo caso la parametrizzazione veniva fatta utilizzando una scala da 1 a 5 in base all'imponenza del fenomeno.

2.3.1.5 Valutazione delle lesioni vascolari

Emorragie

La presenza di emorragie è stata valutata utilizzando i seguenti termini come parametri descrittivi della distribuzione e dell'entità.

Parametri di distribuzione: *perivasali; focali; multifocali; diffuse;*

Parametri di entità: *assenti; lieve; media; elevata; molto elevata.*

Tabella 2.9 parametri di valutazione delle emorragie

Parametri di distribuzione		Parametri di entità
perivasali		1/5 lieve entità
focali		2/5 media entità
multifocali	E	3/5 elevata entità
diffuse		4/5 entità molto elevata
		5/5 entità elevatissima, lago emorragico

Altre lesioni di tipo circolatorio

Aspetti riferibile ad edema, congestione vasale, ectasia dei linfatici, teleangectasia, emopoiesi venivano valutati in base all'intensità del fenomeno.

Nella tabella 2.10 (pagina seguente) vengono elencate le lesioni presenti nella tabella "lesioni" del database, il codice attribuito ad ogni lesione ha un'importanza meramente gestionale (A e P= aspetti non catalogabili, C= lesioni circolatorie, I= lesioni infiammatorie, M= lesioni metaboliche), se presente, l'organo indica che la lesione è specifica per tale organo (emolinfopoietici: milza; timo; linfonodi; MALT; GALT; BALT)

CODICE	ORGANO	LESIONE
A00		NON CLASSIFICATO - VEDI DESCRIZIONE
A10		NON LEGGIBILE
A11		DIFFICILMENTE LEGGIBILE
A20		NULLA DA RILEVARE

C100		CONGESTIONE VASALE
C10V		CONGESTIONE VASALE DEI VILLI
C50L		ECTASIA LINFATICI - LINFANGECTASIA
C50S		ECTASIA SINUSALE
C600		EDEMA
C700		EMOPOIESI
C300		EMORRAGIA - VEDI DESCRIZIONE
C30D		EMORRAGIA DIFFUSA
C30M		EMORRAGIA MULTIFOCALE
C30V		EMORRAGIA PERIVASALE
C200		INFARCIMENTO EMORRAGICO
C4F0	FEGATO	PELIOSI
C50T		TELANGECTASIA

I4IIC	INTESTINO	ENTERITE CATARRALE
I4IIN	INTESTINO	ENTERITE NECROTIZZANTE
I4C00	ENCEFALO	GLIOSI
I30D		INFILT. DIFFUSO
I3GD		INFILT. GRANULO. DIFFUSO
I3E0		INFILT. GRANULO. EOSINOFILO
I3ED		INFILT. GRANULO. EOSINOFILO DIFFUSO
I3EM		INFILT. GRANULO. EOSINOFILO MULTIFOCALE
I3EV		INFILT. GRANULO. EOSINOFILO PERIVASALE
I3GM		INFILT. GRANULO. MULTIFOCALE
I3GV		INFILT. GRANULO. PERIVASALE
I3G0		INFILT. GRANULOCITARIO.
I3LD		INFILT. LINFO. DIFFUSO
I3LM		INFILT. LINFO. MULTIFOCALE
I4FL		INFILT. LINFO. PERIORTALE
I3LV		INFILT. LINFO. PERIVASALE
I4LP0		INFILT. LINFO. PORTALE
I3L0		INFILT. LINFOCITARIO
I3LPD		INFILT. LINFOPLASMA. DIFFUSO
I3LPM		INFILT. LINFOPLASMA. MULTIFOCALE
I3LPV		INFILT. LINFOPLASMA. PERIVASALE
I3LP0		INFILT. LINFOPLASMACELLULARE
I3MD		INFILT. MISTO DIFFUSO
I3M0		INFILT. MISTO LINFO.
I3MM		INFILT. MISTO MULTIFOCALE
I3MV		INFILT. MISTO PERIVASALE
I3MGO		INFILT. MISTO PREV GRANULO.
I3MGD		INFILT. MISTO PREV GRANULO. DIFFUSO
I3MGM		INFILT. MISTO PREV GRANULO. MULTIFOCALE
I3MGV		INFILT. MISTO PREV GRANULO. PERIVASALE
I3ML0		INFILT. MISTO PREV LINFO.
I3MLD		INFILT. MISTO PREV LINFO. DIFFUSO
I3MLM		INFILT. MISTO PREV LINFO. MULTIFOCALE
I3MLV		INFILT. MISTO PREV LINFO. PERIVASALE
I30M		INFILT. MULTIFOCALE
I30V		INFILT. PERIVASALE
I300		INFILTRATO - VEDI DESCRIZIONE
I700		ISTIOCITOSI SINUSALE
I400		LEUCOCIT GLOBULARI
I423P	FEGATO	MANICOTTI PERIORTALI
I230		MANICOTTI PERIVASCOLARI
I23D		MANICOTTI PERIVASCOLARI DIFFUSI
I23M		MANICOTTI PERIVASCOLARI MULTIFOCALI
I210		MARGINAZIONE - VEDI DESCRIZIONE
I21G		MARGINAZIONE GRANULOCITARIA
I21L		MARGINAZIONE LEUCOCITARIA
I200		RICHIAMO CELLULE IMMUNITARIE
I4C10	ENCEFALO	SATELLITOSI
I4V00		VASCULITE
I4VG0		VASCULITE GRANULOCITARIA
I4VL0		VASCULITE LINFOCITARIA
I4VN0		VASCULITE NECROTIZZANTE

CODICE	ORGANO	LESIONE
M4IVF	INTESTINO	ATROFIA IPERRIG. - VILLI A FOGLIA
M4IVR	INTESTINO	ATROFIA IPERRIG. - VILLI RAMIFICATI
M4TCH	TIMO	ACANTOLISI CORPUSCOLI DI HASSAL
M4CF		ANOMALIA FOLLICOLI PILIFERI
M4LCS	LINFOLDI	ASPETTO A CIELO STELLATO
M20C		CALCIFICAZIONE
M11A		DEGENERAZIONE IALINA
M11D		DEGENERAZIONE IDROPICA
M4M--L	MILZA	DEPLEZIONE LINEA LINFOIDE
M4M--M	MILZA	DEPLEZIONE MEGACARIOCITARIA
M4M--P	MILZA	DEPLEZIONE POLPA ROSSA
M20P		DEPOSIZIONE PIGMENTO
M4I+VC	INTESTINO	DILATAZIONE DEI VASI CHILIFERI
M4PO	POLMONE	ENFISEMA
M5F0		FIBROSI
M2C0		INCLUSI INTRACITOPLASMATICI
M2N0		INCLUSI INTRANUCLEARI
M+00		IPER. - VEDI DESCRIZIONE
M4I+CC	INTESTINO	IPER. CELLULE CALICIFORMI
M4T+CM	TIMO	IPER. CELLULE MIOIDI
M4T+H	TIMO	IPER. CORPUSCOLI DI HASSAL
M4L+C	LINFOLDI	IPER. CORTICALE
M4I+PP	INTESTINO	IPER. DELLA PLACCA DEL PEYER
M4I+F	LINFOLDI	IPER. FOLLICOLARE
M4I+GI	INTESTINO	IPER. GHIANDOLE INTESTINALI
M4L+M	LINFOLDI	IPER. MIDOLLARE
M4M+NL	MILZA	IPER. NODULI LINFATICI
M4L+PC	LINFOLDI	IPER. PARACORTICALE
M4M+PB	MILZA	IPER. POLPA BIANCA
M4P+T	PLACENTA	IPER. TROFOBLASTI
M4V+00		IPER. VASCOLARE
M+V		IPERTROFIA VILLI
M4T++H	TIMO	IPERTROFIA CORPUSCOLI DI HASSAL
M-00		IPOTROFIA/PLASIA - VEDI DESCRIZIONE
M4T-CM	TIMO	IPO. CELLULE MIOIDI
M4T-H	TIMO	IPO. CORPUSCOLI DI HASSAL
M4L-C	LINFOLDI	IPO. CORTICALE
M4I-PP	INTESTINO	IPO. DELLA PLACCA DEL PEYER
M4L-F	LINFOLDI	IPO. FOLLICOLARE
M4L-M	LINFOLDI	IPO. MIDOLLARE
M4M-NL	MILZA	IPO. NODULI LINFATICI
M4L-PC	LINFOLDI	IPO. PARACORTICALE
M4M-PB	MILZA	IPO. POLPA BIANCA
M4P-T	PLACENTA	IPO. TROFOBLASTI
M4V-00		IPO. VASCOLARE
M-V		IPO. VILLI
M4T--H	TIMO	IPOTROFIA CORPUSCOLI DI HASSAL
M5MS		METAPLASIA SQUAMOSA
M4P20	PLACENTA	MINERALIZZAZIONE PLACENTARE
M100		NECROSI - VEDI DESCRIZIONE
M1C0		NECROSI CASEOSA
M4L10	LINFOLDI	NECROSI CENTROFOLLICOLARE
M1CCO		NECROSI COLLIQUATIVA CARIORETTICA
M4L00	LINFOLDI	NECROSI LINFOCITARIA
M1P0		NECROSI PUNTIFORME
M2PC		PRECIPITATO CRISTALLINO
M5S0		SCLEROSI
M3MA0		STEATOSI MACROVESCICOLARE
M3MI0		STEATOSI MICROVESCICOLARE
M4IVE	INTESTINO	VILLI CON ESTREMITA ESPANSA

P00	PATOGENI	COLONIE BATTERICHE
P01	PATOGENI	FOCOLAI BATTERICI
P03	PATOGENI	IFE FUNGINE
P04	PATOGENI	CISTI PARASSITARIE
P05	PATOGENI	PARASSITI

2.3.2 Colorazioni speciali.

In caso di rilievi istopatologici, in particolare indicanti la presenza di un possibile agente patogeno, il preparato analizzato veniva sottoposto ad ulteriori indagini istochimiche (Woods et Walker, 1996). Queste venivano operate su sezioni istologiche di 5 μm mediante l'applicazione di una delle seguenti metodiche.

Colorazione di GRAM modificata da TWORT

Utilizzata per la distinzione fra batteri Gram-positivi (colorabili in viola scuro, nero) e Gram-negativi (colorati in rosso) veniva impiegata ogni qual volta vi fossero colonie o focolai batterici o lesioni riferibili a tali microorganismi (infiltrati di particolare intensità). Il protocollo per tale metodica è reperibile presso il sito: <http://www.bristol.ac.uk/vetpath/cpl/gramtw.html>

Impregnazione argentica di GROCOTT (GMS)

Con l'impregnazione argentica le ife fungine vengono rese particolarmente evidenti e risaltano nettamente su colore di contrasto (solitamente il verde luce). Tale colorazione è stata utilizzata ogni qual volta all'HE si riscontrassero strutture riferibili a miceti o lesioni a questi ascrivibili.

Si è utilizzata la metodica tradizionale come illustrata in <http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/GMS.PDF>

Colorazione Rosso Sirio

Il colorante Rosso Sirio (Red Sirius Color Index: 35780) è particolarmente indicato per la colorazione di materiale eosinofilo. Principalmente utilizzato per la colorazione della sostanza amiloide è stato qui utilizzato per una miglior definizione degli infiltrati granulocitari eosinofili, in quanto colora specificamente i granuli eosinofili in essi contenuti. Si è seguita la metodica illustrata in: <http://www.bristol.ac.uk/vetpath/cpl/sirius.html>

Colorazione floxina tartrazina di LENDRUM

Impiegata per una miglior evidenziazione di corpi inclusi nel corso di infezioni virali, basa il meccanismo di colorazione sulla forte acidofilia delle particelle virali o dei virioni contenuti in tali corpuscoli. La metodica è illustrata in <http://home.primus.com.au/royellis/morg.htm>

Colorazione di PIZZOLATO

Questa colorazione è stata utilizzata per la visualizzazione di cristalli di ossalato di calcio (CaC_2O_4) nei tubuli renali. Tali cristalli, che all'HE appaiono incolori ma birifrangenti in luce polarizzata, reagiscono con l' H_2O_2 e l'argento nitrate (AgNO_3) della tecnica diventando neri. La metodica seguita è l'originale di PIZZOLATO (1964).

2.4 VALUTAZIONE IMMUNOISTOCHEMICA

Tutti i preparati con lesioni attribuibili a malattie infettive, o con aspetti che potessero far sospettare un agente patogeno non altrimenti rilevabile sono stati sottoposti ad una o più colorazioni immunoistochimiche. Tale metodica utilizza l'elevata affinità degli anticorpi nei confronti degli antigeni verso cui sono diretti (Haines et West, 2005). Rendendo localizzabile l'eventuale reazione antigene-anticorpo, in ultima analisi, si rende visualizzabile il patogeno recante l'antigene ricercato. Dal primo utilizzo della metodica (1941) ad oggi, molti sono stati i protocolli sviluppati per migliorare la tecnica (Coleman, 2000). I principi fondamentali, tuttavia, restano inalterati e prevedono l'utilizzo di uno o più (metodo diretto o indiretto) anticorpi, un complesso rilevatore ad essi associabile ed una sostanza (cromogeno) che, modificata dal complesso rilevatore, dia luogo alla colorazione del sito presentante l'antigene (Haines et Chelack, 1991). La scelta dell'antigene, e quindi del patogeno, da ricercare è stata fatta in base alle lesioni presenti e all'organo interessato.

2.4.1 Protocollo immunoistochimico standard

Il protocollo utilizzato in questo studio ha utilizzato la metodica immunoistochimica indiretta (anticorpo primario, specifico per l'antigene, e secondario, o anticorpo ponte biotinilato) con complesso ABC (complesso rilevatore) e DAB (cromogeno).

I preparati da sottoporre alla metodica sono stati sezioni istologiche di 5 μm del campione in esame poste su vetrino polisinato (BDH Laboratory Supplies Italy) e lasciate asciugare in stufa a 37° C per circa 18 ore. Seguivano le normali prassi di sparaffinatura e reidratazione.

Per evitare falsi positivi dovuti alla reazione del cromogeno con perossidasi endogene, queste venivano disattivate per sovrasaturazione con H_2O_2 al 3% per 15 min. a temperatura ambiente.

Per evitare falsi negativi, imputabili al mascheramento dell'antigene a seguito della formazioni di legami metilici fra l'antigene e molecole vicine, dovuto alla fissazione in formalina, il preparato veniva sottoposto a trattamento enzimatico (tripsina bovina allo 0,5% in soluzione di CaCl_2 0,5 % per 30 min. a 37°).

Per evitare ulteriori reazioni di falsa positività, dovute alla reazione dell'anticorpo con siti aspecifici (molecole simili all'antigene ricercato, materiale amorfo), il campione è stato fatto reagire con siero normale della stessa origine dell'anticorpo secondario (diluito 1:20) a temperatura ambiente per 30 min.

Terminati i trattamenti per l'eliminazione di false negatività o positività, si è passati all'applicazione dell'anticorpo primario alla diluizione d'uso, in precedenza testata, a temperatura ambiente per 2 h. Seguiva l'incubazione con l'anticorpo ponte diretto contro le immunoglobuline della specie animale da cui è stato ottenuto l'anticorpo primario, per 30 min, e, successivamente, del complesso rilevatore ABCComplex (K0355 DakoCytomation Denmark). Questo veniva fatto reagire con il cromogeno (Diaminobenzidina 0,05%, Sigma, Missouri USA) per 7'. Ultimava la procedura la controcolorazione con ematossilina, la disidratazione e il montaggio in resina sintetica.

2.4.2 Anticorpi primari, secondari e controlli di prova

Gli anticorpi primari utilizzati in questo studio erano diretti contro: BHV-1; BVDV; *Listeria monocytogenes*; *Neospora caninum*.

La tabella 2.11 riporta l'elenco, la provenienza, l'origine, la tipologia e la diluizione di lavoro degli anticorpi primari sopra elencati:

Tabella 2.11

Ab anti -	Codice prodotto e Provenienza	origine	tipo	diluizione
BHV-1	Pool A – IZS Lombardia ed Emilia	topo	M.Abs	1:400
BVDV	Pool 6 – IZS Lombardia ed Emilia			1:40
<i>L. monocytogenes</i>	223021 – BD Diagnostic System- New Jersey USA	coniglio	P.Abs	1:1000
<i>N. caninum</i>	210-70-NC - VMRD.inc Washington USA	capra	P.Abs	1: 2000

La tabella 2.12, invece, riporta i dettagli degli anticorpi secondari:

Tabella 2.12

Ab anti IG di	Codice prodotto, provenienza	origine	diluizione
topo	E 0433 DakoCytomation Denmark	capra	1:200
coniglio	E 0432 DakoCytomation Denmark	capra	1:400
capra	B 7014 DakoCytomation Denmark	coniglio	1:600

Data la complessità della metodica e il numero di reagenti coinvolti, per la validazione della procedura in tutte le prove immunoistochimiche, oltre ai campioni da esaminare, veniva inserito un controllo positivo (tessuto che presenti sicuramente l'antigene) che confermasse la buona riuscita della tecnica. Inoltre, perché la positività fosse sicuramente attribuibile alla presenza dell'antigene e

non ad altre cause (siti di legame aspecifico, reazioni aspecifiche dell'anticorpo secondario) su una copia dei preparati in esame si procedeva alla omissione dell'anticorpo primario (sostituito con siero normale e albumina) o alla sua sostituzione con un anticorpo diretto verso antigeni diversi rispetto a quello ricercato.

I controlli positivi per la validazione del protocollo immunoistochimico sono stati ottenuti a seguito di una ricerca bibliografica per soggetto (IBR, BVD etc) e la richiesta di materiale biologico all'autore dell'articolo. Con tale metodo si sono ottenuti i seguenti materiali:

- BVDV: 2 campioni FFPE dal Prof. PETERHANS (Rüfenacht et al., 2001) Institute of Veterinary Virology. University of Bern SWITZERLAND; campioni fissati in formalina dal Dr. GALLO;
- BHV-1: campione FFPE dal Dr. NARITA (Narita et al., 2000) National Institute of Animal Health, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries JAPAN;
- *Neospora caninum*: 1 campione FFPE dal Dr. David BUXTON (Schock et al., 2000) Moredun Research Institute Pentlands Science Park UK; due campioni di encefalo bovino fissato in formalina tamponata dal Dr. ORTEGA MORA (Periera-Bueno et al., 2003) Departamento de Sanidad Animal, Facultad Veterinaria UCM SPAIN, 1 campione FFPE dal Prof. Dr. Bruno GOTTSTEIN (Gottstein et al., 1998) Institute of Parasitology University of Bern SWITZERLAND;
- *Listeria monocytogenes*: un campione FFPE dal Dr Carlos M. CAMPERO (Campero et al., 2002) Patología Veterinaria INTA ARGENTINA;
- *Coxiella burnetti*: 4 campioni FFPE Dal Prof. RAOULT (La Scola et al., 1997) Unite´ des Rickettsies, Universite´ de la Mediterranee, Faculte´ de Medecine FRANCE.

2.4.3 Valutazione della colorazione immunoistochimica

Come per la valutazione istochimica, anche la lettura delle prove immunoistochimiche è stata effettuata con microscopio ottico Leica DMLB. Per ogni prova si è valutata la validità (positività del campione di controllo), mentre, nei preparati, l'eventuale presenza di positività veniva considerata solo se associata all'assenza di reazione nei controlli con omissione o cambio dell'anticorpo primario. I dati ottenuti venivano registrati su apposita tabella del database, nella quale si annotava l'entità della reazione positiva e le cellule, i tessuti o le strutture coinvolte.

2.5 TRATTAMENTO INFORMATICO DEI DATI

La presente ricerca ha utilizzato grandemente i mezzi e le potenzialità della moderna informatica. Questo, considerata la quantità e qualità dei dati generati dallo studio, ha permesso una ottimizzazione della gestione sia dello studio stesso che dei risultati ottenuti.

Si è scelto di utilizzare unicamente software *open-source*, pertanto, tutti gli applicati descritti in questa sezione risultano liberamente scaricabili, utilizzabili e modificabili.

2.5.1 Database

Il database impostato per lo studio si è basato su un sistema server-client MySQL 5.0, per l'amministrazione del server e gestione del database è stato utilizzato MySQL Control center, entrambi gli applicativi sono scaricabili dal sito: www.mysql.com; per l'inserimento dei dati si è utilizzato il modulo BASE dell'applicativo per l'automatizzazione d'ufficio *OpenOffice.org* (sito di riferimento: www.openoffice.org).

2.5.2 Elaborazione dei dati

Per l'elaborazione dei dati presenti nel database sono stati utilizzati fogli di calcolo impostati utilizzando il modulo CALC del precedentemente citato *OpenOffice.org*, con tali strumenti è stata possibile la catalogazione, conta e elaborazione statistica dei dati. L'importazione dei dati dal database è risultata particolarmente agevole grazie alla funzione DataImport presente in tale applicativo.

2.5.3 Gestione bibliografica

Considerata la quantità di voci bibliografiche e la loro diversificazione su vari argomenti, particolarmente utile è stato l'utilizzo del gestore di collezioni Tellico (<http://periapsis.org/tellico/>). Grazie a tale strumento la gestione bibliografica è risultata agevole e di facile consultazione anche per quanto riguarda i punti di contatto con i diversi autori per l'ottenimento dei campioni biologici positivi.

L'applicativo, al momento, è utilizzabile solo in ambienti operativi Linux.

PARTE 3

RISULTATI

3.1 ESITI DEL CAMPIONAMENTO E DELLA VALUTAZIONE QUALITATIVA DEI CASI RACCOLTI

3.1.1 Casi raccolti

3.1.2 Valutazione dello stato di conservazione dei campioni istologici

3.2 QUADRI ISTOPATOLOGICI ED IMMUNOISTOCHEMICI RISCONTRATI SUDDIVISI PER SINGOLO CASO

3.3 RIEPILOGO DAGNOSTICO

3.4 QUADRI ISTOPATOLOGICI SUDDIVISI IN BASE ALL'EZIOLOGIA

3.4.1 Aborti di origine virale

3.4.1.1 Aborti dovuti ad infezione da BVDV

3.4.1.2 Aborti dovuti ad infezione da BHV-1

3.4.2 Aborti di origine batterica

3.4.2.1 Placentiti batteriche

3.4.2.2 Placentiti e polmoniti batteriche

3.4.2.3 Polmoniti batteriche

3.4.3 Aborti di origine micotica

3.4.4 Aborti di origine non determinabile

3.1 ESITI DEL CAMPIONAMENTO E DELLA VALUTAZIONE QUALITATIVA DEI CASI RACCOLTI

3.1.1 Casi raccolti

In totale il materiale patologico esaminato in questo studio consta di 53 casi di aborto bovino, così suddivisi:

- 21 serie di campioni di organi con placenta;
- 2 campioni di placenta senza alcun altro organo;
- 22 serie di campioni di organo senza placenta;
- 6 feti interi con placenta;
- 3 feti interi senza placenta.

Nella tabella 3.1 viene riepilogata la casistica in base al veterinario, al materiale inviato, alla razza principalmente allevata, alla tipologia e grandezza della stalla da cui proviene il caso; il numero del caso corrisponde al numero del registro in uso presso il Laboratorio di Istopatologia della Sezione di Biologia e Patologia Animale, Dipartimento di Scienze Animali, Università degli Studi di UDINE.

I casi provengono da 30 differenti aziende, per quanto riguarda la tipologia di allevamento, dalla tabella seguente si può rilevare che la razza principalmente allevata è la Pezzata Rossa Italiana (Simmenthal), seguita dalla Frisona Italiana.

Le dimensioni degli allevamenti sono così rappresentate: aziende di piccolissime dimensioni (meno di 50 capi allevati): 14; aziende piccole (fra 51 e 100 capi allevati): 5; aziende di medie dimensioni (fra 101 e 200 capi allevati): 4; aziende di grandi dimensioni (oltre 200 capi allevati): 7.

La tipologia di allevamento prevalente è a stabulazione libera.

Nel 70% (n=21) delle stalle si è verificato un solo aborto, nel 3,3% (n=1) due, nel 13,3% (n=4) tre e nel 6,67% (n=2) sia 4 che 5 aborti. Stante a questa statistica il 34% (n=18) degli aborti si è verificato in aziende di piccolissime dimensioni, il 19% (n=10) in aziende di piccole dimensioni, il 15% (n=8) in aziende di medie dimensioni e il 32% (n=16) in aziende di grandi dimensioni.

La maggior parte degli aborti è avvenuta durante il periodo primaverile, molto rari sono risultati gli aborti durante il periodo invernale (tabella 3.2). La somma totale dei casi presenti in tale tabella difetta di un'unità, trattasi di un caso in cui non si è preso nota della data in cui è avvenuto l'aborto.

Tabella 3.2

	PRIMAVERA	ESTATE	AUTUNNO	INVERNO	
2003	12	4	5	0	21
2004	9	3	1	4	17
2005	5	1	1	0	7
2006	6	0	1	0	7
	32	8	8	4	52

Basandosi sul trimestre di gestazione in cui è avvenuto l'aborto (tabella 3.3), si evince una netta prevalenza di aborti nell'ultima parte della gravidanza. In questa tabella la somma totale dei casi difetta di due unità poiché, per un caso, non si è registrato il momento dell'aborto, e per un altro non è stato possibile stabilirlo.

Tabella 3.3

	1° TRIM.	2° TRIM.	3° TRIM.	
2003	0	9	12	21
2004	4	5	7	16
2005	0	4	3	7
2006	0	2	5	7
	4	20	27	51

CASO	EFFERENTE	MATERIALE INVIATO	RAZZA	STABILAZIONE	Capi allevati
9019	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	PRI	Libera cuccette	> 201
9046	Dr. GALLO	ORGANI	PRI	Libera lettiera perm.	> 201
9047	Dr. GALLO	ORGANI	FI / PRI	Libera cuccette	101<x<200
9048	Dr. GALLO	ORGANI	FI	Libera lettiera perm.	> 201
9049	Dr. GALLO	ORGANI	FI	Libera lettiera perm.	> 201
9050	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	FI	Libera cuccette	> 201
9051	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	PRI	Libera cuccette	> 201
9066	Dr. CANTARUTTI	ORGANI	PRI	Fissa	51<x<100
9101	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Libera cuccette	< 50
9102	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
9103	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	FI	Libera lettiera perm.	101<x<200
9115	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	FI	Libera lettiera perm.	> 201
9209	Dr. GALLO	ORGANI	FI / PRI	Libera cuccette	101<x<200
9293	Dr. GALLO	ORGANI	FI	Libera lettiera perm.	> 201
9294	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
9295	Dr. GALLO	ORGANI	FI	Libera cuccette	> 201
9366	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Libera cuccette	101<x<200
9422	Dr. GALLO	ORGANI	FI	Libera cuccette	> 201
9512	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	FI / PRI	Libera cuccette	101<x<200
9513	Dr. GALLO	ORGANI	FI	Libera cuccette	> 201
9549	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
9644	Dr. CANTARUTTI	ORGANI	PRI	Libera cuccette	51<x<100
9645	Dr. CANTARUTTI	PLACENTA	LIM	Libera lettiera perm.	51<x<100
9696	Dr. PITTIONI	FETO + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
9710	Dr. CANTARUTTI	ORGANI	PRI	Fissa	< 50
9906	Dr. PITTIONI	FETO + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
9959	Dr. PITTIONI	FETO	PRI	Fissa	< 50
9960	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	FI / PRI	Libera cuccette	101<x<200
9961-1	Dr. GALLO	FETO	FI	Libera cuccette	> 201
9961-2	Dr. GALLO	FETO + PLACENTA	FI	Libera cuccette	> 201
9962	Dr. GALLO	ORGANI	FI / PRI	Libera cuccette	101<x<200
9963	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	FI / PRI	Libera cuccette	101<x<200
9964	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	FI	Libera cuccette	> 201
9965	Dr. GALLO	ORGANI + PLACENTA	FI	Libera cuccette	> 201
10036	Dr. PITTIONI	FETO + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
10090	Dr. GALLO	ORGANI	PRI	Libera cuccette	> 201
10091	Dr. GALLO	ORGANI	FI / PRI	Libera cuccette	101<x<200
10092	Dr. GALLO	ORGANI	n.r.	n.r.	n.r.
10111	Dr. PITTIONI	FETO + PLACENTA	PR/BA	Libera cuccette	< 50
10143	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Libera cuccette	51<x<100
10146	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
10147	Dr. CANTARUTTI	ORGANI	PRI	Fissa	51<x<100
10188	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Libera cuccette	51<x<100
10191	Dr. GALLO	ORGANI	n.r.	stato brado	< 50
10207	Dr. CANTARUTTI	ORGANI	PRI	Fissa	51<x<100
10267	Dr. PITTIONI	FETO + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
10299	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Fissa	< 50
10300	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	BA	Libera cuccette	51<x<100
10314	Dr. PITTIONI	FETO	PRI	Fissa	51<x<100
10317	Dr. CANTARUTTI	ORGANI + PLACENTA	PRI	Libera lettiera perm.	< 50
10323	Dr. CANTARUTTI	ORGANI	PRI	Fissa	< 50
10326	Dr. CANTARUTTI	ORGANI	PRI	Fissa	< 50
10377	Dr. CANTARUTTI	PLACENTA	PRI	Libera cuccette	< 50

Tabella 3.1

LEGENDA:

PRI: pezzata
rossa italiana

FI: frisona italiana

LIM: limousine

BA: bruna alpina

3.1.2 Valutazione dello stato di conservazione dei campioni istologici

Dai campioni ricevuti si sono ottenute ed osservate microscopicamente 693 sezioni istologiche d'organo; tali sezioni sono riferibili, poiché in alcuni casi lo stesso organo è stato campionato più volte, a 638 organi fetali valutati.

Nella tabella 3.4 sono riportati gli organi valutati con il relativo numero di campioni.

Tabella 3.4

ORGANO	N. CAMPIONI	ORGANO	N. CAMPIONI
CUORE	50	LINFONODO	9
POLMONE	49	ESOFAGO	6
INTESTINO TENUE	48	TRACHEA	6
FEGATO	48	OMENTO	5
RENE	47	TESTICOLO	5
ENCEFALO	44	PERICARDIO	3
MILZA	41	DIAFRAMMA	3
LINGUA	40	AORTA	3
TIMO	35	UTERO	2
RUMINE	33	OVAIO	2
CUTE	31	EMOLINFONODO	1
PLACENTA	29	PLACENTA CORIALE	1
MUSCOLO	23	MENINGI	1
INTESTINO CRASSO	22	GALT - LINFONODULO	1
ABOMASO	21	MESO	1
OMASO	14	CORDONE OMBELICALE	1
RETICOLO	13		

In media, erano presenti n=12 organi per caso con una S.D. pari a 3. In n=2 casi, come detto, era presente un solo organo (placenta).

Le medie matematiche, e le relative deviazioni standard, in merito ai dettagli qualitativi, sul totale delle sezioni d'organo valutate (n=693), sono le seguenti:

dettaglio nucleare: 2,6 S.D.: 0,74;

dettaglio citoplasmatico : 2,3 S.D.: 0,81;

componente strutturale: 4,6 S.D.: 0,47.

Nella tabella successiva (tabella 3.5), vengono riportati le medie dei parametri di dettaglio nucleare (DET. NUC.), dettaglio citoplasmatico (DET. CIT.), struttura e autolisi (calcolata come percentuale della sezione d'organo coinvolta da tale processo) per gli organi di cui sono stati valutati almeno 10 campioni.

I dati sono stati espressi in ordine decrescente in base alla qualità del dettaglio nucleare, dettaglio citoplasmatico e numero (N) di campioni dell'organo presenti.

Tabella 3.5

ORGANO	N.	DET. NUC.	DET. CIT.	STRUTTURA	AUTOLISI (%)
CUORE	50	2,9	2,7	4,4	6,6
ENCEFALO	44	2,9	2,3	4,2	3,67
RETICOLO	13	2,8	2,5	4,8	7,69
ABOMASO	21	2,8	2,7	4,0	4,09
LINGUA	40	2,7	2,7	4,5	4
MUSCOLO	23	2,7	2,6	4,7	0
OMASO	14	2,6	2,4	4,6	7,14
TIMO	35	2,6	2,2	4,8	3,08
RUMINE	33	2,6	2,3	4,5	3,82
CUTE	31	2,6	2,4	4,8	1,61
MILZA	41	2,5	2,0	4,7	5,35
PLACENTA	29	2,5	2,3	4,9	17,86
RENE	47	2,5	1,7	3,9	6,49
INTESTINO TENUE	48	2,4	2,1	4,2	14,75
POLMONE	49	2,4	2,0	4,7	2,06
INTESTINO CRASSO	21	2,3	2,1	3,8	24,09
FEGATO	48	2,3	2,0	4,4	9,25

Come si può notare, ad eccezione dell'encefalo in seconda posizione, risultano meglio conservati gli organi in cui la componente muscolare è più rappresentata (cuore, reticolo, abomaso, lingua e muscolo), mentre risultano più rovinati gli organi a prevalente struttura epiteliale. Da rilevare, infine, la notevole autolisi a livello intestinale e placentare.

CASO	ABORTO	LAB	FIS.	INTERTEMPO	D. N.	D. C.	AUT.	ETA
9019	30/04/2003	02/05/2003	2	non riportato	3,5	3,1	0,0	4,5
9046	12/05/2003	21/05/2003	9	NOTTE	2,8	2,6	2,7	4,5
9047	12/05/2003	21/05/2003	9	non riportato	1,7	1,2	7,3	8
9048	12/05/2003	21/05/2003	9	NOTTE	2,1	1,7	9,5	7,5
9049	12/05/2003	21/05/2003	9	NOTTE	1,3	1,2	0,0	8
9050	14/05/2003	21/05/2003	7	non riportato	2,4	1,9	0,0	8,5
9051	15/05/2003	21/05/2003	6	non riportato	2,1	2,0	8,8	7
9066	15/05/2003	16/05/2003	1	nullo	4,0	4,1	0,0	9
9101	10/05/2003	07/06/2003	28	alcune ore	2,1	1,9	10,9	6,5
9102	14/05/2003	07/06/2003	24	nullo	2,3	1,7	3,5	6
9103	17/05/2003	07/06/2003	21	non riportato	2,5	2,1	6,5	7
9115	12/06/2003	12/06/2003	0	non riportato	2,8	2,2	1,2	5
9209	non riportato	31/07/2003	n.r.	28 ore	2,1	1,6	4,7	5
9293	non riportato	18/09/2003	n.r.	18 ore	2,8	2,4	0,0	8
9294	non riportato	18/09/2003	n.r.	nullo	2,4	2,3	1,3	5
9295	non riportato	18/09/2003	n.r.	NOTTE	2,0	1,0	4,2	6
9366	01/10/2003	10/10/2003	9	nullo	3,1	3,0	0,0	7
9422	01/11/2003	03/11/2003	2	10 ore	1,7	1,5	16,5	7
9512	13/11/2003	12/12/2003	29	6 ore	2,5	2,1	17,1	7
9513	04/12/2003	12/12/2003	8	nullo	2,3	2,1	13,3	6
9549	15/10/2003	22/12/2003	68	oltre 24 ore	1,8	1,4	20,3	7
9644	24/01/2004	29/01/2004	5	12 ore	2,2	2,0	2,2	6
9645	non riportato	29/01/2004	n.r.	non riportato	2,0	2,0	0,0	n.r.
9696	11/02/2004	12/02/2004	1	9 ore	2,4	2,0	1,1	4
9710	28/02/2004	29/02/2004	1	28 ore	2,9	2,4	0,0	8,5
9906	21/05/2004	22/05/2004	1	9 ore	2,2	1,9	0,9	9
9959	14/06/2004	15/06/2004	1	22 ore	2,6	2,2	3,5	9
9960	24/05/2004	15/06/2004	22	6 ore	2,2	1,5	10,9	3
9961-1	non riportato	15/06/2004	n.r.	non riportato	1,3	1,2	6,4	3
9961-2	non riportato	15/06/2004	n.r.	non riportato	2,4	1,8	1,7	3
9962	15/03/2004	15/06/2004	92	12 ore	1,5	1,4	27,0	7
9963	21/03/2004	15/06/2004	86	12 ore	1,9	1,4	13,8	4
9964	27/04/2004	15/06/2004	49	1 ora	4,1	3,8	0,4	8,5
9965	28/04/2004	15/06/2004	48	5 ore	3,6	3,5	0,0	8,5
10036	14/07/2004	14/07/2004	0	2,5 ore	1,0	1,2	95,0	3
10090	05/07/2004	17/09/2004	74	18 ore	3,4	3,6	0,0	8,5
10091	28/07/2004	17/09/2004	51	nullo	2,5	2,4	1,3	5
10092	non riportato	17/09/2004	n.r.	non riportato	3,9	3,6	0,0	n.r.
10111	30/11/2004	30/11/2004	0	4 ore	2,7	2,3	1,0	5
10143	30/03/2005	01/04/2005	2	alcune ore	2,5	2,0	1,7	5,5
10146	11/04/2005	13/04/2005	2	20 ore	1,9	1,5	16,3	8
10147	12/04/2005	13/04/2005	1	nullo	2,5	2,1	0,0	8
10188	18/05/2005	08/06/2005	21	10 ore	2,0	2,0	11,5	6
10191	26/05/2005	15/06/2005	20	NOTTE	3,9	3,7	0,6	9
10207	22/07/2005	23/07/2005	1	3,5 ore	3,7	3,1	0,6	6
10267	07/12/2005	08/12/2005	1	NOTTE	1,1	1,1	0,0	5
10299	07/03/2006	09/03/2006	2	NOTTE	4,1	4,1	0,3	8,5
10300	23/03/2006	24/03/2006	1	nullo	2,5	2,3	17,0	8,5
10314	23/04/2006	26/04/2006	3	4-5 ore	2,7	2,1	2,5	4,5
10317	05/05/2006	08/05/2006	3	alcune ore	3,5	3,4	2,0	8
10323	15/05/2006	16/05/2006	1	32 ore	2,6	1,9	4,1	6
10326	29/05/2006	30/05/2006	1	alcune ore	3,7	3,2	1,9	8
10377	03/11/2006	07/11/2006	4	nullo	3,0	3,0	0,0	7

Nella *tabella 3.6* (a lato) vengono riportate le date dell'aborto (ABORTO) e dell'arrivo dei campioni in laboratorio (LAB); i giorni di fissazione (FIS.); le ore trascorse tra l'aborto e il campionamento/fissazione (INTERTEMPO); le medie matematiche dei valori di dettaglio nucleare (D.N.), citoplasmatico (D.C.) e autolisi (AUT.) dei campioni d'organo del caso; l'età del feto espressa in mesi.

Alcuni valori non sono stati riportati (abbreviato: n.r.) o non è stato possibile calcolarli, come nel caso di aborti avvenuti durante la notte (NOTTE nella colonna "intertempo").

Infine tutti i campioni, sia quelli di cui non si è stabilito il tempo fra data dell'aborto e consegna al laboratorio, che quelli con tempi di fissazione inferiori al giorno, hanno subito un'ulteriore fissazione di 48 ore.

Da tale tabella si può ricavare che il 18,9% (n=10) dei casi valutati presenta valori medi di dettaglio nucleare e citoplasmatico inferiori a 2, il 56,6% (n=30) valori compresi fra 2 e 3; il 18,9% (n= 10) compresi fra 3 e 4, il 5,6% (n=3) superiori a 4.

Mentre la media dell'autolisi risulta inferiore al 10% nel 77,4% (n=41) dei casi valutati; compresa fra 10% e 20% nel 17% (n=9) e superiore a 20% nel 5,6% (n=3).

3.2 QUADRI ANATOMOISTOPATOLOGICI ED IMMUNOISTOCHEMICI RISCONTRATI SUDDIVISI PER CASO

Vengono ora riassunti i quadri istopatologici ed immunoistochimici riscontrati nei singoli casi oggetto dello studio.

LEGENDA e NOTE:

RAZZA: P.R.I. pezzata rossa italiana; F.I. frisona italiana; LIM. limousine; B.A. bruna alpina.

INTERTEMPO: tempo trascorso tra aborto e campionamento/fissazione, talvolta risulta stimato.

DATA LAB.: data di arrivo dei campioni in laboratorio (considerata in relazione alla data dell'aborto, indica il tempo di fissazione e non vale per i feti interi per i cui organi il tempo di fissazione è stato di circa 48 h)

N° ORGANI: numero di organi valutati per il caso in esame.

D. NUC.: media matematica del valore di dettaglio nucleare.

D. CIT.: media matematica del valore di dettaglio citoplasmatico.

AUTOLISI: media matematica della percentuale di autolisi presente nei singoli organi del caso.

CASO N°	9019	RAZZA	P.R.I.	ETA'	4,5 mesi	lunghezza	35 cm
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO	30/04/2003		DATA LAB.	02/05/2003	
N° ORGANI	13	D. NUC.	3,5	D. CIT.	3	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni ben conservati, assenza di autolisi e inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Si osservano quadri di vasculite linfocitaria di debole entità (1/5) ed emorragie diffuse anche intense in alcuni organi quali: muscolo, polmone, cute, intestino tenue. Nell'encefalo si rileva la presenza di manicotti perivascolari di entità notevole (4/5) mentre nell'intestino tenue alla vasculite di debole entità si associa la notevole presenza di necrosi colliquativa carioretica (4/5) e atrofia iper rigenerativa dei villi di modesta entità (2/5).</p> <p>La placenta non presenta alcuna alterazione istopatologica.</p> <p>I campioni sono stati sottoposti a indagine immunoistochimica per BVDV, BHV-1 e <i>Neospora caninum</i> senza riportare alcuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinata, probabilmente infettiva.			

CASO N°	9046	RAZZA	P.R.I.	ETA'	4,5 mesi	lunghezza	34 cm
INTERTEMPO	nottata	DATA ABORTO	12/05/2003		DATA LAB.	21/05/2003	
N° ORGANI	13	D. NUC.	3	D. CIT.	2	AUTOLISI	2,7%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Preparati di qualità discreta, autolisi nell'abomaso (30% della superficie della sezione considerata) e rene (5%). Inquinamento batterico post-mortale nell'abomaso.</p> <p>Quadri di richiamo cellulare intravasale di lieve o modesta entità localizzato in alcuni organi (cute, rene), e di infiltrato linfocitario diffuso lieve a livello cardiaco, più intenso a livello cerebrale (3/5); la lesione più significativa è la presenza di colonie batteriche nei bronchi e bronchioli polmonari. Alla colorazione di GRAM tali batteri appaiono come cocchi Gram-negativi. Nel timo si apprezza ipoplasia midollare (3/5) associata ad iperplasia paracorticale (3/5).</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (polmonite batterica)			

CASO N°	9047	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8 mesi	lunghezza	50-60 cm
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO	12/05/2003		DATA LAB.	21/05/2003	
N° ORGANI	10	D. NUC.	1,5	D. CIT.	1	AUTOLISI	7%
DESCRIZIONE Preparati di qualità scarsa, con lieve autolisi a livello cutaneo, renale, splenico ed intestinale. Quadri patologici scarsi e lievissimi (infiltrato granulocitario eosinofilo multifocale nel timo, infiltrato linfocitario nel cuore ed intestino), notevole (4/5) ectasia dei linfatici cardiaci ed intestinali, forse fenomeno post-mortale. Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni di BVDV e BHV-1 non si rileva nessuna positività.							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile per scarsa qualità dei campioni e presenza di quadri istopatologici di modestissima entità			

CASO N°	9048	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7,5 mesi	lunghezza	50 cm
INTERTEMPO	nottata	DATA ABORTO	12/05/2003		DATA LAB.	21/05/2003	
N° ORGANI	10	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	9,5%
DESCRIZIONE Caso di difficile lettura per la scarsa qualità dei campioni, la notevole autolisi a livello epatico ed intestinale (80%-100% della superficie del campione analizzato) e la presenza di inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici lievi e modesti si localizzano a livello cerebrale (satellitosi 1/5), muscolo e lingua (infiltrato linfocitario multifocale 1/5), presenza di cellule leucocitarie nei vasi del polmone (3/5) e notevole ectasia dei linfatici cardiaci ed intestinali (fenomeno probabilmente post-mortale). I batteri di irruzione secondaria sono distribuiti su gran parte degli organi analizzati, in totale assenza di reazione infiammatoria e senza alcuna organizzazione.							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, quadri istopatologici di modesta entità			

CASO N°	9049	RAZZA	F.I.	ETA'	8 mesi	lunghezza	60 cm
INTERTEMPO	nottata	DATA ABORTO	12/05/2003		DATA LAB.	21/05/2003	
N° ORGANI	12	D. NUC.	1	D. CIT.	1	AUTOLISI	0
DESCRIZIONE Preparati di scarsa qualità, presenza di batteri ad irruzione secondaria sulla superficie cutanea. Quadri istopatologici estremamente rari e di lievissima intensità. Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV e BHV-1 non si rileva nessuna positività.							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, quadri istopatologici di modestissima entità			

CASO N°	9050	RAZZA	F.I.	ETA'	8,5 mesi	lunghezza	70 cm
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO		14/05/2003	DATA LAB.	21/05/2003	
N° ORGANI	15	D. NUC.	2,5	D. CIT.	1	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di mediocre qualità. Non si rileva autolisi né inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici prettamente infiammatori seppur lievi. Richiamo cellulare da lieve a medio in vari organi (omento, placenta, encefalo) e infiltrati di diverso tipo ed entità: linfocitario periportale (fegato 3/5), linfocitario diffuso (rene e cuore 1/5, abomaso 2/5), linfocitario perivasale (cuore e abomaso 1/5) granulocitario (diffuso polmone 2/5, eosinofilo diffuso nell'intestino tenue 2/5), misto multifocale (polmone 3/5). A livello epatico e polmonare si rileva anche deposizione di pigmento.</p> <p>A livello renale presenza di cristalli rotondeggianti diafani (diametro circa 25 μm) talvolta a sviluppo radiale particolarmente concentrati nella parete del bacinetto, associati ad emorragia diffusa di notevole entità (5/5). Alla colorazione di PIZZOLATO i cristalli presenti nel rene risultano essere composti da ossalato di calcio. Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV e BHV-1 non si rileva nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto probabilmente imputabile ad ossalosi renale			

CASO N°	9051	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO		15/05/2003	DATA LAB.	21/05/2003	
N° ORGANI	15	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	9%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità mediocre, autolisi intensa a livello gastroenterico (abomaso 20%, intestino tenue 50%, intestino crasso 40%). Non si rileva inquinamento batterico post-mortale. Quadri lesivi infiammatori piuttosto intensi diffusi in gran parte degli organi: gliosi encefalico (3/5), infiltrato linfocitario periportale epatico (2/5), infiltrato a componente cellulare mista perivasale splenico (4/5), richiamo cellulare nei vasi dell'abomaso (4/5) associato ad un lieve (1/5) infiltrato linfocitario diffuso. Nella milza inoltre si rileva una notevole (4/5) iperplasia dei megacariociti.</p> <p>I quadri istopatologici più complessi, tuttavia, si riscontrano a livello polmonare e placentare. Nel polmone si rileva la presenza di colonie batteriche, grave infiltrato granulocitario diffuso (4/5) e richiamo leucocitario (3/5). La localizzazione delle colonie è intrabronchiolare, i batteri sono molto piccoli, al di sotto del μm, di forma bacillare corta, Gram-positivi.</p> <p>Simile, ma più grave e complesso, il quadro patologico della placenta in cui si riscontra una massiccia presenza batterica, infiltrato granulocitario diffuso (4/5), richiamo leucocitario (3/5), necrosi dei villi placentari con aspetti cariorettici (4/5), vasculite necrotizzante granulocitaria multifocale rada (3/5). Alla colorazione di GRAM: i batteri risultano riuniti in ammassi multifocali Gram-positivi talora associati all'infiltrato, posizionati sull'apice dei villi. Si rileva inoltre leggera metaplasia squamosa dell'epitelio trofoblastico.</p> <p>Alla prova immunoistochimica per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> non si sono avuti riscontri positivi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (placentite e polmonite batterica)			

CASO N°	9066	RAZZA	P.R.I.	ETA'	9 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO	15/05/2003		DATA LAB.	16/05/2003	
N° ORGANI	14	D. NUC.	4	D. CIT.	4	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità molto buona. Non si rileva autolisi né inquinamento batterico post-mortale. I campioni provenienti da questo caso mostrano un quadro istopatologico assai vario e complesso in cui spiccano, comunque, gli aspetti infiammatori.</p> <p>Si rileva un notevole (3-4/5) infiltrato granulocitario eosinofilo multifocale a livello gastroenterico (reticolo, omaso, abomaso e intestino tenue) e nell'encefalo (2/5), infiltrati linfocitari di lieve entità anche a livello cardiaco, epatico e renale. Nel fegato, oltre all'infiltrato si rileva un richiamo di cellule leucocitarie di media entità. Tale quadro si ripete nel polmone, associato ad un infiltrato granulocitario multifocale (3/5). Infiltrati si ritrovano anche negli organi del sistema immunitario associati ad alterazioni di tipo metabolico. Nel timo ad un notevole infiltrato granulocitario perivasale (4/5) si associa ipertrofia corticale (3/5) e vascolare (2/5); in un linfonodo all'infiltrato granulocitario multifocale ed istiocitosi sinusale di media entità (3/5) si associano ipertrofia paracorticale e ipotrofia follicolare ugualmente di media entità (3/5). Nella milza si riscontrano lieve (1/5) richiamo cellulare e ipertrofia della polpa bianca</p> <p>Più deboli i fenomeni patologici circolatori: emorragie lievi nel cuore, polmone e reticolo, più intense (3/5) nel rene. Nessuna positività alla ricerca immunostochimica di antigeni di BVDV, BHV-1 e <i>Neospora caninum</i>.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinata, probabilmente infettiva			

CASO N°	9101	RAZZA	P.R.I.	ETA'	6-7 mesi	lunghezza	60-70 cm
INTERTEMPO	alcune ore	DATA ABORTO	10/05/2003		DATA LAB.	07/06/2003	
N° ORGANI	11	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	11 %
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità scarsa, grave autolisi placentare (80% della sezione d'organo considerata), minore nel rene (20%), nel fegato e timo (10%). Inquinamento batterico post-mortale modesto in alcuni organi (fegato, rene, placenta ed intestino tenue).</p> <p>Quadri istopatologici lievi si riscontrano nell'encefalo (satellitosi 1/5), polmone (richiamo leucocitario 1/5), intestino tenue (infiltrato granulocitario eosinofilo diffuso 2/5), e milza (ipertrofia della polpa bianca e iperplasia dei megacariociti 1/5); leggermente più intensi e complessi nel fegato (infiltrato linfocitario peri biliare 2/5, calcificazione perivasale 2/5), nel cuore (infiltrato linfocitario 2/5 e emorragia perivasale 1/5), timo (infiltrato granulocitario eosinofilo 2/5, ipertrofia corticale 3/5, necrosi midollare 3/5), e placenta, nonostante l'autolisi, (infiltrato granulocitario perivasale 1/5, calcificazione 3/5, necrosi colliquativa 4/5, metaplasia squamosa multifocale).</p> <p>La prova immunostochimica per la ricerca di BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> su placenta e polmone ha dato esito negativo, la ricerca per BVDV, sugli stessi organi, è risultata positiva per alcune cellule stromali e perivasali nel polmone.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine virale (BVDV)			

CASO N°	9102	RAZZA	P.R.I.	ETA'	6 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO		14/05/2003	DATA LAB.	07/06/2003	
N° ORGANI	11	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	3,5%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità mediocre-scarso, autolisi limitata al solo intestino tenue (30%). Inquinamento batterico post-mortale limitato alla placenta, che presenta anche residui vegetali.</p> <p>Aspetti di richiamo leucocitario presenti, con diversa intensità in quasi tutti gli organi valutati (polmone e lingua 3/5, cuore, placenta ed encefalo 2/5, rene e timo 1/5). I quadri infiammatori veri e propri, invece, sono lievi e limitati a: encefalo (satellitosi 1/5), lingua (vasculite granulocitaria 1/5), placenta (infiltrato linfocitario perivasale 2/5) e timo (infiltrato granulocitario diffuso nello stroma di sostegno dell'organo 1/5). Nella placenta si rileva, inoltre, calcificazione (2/5), necrosi centrale dei villi (3/5), ipertrofia del trofoblasto (2/5) con presenza di trofoblasti bi e trinucleati, metaplasia squamosa diffusa (3/5); nel timo: ipoplasia dei corpuscoli di HASSAL (3/5).</p> <p>Nessuna positività alla ricerca immunostochimica di antigeni di BVDV, BHV-1.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinata, probabilmente infettiva.			

CASO N°	9103	RAZZA	F.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO		17/05/2003	DATA LAB.	07/06/2003	
N° ORGANI	13	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	6,5%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di discreta qualità, autolisi nell'abomaso (30%), intestino crasso e rene (20%), placenta (10%) e timo (5%), inquinamento post-mortale limitato alla superficie esterna delle sezioni di fegato.</p> <p>I quadri istopatologici più intensi si rilevano nella placenta, nel timo e nell'encefalo.</p> <p>Nella placenta si evidenziano colonie batteriche associate a richiamo leucocitario (3/5) ed infiltrato linfocitario multifocale (2/5), necrosi colliquativa carioretica (2/5), metaplasia squamosa (3/5) e edema perivasale (2/5). Alla colorazione di GRAM: presenza di batteri Gram-negativi, cocchi (diametro 0,5 µm) e diplococchi concentrati nelle aree necrotiche.</p> <p>Nel timo: richiamo leucocitario (2/5), infiltrato leucocitario misto, prevalentemente granulocitario, perivasale (3/5), acantolisi dei corpuscoli di HASSAL (3/5), ipertrofia corticale (2/5) con ipervascolarizzazione (2/5) e ipoplasia delle cellule mioidi (1/5).</p> <p>Nell'encefalo: satellitosi (3/5), richiamo leucocitario (3/5) probabilmente eosinofilo, si presenta talvolta con formazioni trombotiche, emorragia perivasale (2/5), infiltrato linfocitario (2/5) localizzato a livello meningeo, aspetti regressivi nucleari dei neuroni con incremento dell'eucromatina, macronucleoli e irregolarità (pleomorfismo) nucleolari, aspetti regressivi del citoplasma neuronale (alterazioni cromatiche).</p> <p>Negli altri organi lieve (1/5) richiamo leucocitario nell'intestino crasso e rene, intenso infiltrato linfocitario periportale (4/5) nel fegato, trombi linfocitari (3/5) nella milza.</p> <p>Da segnalare, infine, aspetti di enfisema distruttivo nel polmone (2/5).</p> <p>Le colorazioni immunostochimiche per la ricerca di BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i>, eseguite sulla placenta, rilevano positività in alcune aree necrotiche, tale positività si ripeteva, tuttavia nel controllo negativo (omissione dell'anticorpo primario). Anche la ricerca per antigeni di <i>Neospora caninum</i>, applicata sulle sezioni di encefalo, ha dato risultati negativi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (placentite batterica)			

CASO N°	9115	RAZZA	F.I.	ETA'	5 mesi	lunghezza	50 cm
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO		12/06/2003	DATA LAB.	12/06/2003	
N° ORGANI	13	D. NUC.	3	D. CIT.	2	AUTOLISI	1%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità discreta, con lieve autolisi a livello intestinale (10%) e renale (5%). Quadri lesivi rari e modesti: infiltrato linfocitario diffuso (rumine e polmone 2/5, reticolo 1/5), richiamo cellule leucocitarie (polmone 2/5), ipertrofia dei villi placentari (4/5), necrosi dello stroma dei villi placentari (2/5). Alle colorazioni immunoistochimiche per la ricerca di BVDV e BHV-1, eseguite sulla placenta, sono risultate positive in alcune aree necrotiche, tale positività si ripeteva, tuttavia anche nel controllo negativo (omissione dell'anticorpo primario). Alla colorazione con anticorpo anti-BHV-1, tuttavia, si rilevava la positività, rara, di alcuni trofoblasti.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, quadri istopatologici ed immunoistochimici di modesta entità			

CASO N°	9209	RAZZA	P.R.I.	ETA'	5 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	28 ore	DATA ABORTO		non riportata	DATA LAB.	31/07/2003	
N° ORGANI	14	D. NUC.	2	D. CIT.	1,5	AUTOLISI	5%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità modesta, modesta autolisi a livello intestinale e linguale (20%), cutaneo (10%) e renale (5%). Inquinamento batterico post-mortale localizzato nelle sezioni di lingua e cute. Quadri istopatologici quasi esclusivamente di tipo infiammatorio, con aspetti infiltrativi di entità e tipologia diversa: infiltrato linfocitario periportale nel fegato (4/5), infiltrato linfocitario (perivasale in cuore, omento (2/5) e omaso (1/5), diffuso nell'intestino tenue (3/5)), infiltrato linfoplasmacellulare nel polmone (3/5), granulocitario (cute e rumine (1/5)), granulocitario eosinofilo multifocale (timo 1/5). Presenti anche manicotti leucocitari perivascolari (muscolo (2/5) e rumine (1/5)) e marginazione leucocitaria nell'intestino tenue (4/5 con formazioni di alcuni trombi linfocitari) e rumine (1/5). Nessuna positività alla ricerca immunoistochimica per BVDV e BHV-1.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinata, probabilmente infettiva			

CASO N°	9293	RAZZA	F.I.	ETA'	8 MESI	lunghezza	
INTERTEMPO	18 ore	DATA ABORTO		non riportato	DATA LAB.	18/09/2003	
N° ORGANI	11	D. NUC.	3	D. CIT.	2	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità discreta, autolisi ed inquinamento post-mortale assenti. Quadri istopatologici di natura infiammatoria limitati a pochi organi. Notevole infiltrato granulocitario multifocale (4/5) nel polmone, granulocitario eosinofilo nel fegato (1/5) associato ad infiltrato linfocitario perivasale (3/5), che si riscontra anche nel cuore (1/5), infiltrato granulocitario eosinofilo multifocale (2/5) nella milza. Da segnalare, a livello cutaneo, anomalia dei follicoli piliferi discreta (3/5) che porta alla formazione di peli anomali con cheratina matriciale. Nessuna positività alla ricerca immunoistochimica per BVDV e BHV-1.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di origine non determinata, probabilmente infettiva.			

CASO N°	9294	RAZZA	P.R.I.	ETA'	5 MESI	lunghezza	
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO	non riportato		DATA LAB.	18/09/2003	
N° ORGANI	14	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	1%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità discreta, autolisi localizzata unicamente nell'intestino tenue (20%), non si riscontrano segni di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>I quadri lesivi maggiori si riscontrano diffusi in molti organi ma localizzati a livello vasale o nei pressi dei vasi. Richiamo di cellule leucocitarie: medio (3/5) in muscolo, esofago e lingua, più lieve (2/5) nel polmone, rumine, intestino tenue; marginazione leucocitaria: placenta (2/5) e cuore (1/5); vasculite necrotizzante: placenta (3/5) e muscolo (2/5); manicotti leucocitari perivascolari nel rumine (2/5).</p> <p>Negli organi linfoidi: la milza presenta grave (4/5) deplezione della polpa rossa con iperplasia della polpa bianca (2/5); nel timo si nota lieve (1/5) ipoplasia della corticale e dei corpuscoli di HASSAL.</p> <p>Nella placenta, oltre alle lesioni infiammatorie, si riscontra anche ipertrofia dei trofoblasti (2/5) e necrosi dell'epitelio trofoblastico (4/5).</p> <p>Infine l'intestino tenue presenta villi con estremità espansa ed ectasia dei linfatici (2/5)</p> <p>Nessuna positività alla ricerca immunohistochimica per BVDV e BHV-1.</p>							
DIAGNOSI				aborto di probabile origine infettiva non determinata			

CASO N°	9295	RAZZA	P.R.I.	ETA'	6 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	nottata	DATA ABORTO	non riportato		DATA LAB.	18/09/2003	
N° ORGANI	10	D. NUC.	2	D. CIT.	1	AUTOLISI	4%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità modesta-scarso, autolisi localizzata nell'intestino tenue (20%) e cute (10%), assenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Eccetto le seguenti lesioni: ipotrofia della polpa bianca splenica (4/5), ipertrofia corticale timica (2/5), ed anomalia dei follicoli piliferi con formazione di rari macromelanosomi, iperplasia della membrana vitrea, incontinenza pigmentaria (1/5), iperpigmentazione giunzionale e follicolare (3/5), non sono presenti altri aspetti istopatologici.</p> <p>Nessuna positività alla ricerca immunohistochimica per BVDV e BHV-1.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modesti quadri istopatologici.			

CASO N°	9366	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	60 cm
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO	01/10/2003		DATA LAB.	10/10/2003	
N° ORGANI	14	D. NUC.	3	D. CIT.	3	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di buona qualità, assenza di autolisi ed inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici di diversa natura ed intensità coinvolgenti gran parte degli organi. Presenza di alcune ife fungine nella placenta che presenta: lieve (1/5) vasculite necrotizzante, infiltrato granulocitario multifocale di media entità (3/5), notevole (4/5) degenerazione ialina e necrosi coagulativa (3/5). Le ife sono settate, lunghezza segmenti circa 15 µm, diametro 6,5 µm, biforcazioni ad angolo lievemente acuto, circa 60 gradi, aspetto lievemente basofilo, interessano soprattutto i villi coriali.</p> <p>Nel polmone si riscontrano colonie batteriche localizzate all'interno dei bronchi composte da batteri coccoidei, Gram-positivi a cui si associa infiltrato granulocitario diffuso e marginazione granulocitaria (3/5), vasculite granulocitaria (1/5), congestione vasale (3/5) con aree di emorragia ed enfisema distruttivo.</p> <p>Negli organi linfoidi: il timo presenta infiltrato granulocitario eosinofilo perivasale (2/5), iperplasia dei corpuscoli di HASSAL (2/5), ipertrofia midollare (3/5), deplezione delle cellule mioidi, iperplasia macrofagica (c.d. "aspetto a cielo stellato") nella corticale (4/5) e iperplasia vascolare (4/5). In un linfonodo istiocitosi sinusale (2/5), vasculite (1/5), notevole ipotrofia della componente follicolare (5/5), ipertrofia paracorticale e lieve iperplasia macrofagica (aspetto c.d. "a cielo stellato").</p> <p>Negli altri organi le lesioni sono più lievi e limitate soprattutto a quadri infiammatori e circolatori, nell'encefalo: lieve marginazione granulocitaria (1/5) e emorragie multifocali (2/5); fegato: infiltrato linfocitario portale (2/5) e ectasia con tendenza alla peliosi (2/5); intestino tenue: lieve (1/5) infiltrato granulocitario eosinofilo; rene: deposizione di pigmento (1/5), congestione vasale con emorragia (3/5).</p> <p>Alla prova immunoistochimica per la ricerca di BHV-1 si rileva, nella placenta, forte positività in alcuni trofoblasti e nel rene, di alcuni tubuli della midollare. Nessun riscontro positivo alla prova immunoistochimica per la ricerca di BVDV.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di origine mista virale (BHV-1), batterica (polmonite batterica) e micotica (placentite micotica)			

CASO N°	9422	RAZZA	F.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	60-70 cm
INTERTEMPO	10 ore	DATA ABORTO	01/11/2003		DATA LAB.	03/11/2003	
N° ORGANI	13	D. NUC.	1,5	D. CIT.	1,5	AUTOLISI	16,5%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di scarsa qualità, grave autolisi dell'intestino crasso (100% illeggibile) e milza (60%), più lieve nel cuore, encefalo ed intestino tenue (10%), lieve inquinamento batterico post-mortale sulla superficie epatica. Lesioni istopatologiche rare e lievi, limitate ad infiltrati linfocitari (multifocale nel cuore (1/5) e lingua (2/5), diffuso nell'intestino tenue (1/5), perivasale nell'esofago (1/5)).</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modestissimi quadri istopatologici.			

CASO N°	9512	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	6 ore	DATA ABORTO	13/11/2003		DATA LAB.	12/12/2003	
N° ORGANI	10	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	17%
<p>DESCRIZIONE Campioni di discreta qualità, grave autolisi a livello intestinale (crasso 100%, tenue 60%), minore per la placenta (30%) e fegato (5%). Assenza di inquinamento batterico post-mortale. Le lesioni più significative si riscontrano nella placenta e polmone. Nella prima si rileva la presenza di colonie batteriche associate a grave infiltrato granulocitario multifocale (4/5), richiamo di cellule leucocitarie (3/5) e necrosi (3/5). Alla colorazione di GRAM: presenza di batteri Gram-negativi bastoncellari (2-3 µm X 0,3 µm) la cui presenza e' nettamente associata alle lesioni. Nel polmone: colonie batteriche riferibili a quelle presenti in placenta, localizzate a livello bronchiale (la maggior parte) e alveolare, enfisema, infiltrato granulocitario diffuso e richiamo di cellule leucocitarie (2/5), infiltrato granulocitario intrabronchiale (1/5). Negli altri organi: lieve (1/5) infiltrato linfocitario perivasale nell'intestino tenue e muscolo, modesto (2/5) richiamo cellule leucocitarie nel fegato. Alle prove immunostochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> non si sono avuti riscontri positivi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (placentite e polmonite batteriche)			

CASO N°	9513	RAZZA	F.I.	ETA'	6 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO	04/12/2003		DATA LAB.	12/12/2003	
N° ORGANI	9	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	13
<p>DESCRIZIONE Campioni di qualità discreta, autolisi presente in diversi organi: milza (due sezioni considerate 80% e 30%), rene (30% e 10%) e cute (10%). Quadri istopatologici lievi e poco diffusi, in maggior parte di natura infiammatoria. Infiltrato linfocitario nel cuore (multifocale 1/5) e cute (diffuso 2/5), granulocitario eosinofilo perivasale nel timo (2/5), richiamo di cellule leucocitarie nel timo (2/5), rene e cervello (1/5), in quest'ultimo anche lieve satellitosi. Nel timo si riscontra anche iperplasia della parte corticale (3/5) ed iperplasia macrofagica (c.d. aspetto a "cielo stellato") (3/5), nel fegato edema sottocapsulare (2/5).</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modesti quadri istopatologici.			

CASO N°	9549	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	oltre 24 ore	DATA ABORTO	15/10/2003		DATA LAB.	22/12/2003	
N° ORGANI	13	D. NUC.	2	D. CIT.	1	AUTOLISI	20
<p>DESCRIZIONE Campioni di qualità mediocre-scarso. L'autolisi si riscontra nella placenta (90%), intestino tenue (80%), intestino crasso (50%), omento (15%), emolinfonodo e fegato (10%). Assenza di inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici lievi e poco diffusi, in maggior parte di natura infiammatoria. Richiamo di cellule infiammatorie nell'omento (2/5) e intestino crasso (1/5), infiltrato granulocitario eosinofilo nel timo (multifocale 2/5) e milza (diffuso 2/5). In quest'ultimo organo si rileva anche ipotrofia della polpa rossa (3/5) con ipertrofia dei noduli linfatici (3/5). Nel fegato presente di modesto (2/5) infiltrato linfocitario periportale. Alle prove immunostochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> non si sono avuti riscontri positivi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modesti quadri istopatologici.			

CASO N°	9644	RAZZA	P.R.I.	ETA'	6 mesi	lunghezza	50 cm
INTERTEMPO	12 ore	DATA ABORTO		24/01/2004	DATA LAB.		29/01/2004
N° ORGANI	9	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	2
<p>DESCRIZIONE Campioni di discreta qualità, autolisi limitata al fegato (20%), assenza di inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici estremamente lievi. Unico quadro infiammatorio limitato al timo con lieve (1/5) infiltrato granulocitario eosinofilo multifocale. Nel fegato si riscontra steatosi macrovescicolare (2/5) e deposizione di pigmento (3/5). Quest'ultimo aspetto si riscontra anche nel rene, polmone, e timo. Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modesti quadri istopatologici.			

CASO N°	9645	RAZZA	LIM.	ETA'	non riportato	lunghezza	non riportato
INTERTEMPO	non valutabile	DATA ABORTO		non riportato	DATA LAB.		29/01/2004
N° ORGANI	1	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE Il caso consta, come organi campionati, della sola placenta, l'aborto è avvenuto durante la notte in un'azienda a stabulazione libera, il feto è andato perduto. Campione di discreta qualità, assenza di autolisi e inquinamento batterico post-mortale. Si rileva vasculite linfocitaria raramente necrotizzante (2/5), linfocitosi vasale (3/5), necrosi colliquativa carioretica (4/5) ad ampi focolai, multifocale, localizzata alla base dei villi coriali, mineralizzazione placentare (3/5), vescicolazione nucleare debolmente acidofila, ipertrofia trofoblastica binucleare (4/5). Pur ben visibili alla HE gli inclusi nucleari sono risultati non dare positività alla colorazione floxina-tartrazina. Positività forte e ben definita di molti trofoblasti alla prova immunoistochimica per la ricerca di BHV-1. Esito negativo per la ricerca di BVDV.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine virale (BHV-1)			

CASO N°	9696	RAZZA	P.R.I.	ETA'	3 mesi	lunghezza	30 cm
INTERTEMPO	9 ore	DATA ABORTO		11/02/2004	DATA LAB.		12/02/2004
N° ORGANI	18	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	1%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni discreta qualità, autolisi limitata al fegato (20% della sezione d'organo valutata), assenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Quadri istopatologici complessi e distribuiti nella gran parte degli organi.</p> <p>A livello placentare si rileva la presenza di colonie batteriche (batteri: bastoncelli 3 x 0,5 µm a palizzata Gram-negativi) associate alla presenza di notevole (4/5) infiltrato granulocitario eosinofilo multifocale con aree di fagocitosi batterica, vasculite paucicellulare diffusa (3/5), richiamo multifocale cellule immunitarie (2/5), necrosi dei villi placentari (4/5) mineralizzazione placentare (1/5), aree di metaplasia squamosa dei trofoblasti e rarissimi trofoblasti trinucleati.</p> <p>Negli altri organi per le lesioni di tipo infiammatorio è comune il reperto di infiltrato linfocitario perivasale (muscolo 3/5, placenta coriale, rumine e cuore 2/5, reticolo, omaso e abomaso 1/5). Si rileva inoltre infiltrato granulocitario eosinofilo (multifocale in muscolo 2/5 e timo 1/5) e richiamo di cellule leucocitarie (encefalo e muscolo 1/5).</p> <p>Reperto comune risultano inoltre aspetti di emorragia perivasale (muscolo, cuore ed intestino tenue 2/5; polmone, rumine, reticolo, omaso ed abomaso 1/5).</p> <p>Negli organi linfoidi si riscontra nel timo: acantolisi con ipertrofia dei corpuscoli di HASSAL (4/5), con ipoplasia midollare 3/5, ipoplasia delle cellule mioidi 4/5, deposizione di calcio in alcuni corpuscoli di HASSAL 2/5, corpi inclusi eosinofili nei corpuscoli di HASSAL (negativi alla colorazione floxina-tartrazina); mentre, nella milza: ipertrofia della polpa bianca e ipertrofia vascolare; in un linfonodo: necrosi puntiforme. Nell'intestino atrofia iper rigenerativa dei villi (2/5), e villi con estremità espansa (3/5).</p> <p>Alle prove immunostochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1, <i>Neospora caninum</i> e <i>Listeria monocytogenes</i> non si sono avuti riscontri positivi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (placentite batterica)			

CASO N°	9710	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8-9 mesi	lunghezza	90 cm
INTERTEMPO	28,5 ore	DATA ABORTO		28/02/2004	DATA LAB.		29/02/2004
N° ORGANI	13	D. NUC.	3	D. CIT.	2	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità discreta, non si rileva autolisi né inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Si rilevano moderati aspetti infiltrativi granulocitari eosinofili al meso (perivasale 3/5), timo (perivasale e diffuso 2/5), al polmone (multifocale 2/5) e al fegato (perivasale 2/5), più intenso il richiamo di cellule leucocitarie (polmone 3/5, con marginazione 2/5, encefalo 2/5 e rumine 1/5).</p> <p>Nel timo si rileva inoltre ipoplasia dei corpuscoli di HASSAL e delle cellule mioidi di media entità (3/5). Nel rene l'unica lesione è la necrosi multifocale di media entità, probabilmente fenomeno post-mortale.</p> <p>Modesti i quadri circolatori con lieve (1/5) emorragia nell'encefalo, e congestione vasale (3/5) nel polmone</p> <p>Sono stati campionati anche ovaio ed utero che presentano degenerazione arteriolare multifocale (2/5) con aspetto della lesione simil-calcifico.</p> <p>Alle prove immunostochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di origine non determinabile, probabilmente infettiva.			

CASO N°	9906	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8-9 mesi	lunghezza	90 cm
INTERTEMPO	9 ore	DATA ABORTO		21/05/2004	DATA LAB.		22/05/2004
N° ORGANI	13	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	1%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di modesta qualità, leggera autolisi nella milza (5%), fegato (5%) e timo (2%), modesto inquinamento batterico post-mortale in quasi tutte le sezioni d'organo valutate.</p> <p>Quadri istopatologici dominati dalla presenza (anche notevole) di colonie batteriche in vari organi quali placenta, timo, polmone, intestino tenue e fegato, associata a fenomeni infiammatori: nella placenta si rileva infiltrato granulocitario (2/5); nel timo infiltrato misto perivasale lieve; nell'intestino tenue enterite necrotizzante (3/5), nel fegato infiltrato linfocitario periportale (3/5) e misto perivasale (2/5). Negli stessi organi vi è anche la presenza di necrosi caseosa di notevole entità (3-4/5).</p> <p>Nel timo il quadro istopatologico comprende anche ipertrofia dei corpuscoli di HASSAL (3/5), mentre nella placenta si nota anche mineralizzazione placentare lieve (1/5).</p> <p>Alla colorazione di GRAM, eseguita sulle sezioni di placenta e fegato le colonie appaiono di piccole dimensioni associate all'infiltrato (placenta) e in posizione centrolobulare, talvolta sinusale ma mai portale (fegato). I batteri si presentano come cocchi Gram-negativi.</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (setticemia)			

CASO N°	9959	RAZZA	P.R.I.	ETA'	9 mesi	lunghezza	80-90 cm
INTERTEMPO	22 ore	DATA ABORTO		14/06/2004	DATA LAB.		15/06/2004
N° ORGANI	16	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	4%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di modesta qualità, lieve autolisi nell'intestino tenue, rene e muscolo (10%) lieve inquinamento batterico a livello cutaneo.</p> <p>Quadri istopatologici complessi e diffusi.</p> <p>Infiltrati linfocitari in intestino tenue (multifocale 4/5 e diffuso 2/5); rumine (diffuso 1/5); muscolo (diffuso 3/5); reticolo (diffuso 1/5) e cute (multifocale 2/5); granulocitari in: intestino crasso (diffuso 1/5); timo (eosinofilo multifocale 3/5) e cuore (eosinofilo diffuso 1/5); richiamo di cellule leucocitarie in: rumine (1/5), intestino crasso (1/5), encefalo (1/5), cuore (2/5) e polmone (3/5); manicotti perivascolari in: muscolo (3/5) e intestino tenue (1/5).</p> <p>Deposizione di pigmento in: rene, polmone, fegato e milza.</p> <p>Negli organi linfoidi, oltre ai già descritti aspetti infiammatori, si rileva: ipoplasia della polpa bianca della milza (3/5) e ipotrofia dei corpuscoli di HASSAL (2/5) nel timo. Inoltre iperplasia della placca del PEYER (4/5) nell'intestino in cui alcuni villi presentano rigonfiamento dell'estremità luminale.</p> <p>Emorragie si rilevano nel polmone (diffuse 3/5 e multifocale 4/5) e cute (perivasale 1/5), congestione vasale in abomaso ed intestino tenue.</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di natura non determinabile, probabilmente infettiva			

CASO N°	9960	RAZZA	F.I.	ETA'	3 MESI	lunghezza	
INTERTEMPO	6 ORE	DATA ABORTO		24/05/2004	DATA LAB.		15/06/2004
N° ORGANI	11	D. NUC.	2	D. CIT.	1	AUTOLISI	11 %
DESCRIZIONE Campioni di scarsa qualità, autolisi presente nella placenta (90%), e in cuore, polmone, encefalo, intestino tenue e lingua (5%). Si rileva l'assenza di lesioni valutabili.							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, assenza di lesioni degne di nota.			

CASO N°	9961-1	RAZZA	F.I.	ETA'	3 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO		non rilevata	DATA LAB.		15/06/2004
N° ORGANI	11	D. NUC.	1	D. CIT.	1	AUTOLISI	6 %
DESCRIZIONE Campioni di qualità scarsa, autolisi limitata al cuore (70% della sezione d'organo valutata), assenza di inquinamento batterico post-mortale. Fenomeni di richiamo leucocitario diffusi ed di intensità varia si riscontrano in gran parte degli organi osservati: cute e trachea (5/5); lingua, rumine, fegato, cuore e muscolo (4/5); intestino crasso e polmone (3/5). Più rari e meno intensi i fenomeni infiltrativi: infiltrato linfocitario focale (cuore 3/5); infiltrato linfocitario perivasale (cute e muscolo 2/5), manicotti linfocitari perivascolari nel rumine (2/5). Alla prova immunoistochimica per la ricerca di antigeni di <i>Neospora caninum</i> , applicata ad una sezione di cuore, non si rilevano positività.							
DIAGNOSI				aborto di natura non determinata, probabilmente infettiva			

CASO N°	9961-2	RAZZA	F.I.	ETA'	3 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO		non rilevata	DATA LAB.		15/06/2004
N° ORGANI	12	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	2 %
DESCRIZIONE Campioni di modesta qualità, autolisi limitata al rene (20% della sezione d'organo valutata). Assenza di inquinamento batterico post-mortale Limitata presenza di ife fungine a livello placentare nella parte non cotiledonare multifocale in talune aree associata ad infiltrato cellulare misto prevalentemente eosinofilo (3/5). Aspetti infiammatori modesti, limitati alla placenta (vasculite necrotizzante 3/5, richiamo cellule leucocitarie 2/5, infiltrato granulocitario 2/5), al cuore e reticolo (in entrambi manicotti perivascolari diffusi di modesta entità 2/5). Più comuni aspetti di necrosi, nella placenta (puntiforme 3/5), nell'encefalo (endoteliale 1/5), trachea (1/5), omaso (colliquativa carioretica 2/5), intestino tenue (colliquativa carioretica 4/5) e polmone (2/5). Oltre a quanto già descritto, nella placenta si osserva anche lieve metaplasia squamosa, mentre nell'intestino vi è atrofia iper rigenerativa dei villi che talvolta presentano estremità luminale dilatata. Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività.							
DIAGNOSI				aborto di origine micotica (placentite micotica)			

CASO N°	9962	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	12 ore	DATA ABORTO	15/03/2004	DATA LAB.	15/06/2004		
N° ORGANI	14	D. NUC.	1,5	D. CIT.	1	AUTOLISI	27%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di scarsa qualità, autolisi piuttosto intensa e distribuita in vari organi: intestino crasso (100%), tenue e fegato (90%), cuore (50%), rene (40%), encefalo (20%) e abomaso (15%). Assenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Aspetti istopatologici diffusi ma di moderata entità. Si segnalano fenomeni infiammatori di tipo infiltrativo granulocitario eosinofilo nella milza, linfonodo e fegato (2/5), linfocitario in cuore, lingua e meningi (1-2/5). Più intensi e diffusi i fenomeni di richiamo che si localizzano nel polmone e meningi (3/5), muscolo, cute e abomaso (1/5). Nella milza si riscontra anche ipoplasia megacariocitaria (2/5) con iperplasia dei manicotti splenici (1/5). Infine da segnalare edema interstiziale nel muscolo, cuore (4/5), e lingua (1/5)</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modesti quadri istopatologici.			

CASO N°	9963	RAZZA	P.R.I.	ETA'	4 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	12 ORE	DATA ABORTO	21/03/2004	DATA LAB.	15/06/2004		
N° ORGANI	13	D. NUC.	2	D. CIT.	1	AUTOLISI	14%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità scadente, autolisi presente in intestino tenue (95%), rene (30%), encefalo e fegato (30%), milza e rumine (5%). Inquinamento batterico post-mortale limitato alla placenta.</p> <p>Quadri istopatologici lievi e limitati. Marginazione linfocitaria in polmone (4/5) e cuore (2/5), manicotti perivasale cuore e omaso (1/5), infiltrato linfocitario periportale nel fegato (1/5) e diffuso nel rumine (1/5).</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV ,BHV-1 <i>Listeria monocytogenes</i> nessuna positività. Lo stesso dicasi per la ricerca di antigeni di <i>Neospora caninum</i> applicata su sezioni di cuore ed encefalo.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modestissimi quadri istopatologici.			

CASO N°	9964	RAZZA	F.I.	ETA'	8-9 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	1 ora	DATA ABORTO		27/04/2004	DATA LAB.	15/06/2004	
N° ORGANI	16	D. NUC.	4	D. CIT.	3,5	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campione di qualità molto buona, assenza di autolisi e di inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici diffusi e complessi.</p> <p>Aspetti infiammatori: infiltrato granulocitario eosinofilico nell'intestino tenue (4/5), timo (3/5), intestino crasso (2/5), milza, cuore, rumine e abomaso (1/5); infiltrato linfocitario perivasale in omaso, cuore, fegato, e rene (1/5); manicotti perivasali in timo (3/5) e lingua (1/5) infiltrato diffuso in fegato e pericardio (1/5); nel timo si rileva presenza di microascessi eosinofili nei pressi dei corpuscoli di HASSAL.</p> <p>In quest'ultimo organo, inoltre, sono presenti anche ipertrofia midollare (4/5) e ipoplasia della corticale (2/5) a cui si aggiungono iperplasia delle cellule mioidi e ipertrofia dei corpuscoli di HASSAL, mentre nella milza: iperplasia della polpa bianca (2/5) e ipoplasia dei noduli linfatici (3/5); nell'intestino tenue: iperplasia della placca del PLEYER (3/5) e necrosi centrofollicolare (2/5); nel fegato: steatosi macrovescicolare (3/5).</p> <p>Alla prova immunohistochimica per la ricerca del BVDV si rilevano le seguenti positività: nell'intestino: positività paranucleare delle cellule dell'epitelio delle ghiandole intestinali multifocale ad aree circoscritte (3/5); rare cellule simil istiocitarie nella tonaca sottomucosa (4/5) e nelle placche (3/5); tali cellule si riscontrano in quasi tutti gli organi valutati, tranne encefalo e rumine.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine virale (BVDV)			

CASO N°	9965	RAZZA	F.I.	ETA'	8-9 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	5 ore	DATA ABORTO		28/04/2004	DATA LAB.	15/06/2004	
N° ORGANI	15	D. NUC.	3,5	D. CIT.	3,5	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campione di qualità molto buona, assenza di autolisi e di inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici piuttosto diffusi e complessi.</p> <p>Si rilevano quadri di richiamo di cellule leucocitarie nella lingua (3/5), placenta, polmone e cuore (2/5). Comuni gli aspetti infiltrativi: granulocitario eosinofilico perivasale (timo 3/5, intestino crasso 2/5), granulocitario (intestino tenue 3/5, placenta 2/5, fegato 1/5).</p> <p>Nel timo le lesioni infiammatorie sono associate a: iperplasia corticale (3/5) e aspetto a "cielo stellato", nella milza deplezione megacariocitaria (4/5) e della linea linfoide (3/5); nella placenta: ipertrofia dei trofoblasti (2/5) e necrosi.</p> <p>Gli aspetti circolatori presentano: emorragia multifocale nell'encefalo, lingua, rene, cuore e placenta; congestione vasale nella milza, fegato, polmone, rene, placenta e intestino tenue</p> <p>Alla prova immunohistochimica per la ricerca del BVDV si rilevano le seguenti positività: nell'intestino: positività paranucleare delle cellule dell'epitelio delle ghiandole intestinali multifocale ad aree circoscritte (1/5); cellule simil-istiocitarie positive si riscontrano in quasi tutti gli organi particolarmente nella milza a livello perivasale nella capsula (4/5); cellule simil-linfoblastiche nei manicotti periarteriolarari (2/5) ma non nel rene, encefalo, cuore e lingua.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine virale (BVDV)			

CASO N°	10036	RAZZA	P.R.I.	ETA'	2-3 mesi	lunghezza	20 cm
INTERTEMPO	2,5 ore	DATA ABORTO		14/07/2004	DATA LAB.		14/07/2004
N° ORGANI	11	D. NUC.	1	D. CIT.	1	AUTOLISI	95 %
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di pessima qualità, autolisi diffusa e grave (95%) in tutti gli organi, assenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Quadri istopatologici limitati alla solo placenta, in cui si rileva presenza di colonie batteriche (cocchi Gram-negativi) associata a infiltrato granulocitario notevole (4/5), a manicotti leucocitari perivasali multifocali (2/5) e a mineralizzazione placentare (2/5).</p> <p>Nulla da rilevare negli altri organi che talvolta, data la grave autolisi, risultano non valutabili.</p> <p>Alla colorazione immunostochimica per la ricerca di BHV-1 si rileva la positività (anche intensa) di alcuni trofoblasti, negativi per la ricerca di BVDV.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di origine mista virale (BHV-1) e batterica (placentite batterica)			

CASO N°	10090	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	60 cm
INTERTEMPO	18 ore	DATA ABORTO		05/07/2004	DATA LAB.		17/09/2004
N° ORGANI	14	D. NUC.	3	D. CIT.	3,5	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di buona qualità, assenza di autolisi ed inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Quadri istopatologici diffusi e complessi.</p> <p>Gli aspetti infiammatori comprendono: richiamo di cellule leucocitarie (lingua 4/5, cute, intestino tenue, omento e diaframma 2/5), manicotti perivascolari (omento 2/5, diaframma 1/5); vasculite linfocitaria (cute 2/5); infiltrato linfocitario (cuore e apparato gastroenterico 1/5).</p> <p>Negli organi linfoidi si rileva inoltre, nella milza iperplasia megacariocitaria con iperpigmentazione (3/5), ipoplasia dei noduli linfatici (1/5); nel timo ipoplasia dei corpuscoli di HASSAL (4/5), ipoplasia midollare (3/5), acantolisi dei corpuscoli di HASSAL (2/5), iperplasia macrofagica (c.d. "aspetto a cielo stellato") della corticale, ipoplasia corticale, ipoplasia delle cellule mioidi, iperplasia vascolare corticale. In un linfonodo: iperplasia follicolare e vascolare (2/5).</p> <p>Inoltre nell'intestino tenue: villi con rigonfiamento dell'estremità luminale e necrosi puntiforme (1/5), nel fegato steatosi macrovescicolare (3/5).</p> <p>Gli aspetti circolatori comprendono: congestione vasale (fegato e rene 3/5, rumine e intestino tenue e 2/5), emorragie diffuse (diaframma 4/5, fegato 3/5, milza 2/5, cuore, lingua e rene 1/5).</p> <p>Alla colorazione immunostochimica si rileva nell'intestino tenue, positività paranucleare nelle cellule dell'epitelio delle ghiandole intestinali multifocale puntiforme (3/5) molte rare cellule simil istiocitarie nella sottomucosa (4/5); tali cellule sono presenti in quasi tutti gli organi (tranne che in rumine, cute, fegato e encefalo).</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine virale (BVDV)			

CASO N°	10091	RAZZA	F.I.	ETA'	5 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO		28/07/2004	DATA LAB.		17/09/2004
N° ORGANI	13	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	1%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di discreta qualità, modesta (20%) autolisi nell'intestino tenue, assenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Eccettuata una notevole (4/5) marginazione granulocitaria nell'encefalo e aspetti di richiamo leucocitario di media entità (3/5) nel muscolo e lingua, peraltro non associati ad altri quadri infiammatori, le lesioni che il caso presenta sono di modesta o lieve entità.</p> <p>Il fegato presenta aspetti di steatosi macrovescicolare di modesta (2/5) entità.</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine non determinabile, modesti quadri istopatologici.			

CASO N°	10092	RAZZA	n.r.	ETA'	non riportato	lunghezza	non riportato
INTERTEMPO	non riportato	DATA ABORTO		non riportato	DATA LAB.		17/09/2004
N° ORGANI	14	D. NUC.	4	D. CIT.	3,5	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità eccellente, assenza di autolisi e di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Quadri istopatologici complessi e diffusi.</p> <p>Infiltrato linfocitario perivasale nel timo (2/5), polmone e lingua (1/5); diffuso nell'intestino tenue (2/5); periportale nel fegato e multifocale nell'abomaso e timo (2/5). Infiltrato granulocitario eosinofilo nell'abomaso (diffuso 2/5) e intestino tenue (multifocale 3/5). Quadri di splenite necrotica e enterite catarrale.</p> <p>Nel timo si rileva iperplasia sia della parte corticale (3/5) che midollare (2/5); in entrambe le componenti con aspetti di iperplasia macrofagica ("aspetto a cielo stellato"), picnosi e carioressi linfocitaria (3/5), acantolisi dei corpuscoli di HASSAL (2/5); la milza presenta quadri di iperplasia pulpare diffusa.</p> <p>A livello intestinale: nell'intestino crasso iperplasia delle cellule caliciformi e dell'epitelio intestinale di media entità (3/5) e necrosi puntiforme diffusa, nel tenue: ipertrofia dei villi intestinali che talvolta presentano estremità luminale rigonfia o necrotica.</p> <p>Aspetti emorragici nella lingua, rene, cuore, encefalo e abomaso.</p> <p>Alla colorazione immunoistochimica si rileva nell'intestino tenue e crasso, positività paranucleare nelle cellule dell'epitelio delle ghiandole intestinali, multifocale e puntiforme (3/5), rare cellule simil istiocitarie nella sottomucosa (4/5); tali cellule sono presenti in quasi tutti gli organi (tranne che nel muscolo, lingua, encefalo e rumine), in particolar modo nella milza.</p> <p>Nessuna positività alla prova immunoistochimica per la ricerca di BHV-1</p>							
DIAGNOSI				Aborto di origine virale (BVDV)			

CASO N°	10111	RAZZA	P.R.I.	ETA'	5 mesi	lunghezza	64 cm
INTERTEMPO	4 ore	DATA ABORTO		30/11/2004	DATA LAB.		30/11/2004
N° ORGANI	13	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	1%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di discreta qualità, si rileva autolisi nella lingua (20%), milza (10%) ed encefalo (5%); presenza di inquinamento batterico post-mortale negli organi già citati.</p> <p>Quadri istopatologici limitati e di media - modesta entità.</p> <p>Nelle sezioni di polmone si osserva la presenza notevole di colonie batteriche nei bronchi e nei bronchioli, non associata ad alcun fenomeno infiammatorio. Nella placenta si rileva vasculite necrotizzante (3/5), metaplasia squamosa (2/5), mineralizzazione (2/5) e vacuolizzazioni introcitoplasmatiche in alcuni trofoblasti.</p> <p>Alla colorazione di GRAM i batteri appaiono come brevi bacilli (2 µm X 1 µm), talora accoppiati in fila. Nel timo: infiltrato granulocitario eosinofilo medio (3/5) associato a iperplasia della corticale (3/5) e acantolisi dei corpuscoli di HASSAL (2/5). Nella milza: lieve iperplasia della polpa bianca con deplezione della polpa rossa (1/5), Nella cute e muscolo, infine, manicotti linfocitari perivascolari di discreta entità (2/5).</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> non si sono avuti riscontri positivi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica			

CASO N°	10143	RAZZA	P.R.I.	ETA'	5,5 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	alcune ore	DATA ABORTO		30/03/2005	DATA LAB.		01/04/2005
N° ORGANI	12	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	1,5%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di modesta qualità, si rileva lieve autolisi nella placenta (10%), intestino tenue e abomaso (5%) e inquinamento batterico post-mortale sulle sezioni di placenta, timo, testicolo, rene e timo.</p> <p>Quadri istopatologici diffusi e di moderata entità.</p> <p>Aspetti infiammatori rappresentati da: richiamo di cellule leucocitarie (timo, encefalo e placenta 2/5, testicolo 1/5); infiltrato granulocitario eosinofilo (timo 3/5, linfonodo 2/5, intestino tenue 1/5); infiltrato granulocitario (testicolo 3/5, polmone e encefalo 2/5); infiltrato linfocitario (intestino tenue 2/5, abomaso 1/5); vasculite necrotizzante (placenta 2/5).</p> <p>Nella placenta si rileva inoltre: necrosi dei villi (3/5), ipertrofia dei trofoblasti (2/5), mineralizzazione placentare (2/5), metaplasia squamosa lieve, deposizione di pigmento multifocale. Fenomeni necrotici puntiformi di lieve intensità si riscontrano anche nel fegato.</p> <p>Nella milza: iperplasia dei manicotti periarteriolarari (2/5), deplezione della polpa rossa (2/5); infine nel timo: ipoplasia delle cellule mioidi</p> <p>Alla prova immunoistochimica per la ricerca di BHV-1 eseguita sulla placenta si rileva la positività di alcune cellule localizzate alla periferia delle aree di necrosi e di alcuni trofoblasti, nel fegato, invece, risultano essere positive le aree di necrosi ed alcune cellule epiteliali..</p> <p>Nessuna positività alla prova immunoistochimica per la ricerca di BVDV.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine virale (BHV-1)			

CASO N°	10146	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8 mesi	lunghezza	60 cm
INTERTEMPO	20 ore	DATA ABORTO		11/04/2005	DATA LAB.		13/04/2005
N° ORGANI	11	D. NUC.	2	D. CIT.	1,5	AUTOLISI	16%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità modesta-scadente, si rileva autolisi diffusa in vari organi (placenta 50%, intestino crasso 40%, milza e fegato 20%, intestino tenue 15%). Presenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Quadri istopatologici diffusi, nei quali i fenomeni infiammatori spiccano maggiormente.</p> <p>Si rileva presenza di infiltrato granulocitario eosinofilo nel fegato (perivasale 3/5), nel timo (diffuso e multifocale 2/5), intestino tenue (multifocale 2/5) e milza (diffuso 1/5); linfocitario nel polmone (perivasale 4/5) e cuore (multifocale 2/5). Nella placenta si riscontra vasculite granulocitaria e richiamo di cellule leucocitarie (2/5), associate a mineralizzazione, iperplasia dei trofoblasti (2/5) e depositi aghiformi di cristalloidi (probabilmente di calcio) all'interno dei villi coriali.</p> <p>Nel timo: iperplasia midollare 2/5, acantolisi dei corpuscoli di HASSAL (1/5); nella milza: iperplasia dei manicotti periarteriolari (1/5).</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> non si sono avuti riscontri positivi. Lo stesso dicasi per la ricerca di antigeni di <i>Neospora caninum</i> applicata su sezioni di cuore ed encefalo.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di natura non determinata, probabilmente infettiva.			

CASO N°	10147	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8 mesi	lunghezza	50 cm
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO		12/04/2005	DATA LAB.		13/04/2005
N° ORGANI	10	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>campioni di qualità modesta-discreta, non si rileva né autolisi né inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Quadri istopatologici diffusi e complessi.</p> <p>Gli aspetti istopatologici più comuni sono: vasculite (polmone 3/5, rene, cuore e cervello 2/5) e fenomeni infiltrativi (linfocitari nel pericardio e nell'intestino tenue e crasso; granulocitari eosinofili in abomaso e timo, misti in intestino tenue e crasso).</p> <p>Nel timo si rileva, inoltre: acantolisi dei corpuscoli di HASSAL (3/5); nell'encefalo: necrosi puntiforme multifocale (2/5).</p> <p>Comuni fenomeni emorragici: perivasali (rene 4/5, polmone 3/5, encefalo 2/5) e multifocali (cuore 2/5).</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività</p>							
DIAGNOSI				Aborto di natura non determinata, probabilmente infettiva.			

CASO N°	10188	RAZZA	P.R.I.	ETA'	6 mesi	lunghezza	45 - 50 cm
INTERTEMPO	8-12 ore	DATA ABORTO		18/05/2005	DATA LAB.	08/06/2005	
N° ORGANI	10	D. NUC.	2	D. CIT.	2	AUTOLISI	11,5%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di modesta qualità, autolisi presente in intestino crasso (90%), intestino tenue (15%) e placenta (10%). Inquinamento batterico post-mortale presente su sezioni di timo, milza, polmone e placenta. Quadri istopatologici diffusi e, talvolta, di notevole intensità.</p> <p>Si rileva: richiamo di cellule leucocitarie (placenta 2/5); marginazione granulocitaria (milza 3/5, cuore 2/5); infiltrato granulocitario eosinofilo (timo multifocale 3/5 con formazione di microascessi eosinofili, intestino tenue 1/5), infiltrato linfocitario (timo 2/5); vasculite nella placenta.</p> <p>Tuttavia l'aspetto istolesivo più intenso si ritrova nell'encefalo che presenta satellitosi intensa (4/5), accompagnata da gliosi (3/5) e necrosi dei neuroni, vasculite astrocitaria (3/5), richiamo linfocitario multifocale (raro e medio).</p> <p>Nel timo oltre agli aspetti già elencati, si può osservare: ipoplasia della midollare (2/5), processi regressivi a carico dei corpuscoli di HASSAL, ipoplasia grave delle cellule mioidi (4/5); nella milza: iperplasia diffusa a tutte le componenti cellulari dell'organo (3/5); nella placenta: ipertrofia dei trofoblasti (4/5), emorragia multifocale (4/5), mineralizzazione (1/5) e metaplasia squamosa.</p> <p>Alle prove immunohistochemiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1, <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Neospora caninum</i> non si sono avuti riscontri positivi.</p> <p>10</p>							
DIAGNOSI				Aborto di natura non determinata, probabilmente infettiva.			

CASO N°	10191	RAZZA	n. r.	ETA'	9 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	nottata	DATA ABORTO		26/05/2005	DATA LAB.	15/06/2005	
N° ORGANI	17	D. NUC.	4	D. CIT.	3,5	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di eccellente qualità, assenza di autolisi e di inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici modesti.</p> <p>L'aspetto più comune è un fenomeno infiltrativo di tipo linfoplasmacellulare di modesta entità (2/5) nella cute, fegato intestino crasso e milza, più intenso (4/5) nell'intestino tenue in cui si osservano anche linfociti globulari (2/5). Si rileva satellitosi (2/5) nell'encefalo, istiocitosi sinusale (3/5) e infiltrato granulocitario eosinofilo (3/5) in un linfonodo. Altri aspetti comprendono: steatosi macrovescicolare nel fegato (2/5); atrofia iper rigenerativa dei villi, con la presenza di villi ramificati e rigonfi nell'estremità luminale (2/5) nell'intestino tenue; iperplasia macrofagica ("aspetto a cielo stellato") in un linfonodo accompagnata a necrosi centrofollicolare.</p> <p>Gli aspetti circolatori comprendono emorragie anche intense nell'encefalo, fegato e rene, in quest'ultimo presente anche congestione vasale.</p> <p>Alle prove immunohistochemiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1 e <i>Neospora caninum</i> non si sono avuti riscontri positivi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di natura non determinata, probabile origine infettiva			

CASO N°	10207	RAZZA	P.R.I.	ETA'	6 mesi	lunghezza	45 cm
INTERTEMPO	3,5 ore	DATA ABORTO		22/07/2005	DATA LAB.		23/07/2005
N° ORGANI	9	D. NUC.	3,5	D. CIT.	3	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di buona qualità, non si apprezza presenza di autolisi né di inquinamento batterico post-mortale. Quadri istopatologici diffusi di modesta – media entità.</p> <p>Si osserva: infiltrato linfocitario diffuso nell'encefalo (3/5), intestino tenue (2/5), milza, omaso e cuore (1/5), perivasale nel fegato (2/5); infiltrato granulocitario eosinofilo in fegato ed intestino tenue (2/5); richiamo di cellule leucocitarie (cuore 3/5, polmone e encefalo 2/5, omaso 1/5).</p> <p>Si apprezza inoltre: steatosi macrovescicolare nel fegato associata a necrosi colliquativa carioretica (2/5); la steatosi si ritrova anche nel rene associata a rigonfiamento torbido (2/5); nella milza si osserva ipertrofia ed iperplasia dei megacariociti (2/5); nell'intestino tenue: atrofia iper rigenerativa dei villi.</p> <p>Comuni quadri patologici circolatori con: discreta (2/5) emorragia perivasale (polmone, cuore, encefalo e milza), multifocale (fegato 3/5), congestione vasale (rene e omaso).</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività. Lo stesso dicasi per la ricerca di antigeni di <i>Neospora caninum</i> applicata su sezioni di encefalo.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di natura non determinata, probabilmente infettiva.			

CASO N°	10267	RAZZA	P.R.I.	ETA'	5 mesi	lunghezza	50 cm
INTERTEMPO	prob. nottata	DATA ABORTO		07/12/2005	DATA LAB.		08/12/2005
N° ORGANI	14	D. NUC.	1	D. CIT.	1	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di scarsissima qualità, autolisi ed inquinamento batterico post-mortale assenti.</p> <p>L'unico organo valutabile risulta essere la placenta, per la scarsa qualità dei parametri di conservazione gli altri organi non si prestano all'interpretazione microscopica.</p> <p>Nella placenta si osserva massiccia presenza di ife fungine ben visibili alla colorazione HE, ad esse si associa necrosi dell'epitelio trofoblastico ed infiltrato granulocitario di media entità.</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività. L'impregnazione argintica di GROCOTT conferma la presenza di ife fungine.</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni del BVDV o BHV-1 nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine micotica (placentite micotica)			

CASO N°	10299	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8-9 mesi	lunghezza	60 cm
INTERTEMPO	prob. nottata	DATA ABORTO	07/03/2006		DATA LAB.	09/03/2006	
N° ORGANI	14	D. NUC.	4	D. CIT.	4	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di eccellente qualità, non si rileva presenza di autolisi né di inquinamento batterico post-mortale. I quadri istopatologici di maggior intensità si rilevano nella placenta in cui si apprezza la massiccia presenza di colonie batteriche. A tale aspetto patologico si associa: imponente vasculite necrotizzante (4/5), infiltrato granulocitario eosinofilo (3/5), grave necrosi coagulativa (4/5), ipertrofia dei trofoblasti (2/5) ed una trombosi diffusa di notevole entità (4/5).</p> <p>I batteri appaiono di forma coccoide, talvolta organizzati in brevi catenelle, alla colorazione di GRAM risultano Gram-negativi.</p> <p>Negli altri organi gli aspetti patologici sono più limitati e comprendono: infiltrati granulocitari diffusi nell'intestino tenue (3/5), cuore (2/5) e ovaio (1/5); gliosi di media entità nell'encefalo (3/5).</p> <p>Nel timo si apprezza ipoplasia corticale (2/5) e iperplasia macrofagica ("aspetto a cielo stellato") (2/5); nella milza si osserva grave (4/5) ipoplasia dei noduli linfatici e congestione vasale (3/5). Quest'ultimo aspetto si presenta anche nel fegato (2/5).</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> non si sono avuti riscontri positivi. Lo stesso dicasi per la ricerca di antigeni di <i>Neospora caninum</i> applicata su sezioni di cuore e cervello.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (placentite batterica)			

CASO N°	10300	RAZZA	B.A.	ETA'	8-9 mesi	lunghezza	60 cm
INTERTEMPO	nullo	DATA ABORTO	23/03/2006		DATA LAB.	24/03/2006	
N° ORGANI	10	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	17%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Qualità dei campioni modesta-discreta, autolisi diffusa e di varia entità si apprezza nell'intestino tenue e fegato (80%), rene (10%), assenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Gli unici aspetti istopatologici rilevabili in questo caso si localizzano nella placenta, nella milza e nel timo, gli altri organi valutati non presentano alcuna alterazione patologica o risultano difficilmente valutabili.</p> <p>Nella placenta si apprezza la presenza di colonie batteriche associate a infiltrato misto prevalentemente granulocitario (3/5), richiamo di cellule leucocitarie (2/5), necrosi caseosa (2/5), vasculite necrotica (1/5), infiltrato granulocitario perivasale multifocale (2/5), sono presenti due componenti batteriche di cui solo una probabilmente intravitale; i batteri appartenenti a tale componente risultano essere piccoli cocci Gram-negativi.</p> <p>Nel timo si osserva iperplasia delle cellule mioidi e della parte midollare (2/5), mentre nella milza si rileva iperplasia della polpa bianca di media entità (3/5).</p> <p>Alle prove immunoistochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV e BHV-1 non si sono avuti riscontri positivi.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (placentite batterica)			

CASO N°	10314	RAZZA	P.R.I.	ETA'	4,5 mesi	lunghezza	35 cm
INTERTEMPO	4-5 ore	DATA ABORTO		23/04/2006	DATA LAB.		26/04/2006
N° ORGANI	16	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	3%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di modesta qualità, si rileva autolisi nel rene (20%), intestino crasso e cute (10%), lieve inquinamento batterico post-mortale sulla superficie della sezione istologica di cute.</p> <p>Quadri istopatologici diffusi entità da media a lieve.</p> <p>A livello polmonare si rilevano colonie batteriche intrabronchiali ed intralveolari, soprattutto negli alveoli periferici più prossimi alla pleura o ai setti intralobulari. I batteri sono molto piccoli (diametro 1 µm) coccobacilli, talvolta organizzati in brevi catenelle; alla colorazione di GRAM risultano Gram-negativi. Si associa infiltrato granulocitario intrabronchiolare granulocitario di media entità (3/5), che talvolta da origine a trombi bronchiolari, richiamo di cellule leucocitarie (3/5).</p> <p>Negli altri organi si osserva spesso richiamo di cellule leucocitarie (muscolo e encefalo 3/5, lingua e abomaso 2/5, cute e rene 1/5), talvolta associato a infiltrato linfocitario perivasale (cute 2/5 e lingua 1/5) o diffuso (muscolo 1/5). Nell'encefalo il richiamo cellulare è associato a gliosi diffusa di media entità (3/5), encefalomalacia (2/5), grave congestione vasale (4/5) ed emorragia (1/5). Nel rene si rileva inoltre emorragia perivasale (3/5); necrosi multifocale e cristalli (ossalati) intratubulari (2/5), talvolta anche sulla parete dei tubuli, di dimensioni comprese tra 20-30 µm.</p> <p>Nella milza si osserva iperplasia megacariocitaria (3/5) e ipoplasia della polpa bianca (2/5), nel timo si apprezzano aspetti di iperplasia della componente corticale e dei corpuscoli di HASSAL, ipertrofia della componente vasale (2/5). Infine si osservano aspetti emorragici di lieve (1/5) entità nel muscolo e nella lingua.</p> <p>Alla colorazione di PIZZOLATO i cristalli presenti nel rene sono risultati positivi e pertanto si conferma la presenza di cristalli di ossalato di calcio a livello renale.</p> <p>Alle prove immunostochimiche per la ricerca di antigeni riferibili a BVDV e BHV-1 non si sono avuti riscontri positivi. Lo stesso dicasi per la ricerca di antigeni di <i>Neospora caninum</i> applicata a sezioni di encefalo.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di origine batterica (polmonite batterica).			

CASO N°	10317	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8 mesi	lunghezza	55 cm
INTERTEMPO	alcune ore	DATA ABORTO		05/05/2006	DATA LAB.		08/05/2006
N° ORGANI	10	D. NUC.	3,5	D. CIT.	3	AUTOLISI	2%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di buona qualità, autolisi lieve (10% delle sezioni d'organo valutate) presente nel rene ed intestino tenue. Inquinamento batterico post-mortale presente nella placenta.</p> <p>Gli aspetti istopatologici più gravi si riscontrano a livello placentare e polmonare.</p> <p>Nella placenta si osservano colonie batteriche associate ad un intenso 4/5 infiltrato multifocale, grave vasculite necrotizzante (4/5), metaplasia squamosa (3/5) e ipotrofia dei trofoblasti. Batteri si osservano anche nel polmone associati a infiltrato granulocitario diffuso (3/5) ed eosinofilo multifocale (3/5), talvolta in forma di microascessi, notevole ipertrofia vascolare (4/5) ed emorragia diffusa (3/5).</p> <p>Negli altri organi si riscontra richiamo di cellule leucocitarie in un linfonodo (4/5), nel fegato (3/5) e nella milza (2/5). In quest'ultima si osserva anche ipoplasia dei noduli linfatici (2/5) e ipertrofia della polpa bianca, mentre nel linfonodo si apprezza ipotrofia paracorticale (3/5). Infine si segnalano lievi (1/5) quadri emorragici nel cuore.</p> <p>Alla prova immunostochimiche per la ricerca di antigeni di BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (placentite e polmonite batterica)			

CASO N°	10323	RAZZA	P.R.I.	ETA'	6 mesi	lunghezza	60-65 cm
INTERTEMPO	32 ore	DATA ABORTO		15/05/2006	DATA LAB.	16/05/2006	
N° ORGANI	10	D. NUC.	2,5	D. CIT.	2	AUTOLISI	4%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di qualità modesta, si osserva autolisi nel fegato (25%) e rene (20%). Inquinamento batterico post-mortale lieve e limitato al cuore e all'omaso.</p> <p>Quadri infiammatori costituiti da infiltrato linfocitario (milza perivasale 4/5, cuore multifocale 2/5, encefalo e fegato 2/5) e richiamo cellulare (milza 4/5 talora con formazioni quasi trombotiche, timo e intestino tenue 1/5). Nella milza si osserva inoltre iperplasia dei noduli linfatici (2/5) ed ectasia dei vasi linfatici (2/5); nel timo iperplasia della parte corticale (3/5) e ipertrofia dei corpuscoli di HASSAL (3/5), nell'intestino atrofia iper rigenerativa dei villi con edema della sottomucosa. Tale aspetto patologico si osserva anche nell'omaso e reticolo.</p> <p>Alla prova immunoistochimiche per la ricerca di antigeni di BVDV, BHV-1 e <i>Neospora caninum</i> nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di natura non determinata, probabilmente infettiva			

CASO N°	10326	RAZZA	P.R.I.	ETA'	8 mesi	lunghezza	90 cm
INTERTEMPO	alcune ore	DATA ABORTO		29/05/2006	DATA LAB.	30/05/2006	
N° ORGANI	12	D. NUC.	3,5	D. CIT.	3	AUTOLISI	2%
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Campioni di buona qualità, autolisi lieve nel rumine (20%) e testicolo (5%). Non si rileva presenza di inquinamento batterico post-mortale.</p> <p>Quadri istopatologici diffusi e complessi.</p> <p>Nel polmone si osserva la presenza di batteri localizzati soprattutto in alveoli sottopleurici. Tali batteri si presentano in forma allungata tendenzialmente bastoncellari, Gram-positivi e spesso associati a infiltrato granulocitario multifocale (nei pressi di alcune trabecolature) denso. Si apprezza inoltre, infiltrato eosinofilo diffuso (2/5) e peribronchiale sottile, infiltrato linfocitario intraepiteliale e peribronchiale (2/5), richiamo di cellule leucocitarie (3/5), che , in un vaso, porta alla formazione di un trombo leucocitario.</p> <p>Quadri di richiamo leucocitario sono comuni anche ad altri organi: cute (3/5), timo, cuore, encefalo, fegato, testicolo, intestino tenue (2/5) e rene (1/5). Aspetti infiltrativi linfocitari si osservano nell'intestino tenue (4/5), milza e cuore (multifocale 3/5), cute (multifocale 2/5), testicolo (perivasale 1/5). A livello encefalico si apprezza gliosi di discreta entità (2/5) e lieve satellitosi (1/5), mentre nel timo si evidenzia infiltrato granulocitario eosinofilo multifocale (3/5) associato a ipertrofia vascolare (2/5) e iperplasia delle cellule mioidi (3/5), ipotrofia della componente corticale a seguito dell'iperplasia della componente midollare (2/5) e necrosi multifocale. Nella milza si osserva iperplasia della polpa rossa (3/5) e necrosi (dovuta forse a cattiva fissazione). Nell'intestino tenue si rileva iperplasia della placca del PEYER (3/5) e villi rigonfi nell'estremità luminale.</p> <p>Modesti e rari i quadri patologici circolatori. Da segnalarsi, nella cute, cheratinizzazione tricolemmale di discreta entità (2/5) (follicoli c.d. "a fiamma").</p> <p>Alla prova immunoistochimiche per la ricerca di antigeni di BVDV, BHV-1 e <i>Neospora caninum</i> nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				aborto di origine batterica (polmonite batterica)			

CASO N°	10377	RAZZA	P.R.I.	ETA'	7 mesi	lunghezza	
INTERTEMPO	nottata	DATA ABORTO	03/11/2006	DATA LAB.	07/11/2006		
N° ORGANI	1	D. NUC.	3	D. CIT.	3	AUTOLISI	0
<p>DESCRIZIONE</p> <p>Il caso consta, come organi campionati, della sola placenta i feti, trattasi di aborto gemellare, si presentavano in stato autolitico tale da non permettere alcun campionamento.</p> <p>Si rileva inquinamento batterico post-mortale grave e a componente mista. Si rileva anche la presenza di lieviti e frammenti vegetali.</p> <p>Nella placenta si apprezza la presenza di colonie batteriche associate a grave (4/5) infiltrato granulocitario eosinofilo multifocale, in cui si apprezzano, talvolta, fenomeni di fagocitosi.</p> <p>Alla colorazione di GRAM i batteri presenti negli infiltrati sono bacilli Gram-negativi (2 µm X 1 µm).</p> <p>Ipertrofia dei trofoblasti modesta (2/5). Sono presenti emorragie multifocali e necrosi dell'epitelio trofoblastico.</p> <p>Alla prova immunostochimiche per la ricerca di antigeni di BVDV, BHV-1 e <i>Listeria monocytogenes</i> nessuna positività.</p>							
DIAGNOSI				Aborto di probabile origine batterica (placentite batterica)			

3.3 RIEPILOGO DIAGNOSTICO

In base a quanto descritto, ai fini diagnostici, lo studio ha dato i seguenti risultati:

Tabella 3.7

	N°	%	N°	%
casi in cui si è potuta dare una diagnosi, seppur di massima	25	47,2		
casi rimasti indagnosticati:	28	52,8		
con lesioni suggestive di agenti infettivi			15	28,3
senza alcuna lesione o con lesioni di modesta entità			13	24,2

Nei casi diagnosticati, l'eziologia dell'aborto è risultata così scomposta (la percentuale si riferisce alla totalità dei casi analizzati n=53):

Tabella 3.8

	N°	%	N°	%
Eziologia batterica	13	24,6		
placentite batterica			5	9,4
placentite e polmonite batterica			3	5,7
polmonite batterica			4	7,5
placentite e setticemia			1	1,9
Eziologia virale	7	13,2		
BVDV			5	9,4
BHV-1			2	3,8
Eziologia mista	2	3,8		
BHV-1, placentite micotica e polmonite batterica			1	1,9
BHV-1, placentite batterica			1	1,9
Eziologia micotica	2	3,8		
placentite micotica			2	3,8
Altro	1	1,9		
ossalosi renale			1	1,9

Per i casi in cui era presente la placenta, le tabelle precedenti risultano così composte (le percentuali vengono calcolate sul numero dei casi con placenta n=29):

Tabella 3.9

	N°	%	N°	%
casi in cui si è potuta dare una diagnosi, seppur di massima	20*	69		
casi rimasti indagnosticati:	9	31		
con lesioni suggestive di agenti infettivi			5	17,2
senza alcune lesione o con lesioni di modesta entità			4	13,8

*In tre casi la diagnosi risulta essere di infezione da BVDV, in questi casi la placenta ha contribuito alla diagnosi in minor misura in quanto il virus è stato meglio rilevato in altri organi (emolinfopoietici e intestino tenue *in primis*); in un altro caso la diagnosi è stata di ossalosi renale, in tale caso la placenta presentava lesioni di modesta entità (richiamo di cellule leucocitarie nei vasi 2/5); in un ulteriore caso la diagnosi è risultata essere di polmonite batterica, in questo caso la placenta presentava lesioni suggestive di possibile causa infettiva, senza altra indicazione. Tenuto conto di queste considerazioni, i casi in cui la placenta è stata fondamentale per l'emissione di una diagnosi risultano essere 15, pari al 52% dei casi con placenta e 28% dei casi totali.

Mentre l'eziologia dell'aborto è così scomposta (la percentuale si riferisce ai casi in cui è presente la placenta n=29):

Tabella 3.10

	N°	%	N°	%
Eziologia batterica	10	34,5		
placentite batterica			5	17,2
placentite e polmonite batterica			3	10,3
polmonite batterica			1	3,4
placentite e setticemia			1	3,4
Eziologia virale	5	17,2		
BVDV			3	10,3
BHV-1			2	6,9
Eziologia mista	2	6,9		
BHV-1, placentite micotica e batterica			1	3,4
BHV-1, polmonite batterica			1	3,4
Eziologia micotica	2	6,9		
placentite micotica			2	6,9
Altro	1	3,4		
ossalosi renale			1	3,4

Per quanto riguarda la statistica diagnostica per stalla in cui è avvenuto l'aborto è emerso che si è potuto fare diagnosi in 20 stalle su 30, pari a 2/3 delle stalle. Solo in una stalla con più di un aborto inviato non si è potuto dare un'indicazione di massima sull'origine del fenomeno, nelle rimanenti 9 stalle l'aborto inviato è unico. Peraltro, nella stalla priva di diagnosi, su tre aborti inviati, due non presentavano lesioni degne di nota.

Per quanto riguarda la relazione tra la dimensione delle stalle e la diagnosi, nelle tabelle seguente (tabella 3.11 e 3.12) i risultati ottenuti vengono organizzati in base al numero di capi allevati nella stalla.

NOTA: Nelle tabelle il numero totale di aborti diagnosticati manca di un'unità in quanto per un caso la provenienza non è stata indicata.

Tabella 3.11

	< 50	51 < X < 100	101 < X < 200	> 200	
PLACENTITE	3	1	1	0	5
POLMONITE	2	1	0	1	4
PLACENTITE E POLMONITE	1	0	1	1	3
SETTICEMIA	1	0	0	0	1
IBR (ANCHE MISTA)	1	2	1	0	4
BVD	1	0	0	3	4
MICOSI	1	0	0	1	2
ALTRO	0	0	0	1	1
	10	4	3	7	24

Tabella 3.12

	< 50	51 < X < 100	101 < X < 200	> 200	
BATTERI	7	2	2	2	13
VIRUS (ANCHE MISTE)	2	2	1	3	8
MICETI	1	0	0	1	2
ALTRO	0	0	0	1	1
	10	4	3	7	24

In base a questi dati si può rilevare che si è ottenuta una diagnosi nel 55% dei casi provenienti da stalle di piccolissime dimensioni; nel 40% dei casi provenienti da stalle di piccole dimensioni; nel 37% dei casi provenienti da stalle di dimensioni medie e nel 44% dei casi provenienti da stalle di grandi dimensioni.

Per quanto riguarda la statistica diagnostica per età del feto al momento dell'aborto, i risultati vengono riassunti nelle tabelle sottostanti (tabelle 3.13 e 3.14), divisi per trimestre di gestazione.

Tabella 3.13

	1° TRIM.	2° TRIM.	3° TRIM.	
PLACENTITE	0	1	4	5
POLMONITE	0	3	1	4
PLACENTITE E POLMONITE	0	0	3	3
SETTICEMIA	0	0	1	1
IBR (ANCHE MISTA)	1	1	1	3
BVD	0	1	3	4
MICOSI	1	1	0	2
ALTRO	0	0	1	1
	2	7	14	23

Tabella 3.14

	1° TRIM.	2° TRIM.	3° TRIM.	
BATTERI	0	4	9	13
VIRUS (ANCHE MISTE)	1	2	4	7
MICETI	1	1	0	2
ALTRO	0	0	1	1
	2	7	14	23

In base a questi dati si può stabilire che si è ottenuta una diagnosi nel 50% dei casi abortiti al primo trimestre di gravidanza; nel 35% dei casi abortiti durante il secondo trimestre di gestazione e nel 52% dei casi abortiti nell'ultimo trimestre.

NOTA: Nelle tabelle il numero totale di aborti diagnosticati difetta di due unità poiché, per un caso, non si è registrato il momento dell'aborto, e per un altro non è stato possibile stabilirlo.

Infine, viene riassunto il numero di successi diagnostici, e relativa percentuale, in base al dettaglio qualitativo nucleare (tabella 3.15).

Tabella 3.15

Valori di dettaglio nucleare	CASI	DIAGNOSTICATI	%	lesioni ma non diagnosi	%	nulla da rilevare	%
DA 1 A 2	10	2	20	2	20	6	60
DA 2 A 3	30	14	47	9	30	7	23
DA 3 A 4	10	7	70	3	30	0	0
OLTRE 4	3	2	67	1	33	0	0
		25		15		13	

3.4 QUADRI ISTOPATOLOGICI SUDDIVISI IN BASE ALL'EZIOLOGIA

Vengono ora descritte le lesioni più comuni e significative riscontrate nei casi valutati in base all'eziologia riscontrata. I casi in cui la diagnosi e i quadri istopatologici corrispondono a ossalosi renale (caso n° 9050) e placentite con setticemia (caso n° 9906), essendo unici non vengono qui considerati, si rimanda alla descrizione precedentemente data. Anche i casi con lesioni assenti o modeste non vengono qui contemplati.

3.4.1 Aborti di origine virale

Comprendono casi in cui la diagnosi è stata ottenuta soprattutto grazie all'impiego della metodica immunohistochimica in presenza di quadri compatibili con infezione virale.

3.4.1.1 Aborti dovuti ad infezione da BVDV

Comprendono n=5 casi. I quadri istopatologici più importanti si ritrovano a livello di intestino tenue e organi emolinfopoietici (in primo luogo timo e milza, in minor misura linfonodo e GALT).

Nell'intestino tenue sono pressoché costanti (in n=3 campioni su 5) fenomeni infiltrativi di tipo granulocitario eosinofilo di intensità variabile, ugualmente frequenti ma di minor intensità quelli di tipo linfocitario. In n=3 campioni di intestino si rileva inoltre dilatazione dell'estremità luminale dei villi, di entità da media a lieve; in n=2 casi si rileva necrosi (in un campione necrosi centrofollicolare nella placca del PEYER, che risulta anche iperplastica; nell'altro la necrosi risulta puntiforme). Le lesioni circolatorie sono minori e si limitano a: congestione vasale (n=3 campioni su 6) di media entità, in un caso associata ad emorragia diffusa.

Nei tre campioni di intestino crasso esaminati si rileva: enterite catarrale associata a iperplasia delle cellule caliciformi; nei restanti due infiltrato granulocitario eosinofilo di moderata entità.

Più complessi i quadri negli organi emolinfopoietici.

Nel timo si rileva: infiltrato di tipo granulocitario eosinofilo in n=4 campioni su 7 esaminati, di entità da media a moderata, in un caso l'infiltrato è associato a microascessi eosinofili; infiltrato linfocitario in un caso. Altro aspetto piuttosto frequente (n=4 campioni su 7) è l'iperplasia macrofagica (c.d. "aspetto a cielo stellato") di intensità solitamente discreta; reperto comune (n=3 casi su 7) è l'ipertrofia della midollare associata a ipoplasia della componente corticale. Meno frequenti le alterazioni dei corpuscoli di HASSAL che in due casi si rilevano acantolitici e in altri due ipertrofici.

La milza presenta limitatissimi aspetti infiammatori (splenite necrotizzante in un caso e lieve infiltrato eosinofilo in un altro). Più costanti gli aspetti di alterazioni regressive/progressive con: iperplasia della polpa bianca (n=3 campioni su 5), deplezione megacariocitaria (n=2 campioni su 5), ipoplasia dei noduli linfatici (n=2 campioni su 5), che in un caso sono praticamente assenti.

Negli altri organi, le lesioni soprattutto di tipo infiammatorio, seppur presenti, sono d'intensità più modesta (1-2/5).

Da rilevare frequenti quadri congestizi nel rene, emorragici nel cuore ed encefalo, steatosi macrovescicolare nel fegato (n=3 campioni su 6 esaminati)

Come suggerito dalle lesioni istopatologiche riscontrate le positività immunoistochimiche a BVDV si presentano più frequenti ed intense negli organi emolinfopoietici e nell'apparato gastroenterico. Tuttavia, i quadri immunoistochimici risultavano più costanti e ben definiti rispetto a quelli istopatologici. Veniva riscontrata la positività di cellule mononucleate di probabile origine macrofagica/istiocitica in quasi tutti gli organi esaminati. Tali cellule erano presenti in numero variabile soprattutto a livello della componente stromale (spazi perivascolari, spazi peribronchiali, capsula, tonache sierosa, mucosa e sottomucosa), ma risultavano più frequenti a livello splenico, timico ed intestinale. A livello abomasale si riscontrava inoltre una positività intracitoplasmatica in posizione paranucleare, delle cellule epiteliali, di intensità variabile da modesta a discreta. Più evidente ed intensa la positività veniva espressa dalle cellule delle cripte ghiandolari dell'intestino tenue ed in alcune cellule dell'epitelio ghiandolare del crasso.

Nel campione intestinale comprendente la placca del PEYER alcune cellule erano positive anche all'interno di tale struttura linfoide.

Nel timo alcune cellule positive erano presenti anche nella midollare in special modo nelle vicinanze dei corpuscoli di HASSAL. Nella milza un'intensa positività era espressa da cellule dei manicotti perivascolari.

2.4.1.2 Aborti dovuti ad infezione da BHV-1

Vengono qui considerati anche i casi ad eziologia mista, virale da BHV-1, batterica, e, in un caso, anche micotica, in quanto le lesioni più indicative si riferiscono ad un'origine virale. In totale i casi ascrivibili a questa categoria sono risultati 4.

L'organo più indicativo come frequenza e tipologia di lesioni risulta essere la placenta, in seconda misura gli organi emolinfopoietici. Da segnalare che, molto frequentemente, negli altri organi, quali cuore, lingua, rene, rumine, muscolo e omaso, non si rileva alcuna alterazione patologica o, in un caso, la scarsa qualità dei campioni non ne permette la valutazione microscopica.

La placenta presenta costantemente quadri istopatologici infiammatori di intensità da media a grave: infiltrato granulocitario multifocale o diffuso associato o meno a vasculite in n=3 campioni su 5, manicotti perivasali linfocitari in n=2 campioni. Aspetto molto comune (n=4 campioni su 5) è la mineralizzazione placentare di entità da media a elevata, mentre necrosi si riscontra in 3 campioni, lo stesso dicasi per l'ipertrofia trofoblastica.

In un caso si rileva la presenza di ife settate, in un altro di batteri (si veda la descrizione dei casi n° 10036 e n° 9366 rispettivamente).

Infine, in un campione si rilevano inclusi nucleari debolmente acidofili peraltro negativi alla colorazione alla floxina-tartrazina.

Negli organi linfoidi le lesioni sono meno frequenti ed intense rispetto a quelle rilevate in caso di infezione da BVDV.

Nel timo si rileva infiltrato granulocitario eosinofilico di entità media in n=2 campioni su 3, in un caso ipoplasia delle cellule mioidi, in un altro ipertrofia dei corpuscoli di HASSAL, associata ad iperplasia della parte midollare e iperplasia macrofagica (c.d. "aspetto a cielo stellato").

In un campione di linfonodo, su due presenti, si rileva grave ipoplasia follicolare e ipertrofia paracorticale moderata.

Nel solo campione di milza presente si rileva deplezione della polpa rossa, ipertrofia della travatura splenica e iperplasia dei manicotti periarteriolari.

In un campione di polmone sui n=4 presenti, si rileva la presenza di batteri intrabronchiolari, associata ad infiltrato granulocitario di media entità e vasculite (caso n° 9366). Negli altri campioni, eccettuato un caso con marginazione granulocitaria media, le lesioni sono minime.

Presenza di infiltrato granulocitario eosinofilico modesto nei n=2 campioni di intestino tenue presenti. In uno di essi si riscontra anche dilatazione dell'estremità luminale dei villi, di lieve entità.

Negli altri organi i quadri infiammatori sono poco frequenti e poco intensi, praticamente nulle le alterazioni a livello circolatorio.

Le positività alla metodica immunoistochimica sono più semplici di quelle rilevate per la ricerca di BVDV. In tutti i casi si ha, nella placenta, una colorazione intensa di alcuni trofoblasti e di cellule poste alla periferia delle aree di necrosi. Nel caso n° 9366 si ha anche colorazione intensa di alcuni tubuli renali, mentre nel caso n° 10143 si rileva colorazione di alcune cellule ed aree di necrosi a livello epatico.

3.4.2 Aborti di origine batterica

Vengono ora analizzati i casi in cui si riscontra la presenza di batteri all'interno di uno o più campioni di organi valutati. Tutte le prove immunoistochimiche atte a rilevare la presenza di altri patogeni hanno dato esito negativo.

3.4.2.1 Placentiti batteriche

Comprendono 5 casi. La diagnosi è stata possibile dall'osservazione di lesioni di grave entità nella placenta, associate alla presenza di batteri.

In tutte le sezioni di placenta valutate (n=7 campioni), si rilevano fenomeni infiammatori più o meno gravi. Si rileva infiltrato granulocitario di entità da modesta a grave in n=5 campioni, in due di questi l'infiltrato è di tipo eosinofilo, solitamente (n=3 casi) multifocale nettamente associato alle colonie batteriche; in n=2 campioni l'infiltrato è linfocitario, perivasale e multifocale. Si rileva anche vasculite grave in n=4 casi, mentre in n=3 casi ai fenomeni infiltrativi si associa un richiamo intravasale di cellule leucocitarie di media entità.

Fenomeno frequente (n=4 campioni su 7) è la necrosi, che si presenta di vari tipi: colliquativa, carioretica, colliquativa-carioretica. La metaplasia squamosa è presente in n=2 campioni, la mineralizzazione placentare in uno. Fenomeni patologici circolatori sono limitati a grave trombosi in un campione, emorragie diffuse in un altro. I batteri presenti alla colorazione di GRAM risultano per lo più Gram-negativi di forma coccoide (n=3 casi su 5), in uno bastoncellari Gram-negativi e in un altro bacilli Gram-negativi.

Negli organi emolinfopoietici le alterazioni di tipo infiammatorio sono rarissime (n=4 campioni di milza e timo valutati), tuttavia nella milza si rileva ipoplasia della polpa bianca, ipoplasia dei noduli linfatici, ipertrofia della polpa bianca in tre campioni differenti. In un caso si rileva notevole anemia mentre in un altro congestione vasale di media entità. Nel timo in due campioni si rileva: ipoplasia delle cellule mioidi; ipertrofia dei corpuscoli di HASSAL, Riscontrabile in singoli campioni risultano: iperplasia della corticale, iperplasia della midollare, iperplasia macrofagica (c.d. "aspetto a cielo stellato").

Negli altri organi le lesioni sono meno frequenti ed intense. Da rilevare a livello encefalico in n=2 campioni (su n=4 presenti) richiamo di cellule leucocitarie di media entità, in un caso associato a satellitosi, in un caso gliosi sempre di media gravità. Nell'intestino tenue si riscontrano infiltrati

linfocitari in n=3 campioni su 5 valutati, come pure atrofia iper rigenerativa dei villi con formazione di villi “a foglia” o claviformi.

Negli altri organi si rilevano quadri infiammatori lievi, più frequenti i quadri emorragici.

In tutti i casi ricerche immunoistochimiche per BVDV, BHV-1 e *Listeria monocytogenes* non hanno dato risultati positivi.

3.4.2.2 Placentiti e polmoniti batteriche

A questo quadro corrispondono n=3 casi. La diagnosi e i quadri istopatologici più frequenti ed intensi si localizzano a livello placentare e polmonare.

Nella placenta in tutti i campioni si riscontra grave infiltrato granulocitario multifocale, associato in n=2 campioni a richiamo intravasale di cellule leucocitarie e nel rimanente a grave vasculite necrotizzante. In n=2 campioni si riscontra necrosi di grave entità, nel rimanente metaplasia squamosa associata a ipotrofia dei trofoblasti. Modesti e rilevabili in un solo campione i quadri patologici circolatori, limitati a lieve congestione vasale ed emorragia.

Anche nel polmone i quadri infiammatori sono predominanti: in tutti 3 i campioni valutati si riscontrano infiltrati granulocitari diffusi, in n=2 casi associati a richiamo intravasale leucocitario, si rileva emorragia di discreta entità in un solo campione.

Alla colorazione di GRAM i batteri sono risultati: Gram-positivi di forma bacillare (caso n° 9051); Gram-negativi bastoncellari (caso n° 9512); Gram-negativi molto piccoli a forma di cocci formanti brevi catenelle(caso n° 10317).

La milza è stata campionata in due casi. In un campione presenta richiamo di cellule leucocitarie associato a ipoplasia dei noduli linfatici e iperplasia della polpa bianca, nell'altro campione infiltrato misto perivasale grave con ipertrofia megacariocitaria.

Negli altri organi le lesioni sono meno frequenti ed intense. Da rilevare nei due campioni di rene vasculite linfocitaria e infiltrato linfocitario multifocale, richiamo di cellule leucocitarie in due campioni di fegato su 3, gliosi di media entità in un campione di encefalo (su n=2 valutati). Nulla da rilevare per quanto riguarda i campioni di intestino tenue e crasso.

In tutti i casi ricerche immunoistochimiche per BVDV, BHV-1 e *Listeria monocytogenes* non hanno dato risultati positivi.

3.4.2.3 Polmoniti batteriche

Comprendono n=4 casi.

I quadri istopatologici sono frequenti e diffusi a vari organi, si rileva la presenza costante di batteri unicamente a livello polmonare (solo n=1 caso dei 4 analizzati comprendeva nei campioni d'organo anche la placenta). La presenza di batteri è tuttavia associata a quadri infiammatori lievi; in un caso del tutto assente, nei rimanenti limitati a richiamo di cellule leucocitarie (di modesta-media entità), in un caso associato a infiltrato linfocitario perivasale e granulocitario eosinofilico multifocale, in un altro a infiltrato granulocitario multifocale (che talvolta forma trombi endoalveolari). Non si apprezzano alterazioni di tipo metabolico o circolatorio.

Alla colorazione di GRAM i batteri risultano: in n=2 casi cocchi Gram-negativi (caso n° 9046 e 10314), nei restanti n=2 casi bastoncellari Gram-positivi (caso n° 10111 e 10326).

Nell'unico campione di placenta presente si rileva vasculite necrotizzante di media entità, metaplasia squamosa, lieve mineralizzazione placentare e vacuoli citoplasmatici in alcuni trofoblasti, non si apprezza la presenza di batteri.

La milza è stata campionata in tutti i casi, presenta solo in un caso alterazione infiammatoria (infiltrato linfocitario multifocale di media entità) mentre più costanti risultano i quadri di alterazione metabolica. Si rileva, infatti: necrosi associata ad iperplasia della polpa rossa, lieve deplezione della polpa rossa con iperplasia della polpa bianca, ipoplasia della polpa rossa con iperplasia megacariocitaria, in quest'ultimo caso è presente anche grave anemia.

Campioni di timo, parimenti a quelli splenici, sono presenti in tutti 4 i casi. Le alterazioni infiammatorie presenti in due campioni (infiltrato granulocitario eosinofilico multifocale associato a richiamo di cellule leucocitarie e infiltrato granulocitario eosinofilico diffuso), mentre risultano costanti le alterazioni metaboliche rappresentate da aspetti soprattutto ipertrofici: della corticale (in n=2 casi), della componente vascolare (n=2 casi); delle cellule mioidi; della paracorticale. In un solo caso si rileva ipoplasia midollare.

Nell'intestino tenue (campionato 3 volte) si rileva, in n=2 campioni, infiltrato linfocitario, anche di elevata intensità, in un caso associato a forte richiamo di cellule leucocitarie. Si rileva, inoltre, in entrambi i casi, dilatazione dell'estremità luminale dei villi, associata, in un caso, a iperplasia della placca del PEYER.

Comuni a livello cutaneo e renale aspetti di richiamo intravasale leucocitario (n=3 campioni su 4 campionati), associato, nella cute e in due casi, ad infiltrato linfocitario. L'encefalo è stato campionato in tutti i casi e presenta in due casi richiamo leucocitario associato a gliosi, in un caso a questi aspetti si associa encefalomalacia.

Aspetti di richiamo di cellule leucocitarie si riscontrano anche nel tessuto muscolare.

Da segnalare, infine, la presenza di alcuni organi (rumine, lingua, fegato, intestino crasso) che non presentano lesioni degne di nota.

Nei casi in cui sono state applicate, le tecniche immunoistochimiche per BVDV, BHV-1, *Listeria monocytogenes* e *Neospora caninum* non hanno dato risultati positivi.

3.4.3 Aborti di origine micotica

Comprendono n=2 casi.

Le lesioni sono limitate alla placenta, in un caso l'autolisi e i parametri qualitativi delle sezioni valutate non permettono la lettura dei campioni.

La placenta presenta in un caso vasculite necrotizzante di media entità associata a richiamo cellulare, ipertrofia dei trofoblasti e necrosi puntiforme; questi ultimi due aspetti si presentano anche nell'altro caso, in cui i quadri infiammatori sono rappresentati da infiltrato granulocitario perivasale.

In questi casi ulteriori ricerche immunoistochimiche per BVDV e BHV-1, non hanno dato risultati.

3.4.4 Aborti di origine non determinabile

Vengono ora descritti i quadri istopatologici più frequenti nei campioni di organo dei 15 casi valutati in cui non si è giunti ad una diagnosi pur avendo rilevato lesioni. Per maggior chiarezza questa sezione viene suddivisa per campione d'organo considerato. Si ricorda che le ricerche immunoistochimiche per BVDV, BHV-1 e *Neospora caninum* (quest'ultima applicata a tutti i casi che presentavano alterazioni infiammatorie a livello encefalico e/o cardiaco) non hanno dato risultati positivi.

CUORE

Presente in tutti 15 i casi, solitamente (n=13 casi) presenta lesioni di tipo infiammatorio, mentre le lesioni di tipo circolatorio sono limitate a solo tre casi che presentano emorragie.

L'aspetto infiammatorio più frequente è un fenomeno infiltrativo di tipo linfocitario (9 casi) perivasale (n=4 casi), diffuso (n=3) o multifocale (n=2) di entità lieve o modesta. In un caso si riscontra un debole infiltrato granulocitario diffuso.

A livello dei vasi dell'organo si riscontrano: in due casi vasculite lieve o modesta; marginazione granulocitaria in n=3 casi; richiamo di cellule leucocitarie in n=4 casi, quest'ultimo aspetto è solitamente il più intenso con gravità che va da modesta (n=2 casi) a media e grave.

CUTE

Tale organo è stato campionato in n=7 casi, di cui n=5 presentano lesioni.

Le lesioni più frequenti sono di tipo infiammatorio: infiltrati (granulocitario multifocale, linfoplasmacellulare diffuso, misto multifocale) di lieve o modesta entità; richiamo di cellule leucocitarie molto intenso associato ad infiltrato linfocitario perivasale modesto; vasculite linfocitaria modesta.

Le alterazioni circolatorie si riscontrano in due casi (emorragie, in un caso associate ad edema).

Da segnalare in un caso follicoli piliferi anomali con produzione di cheratina matriciale.

ENCEFALO

Presente in tutti i 15 casi in cui non si è potuto dare una risposta diagnostica, mostra lesioni in 12 campioni, di cui, in due, solo lievi lesioni di tipo circolatorio (emorragie).

Le lesioni di tipo infiammatorio si manifestano con: fenomeni infiltrativi di tipo granulocitario eosinofilo (n=1 caso) e linfocitario (n=2 casi); richiamo di cellule leucocitarie (n=4 casi di cui, in due, associato a satellitosi); satellitosi talora grave (n=4 casi in cui, oltre alla contemporanea presenza di richiamo, in uno gliosi); vasculite necrotizzante (n=2 casi di cui uno associato all'infiltrato eosinofilo prima descritto). Si apprezza necrosi in due campioni mentre in n=7 campioni si riscontra anche emorragia (perivasale e multifocale in tre casi, perivasale in uno).

FEGATO

Tale organo è presente in tutti i casi, evidenzia lesioni in n=9 campioni e risulta non leggibile per autolisi in n=2 casi.

Quadri infiammatori contraddistinti da infiltrati linfocitari perivasali associati a infiltrati granulocitari eosinofili per lo più perivasali in n=3 casi; in n=2 casi infiltrato linfocitario (di cui uno portale grave); infiltrato granulocitario eosinofilo e linfoplasmacellulare in n=2 casi rispettivamente; richiamo cellule leucocitarie.

In n=2 casi si riscontra degenerazione idropica di media intensità (associata a quadri infiammatori); in altrettanti fenomeni di necrotici di modesta entità sempre associati ad infiltrati e in un caso anche a steatosi macrovescicolare, quest'ultima si apprezza anche in un altro feto in associazione ad infiltrato linfoplasmacellulare. Infine in n=2 campioni si osservano fenomeni emorragici.

INTESTINO CRASSO

L'organo è stato campionato in n=8 casi, in un caso non si rilevano lesioni (in n=1 non valutabile).

In n=2 casi si rileva infiltrato linfocitario, in uno linfoplasmacellulare; in n=2 casi si osserva richiamo intravasale di cellule leucocitarie, in uno associato ad infiltrato granulocitario misto.

In n=2 casi si apprezza iperplasia delle cellule caliciformi in un caso, in cui il fenomeno è più evidente, associata ad infiltrato ed allungamento delle cripte di LIEBERKUMN.

INTESTINO TENUE

In quest'organo, campionato per tutti i casi, le lesioni sono frequenti e spesso complesse.

L'aspetto infiammatorio più frequente risulta essere la presenza di infiltrato granulocitario eosinofilo, di entità variabile, in n=4 campioni, in n=2 la lesione è associata ad infiltrato linfocitario diffuso. Tra gli altri fenomeni di infiltrazione di cellule infiammatorie si registrano: infiltrato linfocitario, anche grave, in n=3 casi, infiltrato linfoplasmacellulare in un caso; infiltrato di tipo misto diffuso grave associato a manicotti leucocitari perivasali di lieve entità in un altro. Nella componente vasale: marginazione anche grave in n=2 casi, in uno associata ad infiltrato linfocitario diffuso; richiamo di cellule leucocitarie lievi in n=2; vasculite lieve in un quinto caso.

Le lesioni di tipo metabolico – morfologico sono anch'esse ben evidenti in quanto presenti in n=11 casi, frequentemente (7 volte su 11) associate ai fenomeni infiammatori prima descritti; si rileva: in n=5 casi atrofia iper rigenerativa con villi ramificati – “a foglia”, in un caso l'atrofia è associata anche ad necrosi colliquativa-carioretica; iperplasia delle placche del PEYER in n=2 casi, in uno è lieve e l'unica alterazione presente nel campione, nel rimanente risulta associata a dilatazione dell'estremità luminale dei villi; quest'ultima alterazione si apprezza in altri n=4 casi di cui, in n=2, è l'unica alterazione, peraltro di lieve entità, che si osserva.

Infine, come alterazioni circolatorie, si apprezzano ectasia dei linfatici in n=3 casi; edema in n=2 e in altrettanti congestione vasale. Queste lesioni sono sempre associate a fenomeni infiammatori e risultano di lieve o modesta entità.

LINGUA

Presente in n=10 casi, in n=5 non rileva alcuna alterazione patologica.

Nei rimanenti casi le lesioni, se si esclude un campione che presenta emorragie di lieve entità, sono esclusivamente di tipo infiammatorio; esse comprendono: in n=3 casi richiamo di cellule leucocitarie di media elevata intensità, in caso associate a lieve vasculite granulocitaria; un caso presenta lieve vasculite linfocitaria, un altro lieve infiltrato linfocitario perivasale.

MILZA

Tale organo è stato campionato in n=11 casi e risulta quasi costantemente (n=10 campioni) interessato da alterazioni patologiche.

Lesioni infiammatorie sono riscontrabili in n=6 casi: infiltrato granulocitario eosinofilo di lieve-moderata entità in n=2 casi; infiltrato perivasale (linfoplasmacellulare n=1; infiltrato linfocitario n=1,

di grave entità, associato a richiamo leucocitario anch'esso intenso); richiamo di cellule leucocitarie (n=1) e marginazione granulocitaria (n=1)

Le lesioni di tipo regressivo/progressivo (non infiammatorio) si presentano in un tutti i casi valutati e sono così distribuite: in n=5 casi si apprezza iperplasia della polpa bianca di modesta entità, in n=1 caso associata a deplezione della polpa rossa; ed in un altro a iperplasia diffusa; iperplasia della travatura splenica (n=1 caso); ipertrofia e iperplasia dei megacariociti (n=1 caso); iperplasia dei noduli linfatici; ipoplasia della polpa bianca associata a deposizione di pigmento (n=1 caso); necrosi colliquativa carioretica (n=1 caso). da rilevare che i fenomeni iperplastici / trofici si associano solitamente ai fenomeni infiammatori.

Modesti disturbi di circolo (emorragia ed edema) si apprezzano in un solo caso.

MUSCOLO

Campionato in n=9 casi, solo in uno non presenta alcuna lesione.

Comuni i fenomeni infiammatori dei vasi, con vasculite linfocitaria di lieve entità in n=2 casi, in uno associata a manicotti perivascolari anch'essi lievi; questo aspetto si rileva in altri n=2 campioni; richiamo di cellule leucocitarie anche grave in n=2 casi in uno di questi associata a vasculite necrotizzante; infiltrato linfocitario in altri n=2 casi, in uno associato a manicotti perivascolari. I due campioni con vasculite presentano anche lieve emorragia perivasale.

PLACENTA

Campionata in n=5 casi, appare costantemente interessata da lesioni.

Le lesioni di tipo infiammatorio appaiono esclusivamente vascolari, si rileva infatti: richiamo di cellule leucocitarie di modesta-lieve entità in n=4 casi, in n=3 di questi associata a vasculite di pari gravità, nel rimanente caso il richiamo è associato ad infiltrato di cellule mononucleate perivasale; in un caso si rileva marginazione granulocitaria associata a vasculite necrotizzante.

In n=2 casi si osserva mineralizzazione placentare associata ad ipertrofia dei trofoblasti; in un caso la mineralizzazione non è associata ad altra lesione progressiva; in n=2 casi a ipertrofia trofoblastica (che perciò risulta presente in n=4 casi) si associa necrosi, in uno di questi casi si osserva anche metaplasia squamosa dell'epitelio trofoblastico.

Disturbi di circolo si rilevano in un solo caso con intensa emorragia diffusa.

POLMONE

Campionato in tutti i casi, non si osservano lesioni in 4 campioni.

Aspetti di richiamo leucocitario anche intensi si riscontrano in n=8 campioni, in n=2 casi associati ad infiltrato granulocitario, in uno a vasculite, che è presente, non associata ad altra lesione, anche in un altro caso; in un caso si rileva grave infiltrato granulocitario multifocale, in un altro l'infiltrato è altrettanto grave ma linfocitario.

In n=5 casi si rilevano quadri emorragici di lieve-media entità.

RENE

Campionato in tutti i casi, in 7 casi non si rilevano lesioni, in n=4 la scarsa qualità dei campioni non permette una corretta valutazione.

Nei rimanenti 4 casi si osservano lesioni eterogenee: infiltrato linfocitario perivasale; vasculite e grave emorragia perivasale, richiamo di cellule leucocitarie; infiltrato linfoplasmacellulare associato a richiamo leucocitario, steatosi macrovescicolare rigonfiamento torbido.

RUMINE

Campionato 9 volte, n=7 casi con lesioni lievi e n=2 privi di lesioni.

I quadri infiammatori più frequenti sono rappresentati da richiamo vasale di cellule leucocitarie (in n=4 casi) di lieve entità in due campioni associato a manicotti linfocitari perivascolari, in uno ad infiltrato linfocitario; un caso presenta infiltrato granulocitario diffuso associato a manicotti linfocitari; vasculite in un caso e diapedesi linfocitaria in un altro. Non si apprezzano altre lesioni.

TIMO

Il timo è stato campionato in n=10 casi, ed appare costantemente coinvolto da alterazioni patologiche.

In n=8 casi valutati si apprezzano infiltrati granulocitari eosinofili di vario tipo (diffuso, multifocale, perivasale) ed entità (da media a intensa), spesso (n=4 casi) associati a richiamo di cellule leucocitarie; in n=1 caso richiamo di cellule leucocitarie e in n=1 caso infiltrato granulocitario diffuso.

In n=5 casi si apprezza ipoplasia dei corpuscoli di HASSAL associata a: ipoplasia delle cellule mioidi (n=2 casi); ipoplasia della corticale (n=1 caso); ipoplasia della midollare (n=1 caso); questi fenomeni si associano sempre agli infiltrati eosinofili.

Altri aspetti patologici metabolici sono: iperplasia della corticale n=2 casi, di cui uno presenta anche ipertrofia vascolare; ipoplasia delle cellule mioidi (n=1 caso), ipoplasia midollare e acantolisi multifocale dei corpuscoli di HASSAL (n=1); n=1 caso ipertrofia dei corpuscoli di HASSAL; questi in due casi appaiono acantolitici, in associazione (n=1 caso) con iperplasia midollare.

Non si apprezzano quadri patologici circolatori.

DISCUSSIONE

4.1 OSSERVAZIONI SULLA CASISTICA RACCOLTA E SULLO STATO DI CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI RACCOLTI

4.1.1 Casi raccolti

4.1.2 Stato di conservazione dei campioni raccolti

4.2 OSSERVAZIONI EPIDEMIOLOGICHE

4.3 OSSERVAZIONI SUI QUADRI ISTOPATOLOGICI ED IMMUNOISTOCHEMICI RICONTRATI

4.3.1 Aborti di origine virale

4.3.1.1 Aborti dovuti ad infezione da BVDV

4.3.1.2 Aborti dovuti ad infezione da BHV-1

4.3.2 Aborti di origine batterica

4.3.3 Aborti di origine micotica

4.3.4 Ossalosi renale congenita

4.3.5 Aspetti istopatologici osservati in assenza di diagnosi precisa

4.1 OSSERVAZIONI SULLA CASISTICA RACCOLTA E SULLO STATO DI CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI RACCOLTI

4.1.1 Casi raccolti

Il numero di casi raccolti nella ricerca (n=53) risulta sensibilmente inferiore rispetto alla letteratura scientifica che riporta studi su fenomeni abortivi in cui la mediana statistica risulta essere pari a 628 casi per studio (con variazioni numeriche elevate andando da un massimo di 8995 valutati da Kirkbride, 1992a ad un minimo di 149 per Murray, 1990).

Questo può essere facilmente spiegato considerando la piccola area geografica coinvolta e l'interessamento, quali efferenti dei casi, di soli due buiatri.

Tuttavia la buona distribuzione dell'età dei feti e stagionale degli aborti rendono la casistica analizzata interessante e debitamente rappresentativa della realtà Friulana

Per quanto riguarda gli esami istopatologici, la tipologia del materiale patologico inviato al laboratorio risulta essere sovrapponibile a quella presente in altre ricerche sul fenomeno aborto (Campero et al., 2003; Kirkbride 1986 e 1992a).

Tuttavia in molti dei lavori consultati gli organi campionati per feto risultano numericamente inferiori rispetto a quelli qui valutati. In alcuni studi, si è optato per un protocollo investigativo che prevedeva l'invio al laboratorio di feti interi, con o senza placenta (Corbellini et al., 2006; Anderson et al., 1990). Nel presente lavoro, per questioni di praticità, questo è stato possibile solo in un numero ridotto di casi.

Distribuzione stagionale degli aborti

In accordo con la rilevazione di Alves et al. (1996), dall'analisi della casistica emerge un aumento dell'incidenza del fenomeno abortivo in primavera. Questa osservazione non viene condivisa da altri autori: Markusfeld-Nir (1996) in uno studio condotto in Israele ha rilevato frequenze maggiori di aborto durante la stagione tardo autunnale/primo invernale, mentre Jamuluddin et al. (1996) in uno studio condotto in California hanno rilevato una maggior incidenza in estate ed in inverno.

Considerato il numero limitato di campioni e il non sempre costante invio da parte dei veterinari efferenti di tutti i casi di aborto, il dato si può considerare privo di importanza per quanto riguarda le lesioni e gli agenti patogeni rilevati nel presente studio.

Periodo della gestazione

Dall'analisi della distribuzione temporale degli aborti (feti collezionati) durante la gravidanza, emerge una maggiore frequenza di campioni nel terzo trimestre. Lo stesso fenomeno è registrato da

Jamaluddin et al. (1996); gli autori citati ritengono che ciò sia da imputare al fatto che feti abortiti di grosse dimensioni sono più facilmente individuati e maggiormente campionati.

I risultati ottenuti nel presente studio ed illustrati nelle tabelle 3.7 e 3.8 permettono comunque alcune considerazioni. In termini eziologici nel primo trimestre le cause abortigene appaiono virali e micotiche; nel secondo prevalgono le infezioni batteriche (soprattutto in forma di polmonite) mentre nel terzo trimestre si ha il maggior numero di placentiti e complessi placentite - polmonite batteriche nonché il maggior numero di infezioni da BVDV.

Dimensioni della stalla

Dato significativo, infine, risulta la presenza rilevante di aborti provenienti da aziende di piccole e piccolissime dimensioni (meno di 100 capi allevati). Tale aspetto è difficilmente confrontabile con la letteratura scientifica poiché solo pochi autori riportano le dimensioni delle stalle da cui provengono gli aborti. La situazione rilevata nel presente studio rispecchia la realtà zootecnico-agricola del Friuli Venezia Giulia, dove, a stalle e possedimenti agricoli anche estesi, si associano molte realtà più piccole ed a gestione familiare, soprattutto nella zona nord-orientale (comunicazione personale del Dr. Cantarutti).

La distribuzione degli agenti patogeni, suddivisi in rapporto alle dimensioni dell'azienda in cui hanno causato aborto, permette alcune considerazioni. Come si può notare analizzando i dati presentati nelle tabelle 3.9 e 3.10, i batteri sono causa di aborto più frequentemente nelle stalle di piccolissime dimensioni (< 50 capi allevati), soprattutto come agenti responsabili di placentite e polmonite, mentre i virus dimostrano una minor relazione con la dimensione delle stalle: sono leggermente più frequenti nelle stalle più grandi e si distribuiscono in modo uniforme nelle restanti dimensioni di allevamento.

4.1.2 Stato di conservazione dei campioni raccolti

Il reperimento di autolisi in organi fetali abortiti è frequente per un ritardo dell'espulsione del feto ed è causato da enzimi endogeni ed eventualmente da infezioni batteriche secondarie (Miller et al. 1983b; Kirkbride, 1986; Otter, 1996). Si consideri poi che l'ambiente intrauterino in cui si trova il feto è particolarmente favorevole, per valori di temperatura ed umidità, perché questo avvenga.

La presenza di autolisi e lo stato di conservazione scadente rispetto a materiale biologico prelevato *ex-vivo*, si è rilevato anche nel presente studio, tuttavia in percentuale minore rispetto a quanto riferito da alcuni autori come Cavirani (2003), Kirkbride (1992) e Jamaluddin et al. (1996), peraltro gli unici a dare una stima del fenomeno nelle loro ricerche. Va osservato però che tali considerazioni vengono fatte, dagli autori citati, sulla base di osservazioni macroscopiche, piuttosto soggettive e

grossolane. Questo atteggiamento può essere considerato valido nei casi più gravi ed evidenti, mentre negli altri casi sarebbe opportuna un'analisi più accurata dei parametri qualitativi e conservativi del materiale raccolto. Così è stato fatto nel presente lavoro, eccettuato un caso (n° 10377) in cui la gravissima autolisi in cui versavano i feti abortiti, ha fatto giustamente desistere il veterinario efferente dal campionare gli organi.

La parametrizzazione dei valori di dettaglio nucleare e citoplasmatico, nonché quelli di completezza strutturale e percentuale di autolisi, ha permesso un'accurata analisi di questo fenomeno per quanto riguarda i campioni di organo pervenuti al laboratorio.

I dati sono riassunti nelle tabelle 3.5, per quanto riguarda le medie per singolo organo, e 3.6, per quanto concerne le medie dei singoli casi.

Gli organi con componente muscolare più abbondante presentano i valori di dettaglio nucleare e citoplasma migliori; ciò è facilmente spiegabile considerando che nelle cellule muscolari e connettivali si riscontra una prevalenza di fibre più difficili da lisare ed, in generale, una carenza di enzimi litici. Al contrario, particolarmente sensibili ai processi autolitici appaiono gli organi ricchi di cellule epiteliali ed ematiche.

Per quanto riguarda i singoli casi (tabella 3.6) lo stato di conservazione del materiale inviato al laboratorio non è correlato né al tempo intercorso fra aborto e fissazione né alla stagione in cui l'aborto ha avuto luogo (in estate i processi putrefattivi ed autolitici sono più celeri); infatti per tutti i valori sia di tempo intercorso fra aborto e fissazione che stagionale si hanno campioni con stati di conservazione molto eterogenei. Si rileva, invece, una debole correlazione lineare positiva ($R\ 0,48$ con $p < 0,05$ e $R\ 0,51$ con $p < 0,01$) tra il valore del dettaglio nucleare e il dettaglio citoplasmatico rispetto all'età del feto. Feti venuti a morte nei primi mesi di gravidanza mostrano parametri qualitativi peggiori. Questo fenomeno può trovare diverse spiegazioni: i tessuti fetali giovani presentano un contenuto d'acqua maggiore e pertanto risultano maggiormente aggredibili da agenti litici oppure, i feti più immaturi, abortiti precocemente subiscono un ritardo nell'espulsione che potrebbe essere responsabile dell'entità maggiore dei processi autolitici (Miller et al. 1983b).

Alla luce di queste considerazioni, quindi, è da ritenere che sul grado di conservazione dei tessuti fetali analizzati influisca maggiormente il tempo intercorso fra la morte del feto e la sua espulsione rispetto ad altri fattori; da questi parametri, quindi, si può stabilire, senza pretesa di precisione e a grandi linee, quanto tempo sia intercorso fra la morte fetale e l'aborto. Questo risulta utile, in alcuni casi, per la conferma dell'agente patogeno causa dell'aborto.

Emblematico a tal proposito il caso n° 10267 in cui la gravissima autolisi di tutti i tessuti fetali e i conseguenti pessimi valori di conservazione, ad eccezione della placenta, sono da imputare alla

placentite micotica; placentite che probabilmente ha portato a morte il feto molto presto ma, poiché lo sviluppo della patologia placentare è piuttosto lento, ha causato l'aborto in un secondo momento.

Nelle tabella 3.11 vengono riassunti i dati relativi al successo diagnostico in relazione alla qualità del dettaglio nucleare. Come facilmente si evince al migliorare della qualità dei casi aumenta la percentuale di successo diagnostico. Tale aspetto viene pienamente confermato anche da Cavarani (2003) e Jamaluddin et al. (1996).

4.2 OSSERVAZIONI EPIDEMIOLOGICHE SUL FENOMENO ABORTO

Per motivazioni di ordine tecnico e pragmatico, la diagnosi è stata espressa in base all'appartenenza della causa di aborto ad uno o più dei grandi gruppi di agenti abortigeni considerati nell'introduzione (virus; batteri; miceti; parassiti; cause non infettive).

Le motivazioni di ordine tecnico includono la scarsa praticità e dispendiosità (sia di tempo che economica) dell'utilizzo della metodica immunoistochimica come tecnica di scelta per la precisa identificazione di agenti patogeni all'interno di un gruppo molto numeroso ed eterogeneo come quello degli agenti possibili causa di aborto. Si è perciò proceduto ad analisi immunoistochimiche nel caso di agenti altrimenti non visibili (virus) e per alcuni agenti (*Neospora caninum* e *Listeria monocytogenes*) considerati comuni.

Le motivazioni di ordine pragmatico derivano dalla considerazione che l'identificazione precisa dell'agente patogeno causa dell'aborto ha un'utilità prettamente accademica ed epidemiologica. Molto più importante, soprattutto nell'ottica di prevenzione e/o gestione sanitaria del problema aborto, risulta dividere gli agenti patogeni per tipologia in base alle metodiche preventive o curative che questa comporta (Murray, 2006). In caso di aborto virale, si deve considerare come misura sanitaria principale la vaccinazione profilattica (Pospíšil et al. 1996; Cavarani, 2003; Laven et al., 2005) o l'uso di immunostimolatori (Castrucci et al., 2000); in caso di aborto batterico appare più efficace il migliorare le condizioni igieniche di stalla o quando possibile (come nel caso di *Leptospira* o *Salmonella* spp.) vaccinare o valutare l'utilizzo di terapie antibiotiche profilattiche (Kirkbride, 1992; Ellis, 1994); in caso di aborto micotico oltre al miglioramento delle condizioni igieniche è importante il monitoraggio della qualità dell'alimento; in caso di aborto parassitario può essere opportuno vagliare l'opportunità di escludere dalla mandria degli animali infestati (Anderson et al., 1994).

Nelle seguenti tabelle (tabelle 4.1; 4.2; 4.3) vengono riassunti i dati epidemiologici ottenuti dall'analisi di 20 studi sul fenomeno aborto. I lavori scientifici si sono svolti in un periodo temporale compreso fra il 1968 e il 2006, sono stati effettuati da 14 autori gruppi scientifici diversi che hanno operato in 10 nazioni rappresentanti tutti i continenti abitati (AR Argentina; AU Australia; BR Brasile; CA Canada; KR Corea del sud; DEN Danimarca; ITA Italia; N.Z. Nuova Zelanda; UK Gran Bretagna; USA Stati Uniti d'America).

I dati esposti sono stati ordinati per: anno di pubblicazione del lavoro scientifico (tabella 4.1); percentuale di diagnosi ottenute (tabella 4.2); percentuale di campioni che presentano lesioni istopatologiche ma a cui non è stato possibile dare una risposta diagnostica (tabella 4.3).

In totale le ricerche hanno interessato n=30823 feti abortiti, ottenendo una diagnosi in n=9653 di essi pari al 31,3% dei casi, tali valori non comprendono i dati ottenuti dal presente studio e la ricerca di Anderson et al. (1990) meglio approfondita in seguito (Anderson et al., 1991).

Ad un primo sguardo, dalle tabelle emerge come la percentuale di successo diagnostico tenda ad aumentare nel corso degli anni. Questo può essere spiegato sicuramente con il miglioramento e affinamento delle metodiche investigative ma anche con l'introduzione, nei processi diagnostici, della ricerca con metodiche dirette od indirette del protozoo *Neospora caninum* (Jamaluddin et al., 1996). Tale patogeno, a partire dalla prima evidenza di un suo coinvolgimento nella patogenesi abortiva (Thilsted et Dubey 1989), ha assunto sempre maggior importanza nella diagnosi del fenomeno aborto. Ciò è ben evidente nella tabella 4.1 in cui, a partire dal 1990 (Anderson et al. 1991), tutti gli studi che riportano nello specifico le cause di aborto, mostrano una costante ed importante presenza di aborti dovuti a cause parassitarie.

Questo è confermato anche da altri studi, non riportati in tabella (secondo Thobokwe, 2004 la percentuale di aborti imputabile a *Neospora caninum* è pari al 35% dei casi, in Nuova Zelanda).

Un'ulteriore considerazione deriva dal notare, più agevolmente in tabella 4.3, come a percentuali di successo diagnostico elevate corrisponda solitamente anche una maggiore presenza di casi che presentano lesioni ma per cui non è stato possibile emettere una diagnosi.

L'unica apparente eccezione risulta in Anderson et al. 1990 (in prima colonna); è interessante rilevare, che, come precedentemente accennato, con un ulteriormente approfondimento, lo stesso studio (Anderson et al. 1991) si riallinea con le constatazioni appena fatte.

Alla luce di questa considerazione si può ragionevolmente ritenere come ad una maggior accuratezza ed attenzione rivolti all'esame istopatologico tenda a corrispondere un maggior successo diagnostico.

Per quanto riguarda la percentuale di aborti imputabili alle diverse classi di patogeni, si può rilevare una notevole eterogeneità nei vari studi che può presumibilmente essere imputata al periodo in cui la ricerca è stata compiuta; all'area geografica interessata ed alle metodiche impiegate nella ricerca. Nella tabella 4.4 viene riportato il numero di volte in cui ciascuna causa di aborto si ritrova al primo, secondo, terzo, quarto o quinto posto come agente abortigeno.

Tabella 4.4: i valori sono calcolati sui dati presenti in tabella 4.1, eccettuati i dati del presente studio e quelli presenti in Murray (1990) e Anderson et al. (1990). Le posizioni degli agenti indicati con * si riferiscono agli studi in cui tali agenti vengono espressi (n=13 studi).

ALTRO= cause non infettive

	1°	2°	3°	4°	5°
VIRUS	1	5	6	4	2
BATTERI	12	4	1	1	0
MICETI*	1	2	5	4	5
PARASSITI*	4	5	2	2	0
ALTRO*	0	2	4	5	2

Considerando tale tabella risulta chiaro che i batteri sono di gran lunga (12 volte su 18) la prima causa di aborto; per quanto riguarda virus, miceti, parassiti e le cause non infettive il quadro si fa più confuso. Per miglior chiarezza si può considerare la tabella 4.5 in cui dove sono riportate le percentuali medie ponderate di frequenza di una causa eziologica.

Tabella 4.5 La tabella è stata ottenuta con i dati presenti nella tabella 4.1 eccettuati: il presente studio e il lavoro di Murray (1990). Lo studio di Kirkbride (1992), poiché utilizza dati rilevati dal 1980 al 1990, è stato valutato nella serie di dati dal 1973-1990. I dati presenti in Anderson et al. (1990) sono stati utilizzati solo nella serie di dati dal 1973 al 1990, mentre lo stesso studio approfondito nel 1991 è stato inserito sia per il calcolo dei valori totali che in quello dei dati 1990-2006

	totali (1973-2006)		totali (1973-1990)		totali (1991-2006)	
		% (1973-2006)		% (1973-1990)		% (1991-2006)
TOTALE CASI	30674		15725		15417	
TOTALE DIAGNOSTICATI	9602	31,3	5345	34,0	4395	28,5
VIRUS	2330	7,6	1713	10,9	643	4,2
BATTERI	4118	13,4	2261	14,4	1933	12,5
MICETI	1108	3,6	849	5,4	264	1,7
PARASSITI	1142	3,7	20	0,1	1137	7,4
ALTRO	850	2,8	507	3,2	359	2,3
LESIONI	2325	7,6	1687	10,7	753	4,9

Da tale tabella emerge che effettivamente i batteri si possono considerare la più comune causa di aborto. In un quadro globale a tali patogeni fanno seguito, per frequenza, i virus, poi, con una percentuale molto simile, i parassiti e i miceti ed, infine, le cause non infettive. Gli studi più recenti (anni 1990-2006), tuttavia, mettono al secondo posto i parassiti (*Neospora caninum*), seguiti dai virus, cause di aborto non infettive e, infine, i miceti.

I dati ottenuti dal presente lavoro rilevano il seguente ordine: batteri, virus, miceti, cause non infettive; tale quadro, pertanto, trova alcune corrispondenze con quanto sopra enunciato.

AUTORE	ITA	MURRAY	CORBELLINI et al.	KHODAKARAM et IKEDE	McEWEN et CARMAN	YAMINI et al.	CAMPERO et al.	KIM et al.	CAVIRANI	THORNTON	JAMALUDDIN et al.	ANGERHOLM	THORNTON	KIRKBRIDE	ANDERSON et al.	ANDERSON et al.	MURRAY	KIRKBRIDE	JERRET et al.	KIRKBRIDE	KIRKBRIDE et al.
NAZIONE	ITA	UK	BR	CA	CA	USA	AR	KR	ITA	N.Z.	USA	DEM	N.Z.	USA	USA	USA	UK	USA	AU	USA	USA
ANNO PUBBLICAZIONE		2006	2006	2005	2004	2004	2003	2002	1999	1996	1996	1995	1992	1992 a	1991	1990	1990	1985	1984	1978	1973
ANNO INIZIO STUDIO	2003	???	2001	1990	1998	1983	1994	1999	1995	1995	1987	1986	1991	1980	1985	1985	1984	1982	1981	1973	1968
ANNO FINE STUDIO	2006	???	2003	2001	2004	2001	2000	2000	1999	1996	1989	1993	1992	1990	1989	1989	1986	1983	1982	1976	1972
DURATA IN ANNI	3	???	2	11	6	18	6	1	4	1	2	7	1	10	4	4	2	1	1	3	4
CAMPIONI	53	5662	161	234	1698	1618	354	180	473	628	595	2445	901	8995	468	468	149	953	265	2500	2544
DIAGNOSTICATI	25	1048	83	96	730	592	161	98	180	160	254	641	139	2942	213	138	51	304	98	964	899
% DIAGNOSTICATI	47,2	18,5	51,6	41,0	43,0	36,6	45,5	54,4	38,1	25,5	42,7	26,2	15,4	32,7	45,5	29,5	34,2	31,9	37,0	38,6	35,3
NO DIAGNOSI MA LESIONI	15	???	13	17	281	157	101	???	???	???	69	???	???	1554	115	190	???	???	18	???	???
% NO DIAGNOSI MA LESIONI	28,3	0,0	8,1	7,3	16,5	9,7	28,5	0,0	0,0	0,0	11,6	0,0	0,0	17,3	24,6	40,6	0,0	0,0	6,8	0,0	0,0
DA VIRUS	9	50	3	14	115	77	15	28	29	6	19	259	2	948	26	26	???	94	5	233	407
% SU TOTALE	17,0	0,9	1,9	6,0	6,8	4,8	4,2	15,6	6,1	1,0	3,2	10,6	0,2	10,5	5,6	5,6	0,0	9,9	1,9	9,3	16,0
% SU DIAGNOSTICATI	36,0	4,8	3,6	14,6	15,8	13,0	9,3	28,6	16,1	3,8	7,5	40,4	1,4	32,2	12,2	18,8	0,0	30,9	5,1	24,2	45,3
DA BATTERI	13	451	34	57	344	265	122	13	117	18	107	301	28	1299	76	76	???	150	66	407	263
% DA BATTERI SU TOTALE	24,5	8,0	21,1	24,4	20,3	16,4	34,5	7,2	24,7	2,9	18,0	12,3	3,1	14,4	16,2	16,2	0,0	15,7	24,9	16,3	10,3
% SU DIAGNOSTICATI	52,0	43,0	41,0	59,4	47,1	44,8	75,8	13,3	65,0	11,3	42,1	47,0	20,1	44,2	35,7	55,1	0,0	49,3	67,3	42,2	29,3
DA MICETI	2	54	5	16	55	38	1	0	12	14	8	*	56	476	5	5	???	41	27	210	90
% SU TOTALE	3,8	1,0	3,1	6,8	3,2	2,3	0,3	0,0	2,5	2,2	1,3	*	6,2	5,3	1,1	1,1	0,0	4,3	10,2	8,4	3,5
% SU DIAGNOSTICATI	8,0	5,2	6,0	16,7	7,5	6,4	0,6	0,0	6,7	8,8	3,1	*	40,3	16,2	2,3	3,6	0,0	13,5	27,6	21,8	10,0
DA PARASSITI	0	367	43	5	232	55	26	38	19	122	87	0	53	0	90	15	???	0	5	0	0
% SU TOTALE	0,0	6,5	26,7	2,1	13,7	3,4	7,3	21,1	4,0	19,4	14,6	0,0	5,9	0,0	19,2	3,2	0,0	0,0	1,9	0,0	0,0
% SU DIAGNOSTICATI	0,0	35,0	51,8	5,2	31,8	9,3	16,1	38,8	10,6	76,3	34,3	0,0	38,1	0,0	42,3	10,9	0,0	0,0	5,1	0,0	0,0
ALTRO	1	126	4	4	0	115	39	22	0	???	33	???	???	219	16	16	???	19	???	114	139
% SU TOTALE	1,9	2,2	2,5	1,7	0,0	7,1	11,0	12,2	0,0	0,0	5,5	0,0	0,0	2,4	3,4	3,4	0,0	2,0	0,0	4,6	5,5
% SU DIAGNOSTICATI	4,0	12,0	4,8	4,2	0,0	19,4	24,2	22,4	0,0	0,0	13,0	0,0	0,0	7,4	7,5	11,6	0,0	6,3	0,0	11,8	15,5

Tabella 4.1: vengono riepilogati i risultati ottenuti da 14 autori dal 1973 al 2006. Nella prima colonna, evidenziati, i dati del presente studio.

I lavori sono ordinati in ordine temporale dal più recente al più vecchio.

??? = il dato non è riportato. * = dato accomunato con quello dei batteri. ALTRO = cause di aborto non infettive.

AUTORE	KIM et al.	CORBELLINI et al.	ITA	CAMPERO et al.	ANDERSON et al.	McEWEN et CARMAN	JAMALUDDIN et al.	KHODAKARAM et IKEDE	KIRKBRIDE	CAVIRANI	JERRET et al.	YAMINI et al.	KIRKBRIDE et al.	MURRAY	KIRKBRIDE	KIRKBRIDE	ANDERSON et al.	ANGERHOLM	THORNTON	MURRAY	THORNTON
NAZIONE	KR	BR	ITA	AR	USA	CA	USA	CA	USA	ITA	AU	USA	USA	UK	USA	USA	USA	DEM	N.Z.	UK	N.Z.
ANNO PUBBLICAZIONE	2002	2006		2003	1991	2004	1996	2005	1978	1999	1984	2004	1973	1990	1992a	1985	1990	1995	1996	2006	1992
ANNO INIZIO STUDIO	1999	2001	2003	1994	1985	1998	1987	1990	1973	1995	1981	1983	1968	1984	1980	1982	1985	1986	1995	???	1991
ANNO FINE STUDIO	2000	2003	2006	2000	1989	2004	1989	2001	1976	1999	1982	2001	1972	1986	1990	1983	1989	1993	1996	???	1992
DURATA IN ANNI	1	2	3	6	4	6	2	11	3	4	1	18	4	2	10	1	4	7	1	???	1
CAMPIONI	180	161	53	354	468	1698	595	234	2500	473	265	1618	2544	149	8995	953	468	2445	628	5662	901
DIAGNOSTICATI	98	83	25	161	213	730	254	96	964	180	98	592	899	51	2942	304	138	641	160	1048	139
% DIAGNOSTICATI	54,4	51,6	47,2	45,5	45,5	43,0	42,7	41,0	38,6	38,1	37,0	36,6	35,3	34,2	32,7	31,9	29,5	26,2	25,5	18,5	15,4
NO DIAGNOSI MA LESIONI	???	13	15	101	115	281	69	17	???	???	18	157	???	???	1554	???	190	???	???	???	???
% NO DIAGNOSI MA LESIONI	0,0	8,1	28,3	28,5	24,6	16,5	11,6	7,3	0,0	0,0	6,8	9,7	0,0	0,0	17,3	0,0	40,6	0,0	0,0	0,0	0,0
DA VIRUS	28	3	9	15	26	115	19	14	233	29	5	77	407	???	948	94	26	259	6	50	2
% SU TOTALE	15,6	1,9	17,0	4,2	5,6	6,8	3,2	6,0	9,3	6,1	1,9	4,8	16,0	0,0	10,5	9,9	5,6	10,6	1,0	0,9	0,2
% SU DIAGNOSTICATI	28,6	3,6	36,0	9,3	12,2	15,8	7,5	14,6	24,2	16,1	5,1	13,0	45,3	0,0	32,2	30,9	18,8	40,4	3,8	4,8	1,4
DA BATTERI	13	34	13	122	76	344	107	57	407	117	66	265	263	???	1299	150	76	301	18	451	28
% DA BATTERI SU TOTALE	7,2	21,1	24,5	34,5	16,2	20,3	18,0	24,4	16,3	24,7	24,9	16,4	10,3	0,0	14,4	15,7	16,2	12,3	2,9	8,0	3,1
% SU DIAGNOSTICATI	13,3	41,0	52,0	75,8	35,7	47,1	42,1	59,4	42,2	65,0	67,3	44,8	29,3	0,0	44,2	49,3	55,1	47,0	11,3	43,0	20,1
DA MICETI	0	5	2	1	5	55	8	16	210	12	27	38	90	???	476	41	5	*	14	54	56
% SU TOTALE	0,0	3,1	3,8	0,3	1,1	3,2	1,3	6,8	8,4	2,5	10,2	2,3	3,5	0,0	5,3	4,3	1,1	*	2,2	1,0	6,2
% SU DIAGNOSTICATI	0,0	6,0	8,0	0,6	2,3	7,5	3,1	16,7	21,8	6,7	27,6	6,4	10,0	0,0	16,2	13,5	3,6	*	8,8	5,2	40,3
DA PARASSITI	38	43	0	26	90	232	87	5	0	19	5	55	0	???	0	0	15	0	122	367	53
% SU TOTALE	21,1	26,7	0,0	7,3	19,2	13,7	14,6	2,1	0,0	4,0	1,9	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	19,4	6,5	5,9
% SU DIAGNOSTICATI	38,8	51,8	0,0	16,1	42,3	31,8	34,3	5,2	0,0	10,6	5,1	9,3	0,0	0,0	0,0	0,0	10,9	0,0	76,3	35,0	38,1
ALTRO	22	4	1	39	16	0	33	4	114	0	???	115	139	???	219	19	16	???	???	126	???
% SU TOTALE	12,2	2,5	1,9	11,0	3,4	0,0	5,5	1,7	4,6	0,0	0,0	7,1	5,5	0,0	2,4	2,0	3,4	0,0	0,0	2,2	0,0
% SU DIAGNOSTICATI	22,4	4,8	4,0	24,2	7,5	0,0	13,0	4,2	11,8	0,0	0,0	19,4	15,5	0,0	7,4	6,3	11,6	0,0	0,0	12,0	0,0

Tabella 4.2: vengono riepilogati i risultati ottenuti da 14 autori dal 1973 al 2006. Nella terza colonna, evidenziati, i dati del presente studio.

I lavori sono ordinati in ordine alla percentuale di diagnosi, in ordine decrescente.

??? = il dato non è riportato. * = dato accomunato con quello dei batteri. ALTRO = cause di aborto non infettive.

AUTORE	ANDERSON et al.	CAMPERO et al.	ITA	ANDERSON et al.	KIRKBRIDE	McEWEN et CARMAN	JAMALUDDIN et al.	YAMINI et al.	CORBELLINI et al.	KHODAKARAM et IKEDE	JERRET et al.	CAVIRANI	THORNTON	KIRKBRIDE et al.	KIM et al.	THORNTON	ANGERHOLM	MURRAY	MURRAY	KIRKBRIDE	KIRKBRIDE
NAZIONE	USA	AR	ITA	USA	USA	CA	USA	USA	BR	CA	AU	ITA	N.Z.	USA	KR	N.Z.	DEM	UK	UK	USA	USA
ANNO PUBBLICAZIONE	1990	2003		1991	1992a	2004	1996	2004	2006	2005	1984	1999	1992	1973	2002	1996	1995	1990	2006	1985	1978
ANNO INIZIO STUDIO	1985	1994	2003	1985	1980	1998	1987	1983	2001	1990	1981	1995	1991	1968	1999	1995	1986	1984	???	1982	1973
ANNO FINE STUDIO	1989	2000	2006	1989	1990	2004	1989	2001	2003	2001	1982	1999	1992	1972	2000	1996	1993	1986	???	1983	1976
DURATA IN ANNI	4	6	3	4	10	6	2	18	2	11	1	4	1	4	1	1	7	2	???	1	3
CAMPIONI	468	354	53	468	8995	1698	595	1618	161	234	265	473	901	2544	180	628	2445	149	5662	953	2500
DIAGNOSTICATI	138	161	25	213	2942	730	254	592	83	96	98	180	139	899	98	160	641	51	1048	304	964
% DIAGNOSTICATI	29,5	45,5	47,2	45,5	32,7	43,0	42,7	36,6	51,6	41,0	37,0	38,1	15,4	35,3	54,4	25,5	26,2	34,2	18,5	31,9	38,6
NO DIAGNOSI MA LESIONI	190	101	15	115	1554	281	69	157	13	17	18	???	???	???	???	???	???	???	???	???	???
% NO DIAGNOSI MA LESIONI	40,6	28,5	28,3	24,6	17,3	16,5	11,6	9,7	8,1	7,3	6,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DA VIRUS	26	15	9	26	948	115	19	77	3	14	5	29	2	407	28	6	259	???	50	94	233
% SU TOTALE	5,6	4,2	17,0	5,6	10,5	6,8	3,2	4,8	1,9	6,0	1,9	6,1	0,2	16,0	15,6	1,0	10,6	0,0	0,9	9,9	9,3
% SU DIAGNOSTICATI	18,8	9,3	36,0	12,2	32,2	15,8	7,5	13,0	3,6	14,6	5,1	16,1	1,4	45,3	28,6	3,8	40,4	0,0	4,8	30,9	24,2
DA BATTERI	76	122	13	76	1299	344	107	265	34	57	66	117	28	263	13	18	301	???	451	150	407
% DA BATTERI SU TOTALE	16,2	34,5	24,5	16,2	14,4	20,3	18,0	16,4	21,1	24,4	24,9	24,7	3,1	10,3	7,2	2,9	12,3	0,0	8,0	15,7	16,3
% SU DIAGNOSTICATI	55,1	75,8	52,0	35,7	44,2	47,1	42,1	44,8	41,0	59,4	67,3	65,0	20,1	29,3	13,3	11,3	47,0	0,0	43,0	49,3	42,2
DA MICETI	5	1	2	5	476	55	8	38	5	16	27	12	56	90	0	14	*	???	54	41	210
% SU TOTALE	1,1	0,3	3,8	1,1	5,3	3,2	1,3	2,3	3,1	6,8	10,2	2,5	6,2	3,5	0,0	2,2	*	0,0	1,0	4,3	8,4
% SU DIAGNOSTICATI	3,6	0,6	8,0	2,3	16,2	7,5	3,1	6,4	6,0	16,7	27,6	6,7	40,3	10,0	0,0	8,8	*	0,0	5,2	13,5	21,8
DA PARASSITI	15	26	0	90	0	232	87	55	43	5	5	19	53	0	38	122	0	???	367	0	0
% SU TOTALE	3,2	7,3	0,0	19,2	0,0	13,7	14,6	3,4	26,7	2,1	1,9	4,0	5,9	0,0	21,1	19,4	0,0	0,0	6,5	0,0	0,0
% SU DIAGNOSTICATI	10,9	16,1	0,0	42,3	0,0	31,8	34,3	9,3	51,8	5,2	5,1	10,6	38,1	0,0	38,8	76,3	0,0	0,0	35,0	0,0	0,0
ALTRO	16	39	1	16	219	0	33	115	4	4	???	0	???	139	22	???	???	???	126	19	114
% SU TOTALE	3,4	11,0	1,9	3,4	2,4	0,0	5,5	7,1	2,5	1,7	0,0	0,0	0,0	5,5	12,2	0,0	0,0	0,0	2,2	2,0	4,6
% SU DIAGNOSTICATI	11,6	24,2	4,0	7,5	7,4	0,0	13,0	19,4	4,8	4,2	0,0	0,0	0,0	15,5	22,4	0,0	0,0	0,0	12,0	6,3	11,8

Tabella 4.3: vengono riepilogati i risultati ottenuti da 14 autori dal 1973 al 2006. Nella terza colonna, evidenziati, i dati del presente studio.

I lavori sono ordinati in ordine alla percentuale di casi che, pur presentando lesioni, non hanno diagnosi, in ordine decrescente.

??? = il dato non è riportato. * = dato accomunato con quello dei batteri. ALTRO = cause di aborto non infettive.

4.3 OSSERVAZIONI SUI QUADRI ISTOPATOLOGICI ED IMMUNOISTOCHEMICI RISCONTRATI

4.3.1 Aborti di origine virale

Come si può rilevare dalle tabelle riassuntive 4.1; 4.2 e 4.3, la percentuale di aborti per causa virale non supera il 16% secondo Kirkbride (1973), con una notevole riduzione (percentuali di molto inferiori al 10%) negli ultimi anni. Tale riduzione, secondo Barr et Anderson (1993), è molto probabilmente imputabile ai piani vaccinali intrapresi in molti Stati contro i più comuni virus bovini.

L'attuazione di tali piani vaccinali avviene in minor misura nelle stalle del Friuli Venezia Giulia interessate dal presente studio ed infatti la percentuale di aborti attribuibile ad un intervento virale è risultata del 17% (n=9 casi su n=53 valutati, considerando anche i due casi di infezione mista).

Nel presente lavoro il virus maggiormente coinvolto risulta essere BVDV, seppur di misura, in linea con quanto osservato da Campero et al. (2003) e Corbellini et al. (2006). Altri lavori scientifici, tuttavia, indicano BHV-1 come il virus maggiormente coinvolto (Kirkbride 1992, 1985, 1978 e 1973; McEwen et Carman, 2004); o, all'opposto, una netta prevalenza di BVDV (Anderson et al., 1990, Angerholm, 1995). Queste differenze sono probabilmente in parte da imputarsi, come detto, ai piani vaccinali e alle condizioni epidemiologiche delle aree interessate dagli studi (Barr et Anderson 1993).

4.3.1.1 Aborti dovuti ad infezione da BVDV

I risultati istopatologici relativi ai campioni d'organo infettati da BVDV sono in buona parte compatibili con quelli presenti in letteratura, soprattutto per quanto riguarda gli organi emolinfopoietici (Done et al., 1980; Marshall et al 1996; Baule et al., 2001; Grooms 2006;) e la placenta, quando presente (Murray, 1991). Alcuni autori hanno osservato lesioni al SNC (Done et al., 1980; Roeder et al. 1986; Sprecher et al., 1991) che in questo studio non si sono apprezzate.

Nei lavori reperibili in letteratura si fa poco o nullo riferimento ai quadri istopatologici rilevati nell'apparato gastrointestinale. In particolare la presenza di evidenti stati di alterazione morfologica dei villi registrata nello studio, viene raramente segnalata da altri autori, forse in relazione alla provenienza dei campioni. Infatti, gli studi con descrizione degli aspetti istopatologici riguardano in massima parte campioni ottenuti da animali adulti, in cui il virus porta a lesioni di tipo emorragico, necrotico o necrotico/ulcerativo a seconda del ceppo virale (Marcato 2002), mentre non si trovano descrizioni istopatologiche esaustive in casi di feti abortiti.

Per quanto riguarda i risultati osservati utilizzando la metodica immunohistochemica, le positività descritte nel presente lavoro sono reperimento comune anche in bibliografia. Tuttavia è interessante notare come da autore ad autore, oltre ai risultati qui descritti, si aggiungano siti di positività

differenti, quali: le cellule endoteliali e della tonaca muscolare dei vasi (Haines et al., 1992, Fredriksen et al., 1999a, 1999b), i neuroni (Fernandez et al., 1989), gli epatociti (Aly et al., 2003), i trofoblasti (Blaszler et al., 1995) e i glomeruli renali (Shin e Acland, 2001). Inoltre vi sono discordanze interpretative su quale sia la popolazione cellulare dell'infiltrato ad esprimere la positività (Fredriksen et al., 1999a). Queste differenze possono trovare diverse spiegazioni: metodiche di fissazione e immunoistochimiche non omogenee e tipo di anticorpo utilizzato. un'ulteriore fattore di variabilità è molto probabilmente alle condizioni di infezione. In taluni casi “sperimentali” e perciò note e standardizzabili, in altri, come il presente, di “campo” in cui, come si è detto molti fattori influenti sull'espressività antigenica (ceppo virale, carica virale, tempi di campionatura e fissazione) non erano controllabili.

Grooms et Bolin (2005) riferiscono che l'aborto causato da BVDV sia particolarmente difficile da stabilire e che il virus, pur in presenza di lesioni, non è facilmente rilevabile sia che si utilizzino l'isolamento virale che le metodiche immunoistochimiche. I due autori asseriscono che buoni risultati si possano avere se dalla stessa stalla provengono più feti. Questo è in parte confermato nel presente studio in cui dei 5 casi di aborto attribuito a BVDV, due provengono dalla stessa azienda (n° 9965 e 9964) e uno (n° 10090) da una stalla in cui sono occorsi altri due aborti di cui uno (n° 9019) presenta lesioni compatibili con l'infezione virale e il rimanente infezione batterica (n° 9051).

Infine, è da rilevare che molti autori riferiscono che è frequente la presenza di BVDV ed altri agenti patogeni nello stesso aborto (Kirkbride, 1985 e 1992b; Pritchard et al., 1989; Haines et al. 2004; Grooms, 2006), nel presente studio questo è accaduto solo in corso di infezione da BHV-1, mentre nei casi in cui l'immunoistochimica ha dimostrato la presenza di BVDV non si sono rilevati altri patogeni.

4.3.1.2 Aborti dovuti ad infezione da BHV-1

Il presente studio ha rilevato BHV-1 in n=4 casi, in n=2 dei quali alla presenza del virus si associavano altri patogeni.

Si sono osservate lesioni rilevanti quasi esclusivamente nei campioni placentari mentre assai meno coinvolti risultano gli altri organi. E' da rilevare, tuttavia, che di quattro casi uno presentava grave autolisi e un altro non comprendeva altri organi oltre la placenta.

Le lesioni placentari corrispondono con quanto osservato da Ayers et al. (1989), Kirkbride (1992) e Smith (1997), i quali confermano anche l'individuazione tramite metodiche di isolamento e immunoistochimiche del virus partendo da campioni di placenta. Tuttavia, questi ed altri autori (Barr et BonDurant 1997; DelPiero 2003) segnalano come molto comune lesioni necrotiche multifocali in vari organi e specialmente nel fegato, tanto che alcuni le ritengono patognomiche della presenza del

virus.

Nel presente studio tali aspetti si rilevano solo nel fegato di un caso (n° 10143), che corrisponde, tuttavia, al 50% dei campioni di fegato valutabili, infatti per un caso non è stato possibile campionare il fegato (n° 9645) mentre in un altro (n° 10036) l'autolisi era tale da non permettere alcuna valutazione. È da rilevare che il rilievo di grave autolisi diffusa degli organi fetali è, secondo (Smith, 1997) comune negli aborti causati da BHV-1 e sarebbe da correlarsi alla tardiva espulsione del feto. In questi casi l'importanza della placenta quale organo di elezione per la ricerca del virus viene rimarcata (Kirkbride 1992; Barr et Anderson, 1993).

Le positività immunoistochimiche sono rilevabili negli organi coinvolti dalle lesioni, come detto la maggior parte delle volte fegato e placenta, tuttavia anche nel rene, solitamente non interessato da lesioni istopatologiche apprezzabili, si possono localizzare antigeni virali nei tubuli renali. Questo aspetto trova conferma nei risultati ottenuti, poiché, in un caso tale quadro veniva osservato (peraltro nel campione renale del caso in cui il fegato non mostrava positività).

La possibilità di lesioni e riscontri immunoistochimici nel polmone fetale è stata segnalata da diversi autori (Smith, 1989; Murray, 1990; Kirkbride, 1992; Aly et al 2003) che, tuttavia, non ritengono questo organo fondamentale per la ricerca del virus, come invece avviene negli animali adulti (Miller et Van der Maaten, 1989; Winkler et al., 1995; Mutoloki et al., 2002); in questo lavoro i polmoni esaminati (n=2) non facevano apprezzare nessuna reazione immunoistochimica positiva e lesioni istopatologiche venivano osservate solo nel caso (n°=9366) che mostrava polmonite batterica.

4.3.2 Aborti di origine batterica

Nel presente studio l'analisi istopatologica ha rilevato la presenza di batteri associati a lesioni ad essi ascrivibili in n=13 casi pari al 25% dei casi valutati (n=53) e al 52% dei casi diagnosticati (n=25). I batteri risultano quindi la prima causa di aborto, evento in linea, come già detto nel paragrafo 4.3.1 (discussione sui risultati epidemiologici), con i risultati della maggior parte delle ricerche su feti bovini abortiti.

La diagnosi eziologica è stata perlopiù possibile (n=9) grazie all'osservazione di ammassi batterici nella placenta, mentre in un minor numero di casi (n=4) mediante la rilevazione di batteri in sede polmonare.

Secondo la letteratura sulla materia il coinvolgimento della placenta in corso di aborto batterico è frequentissimo mentre si ritiene che il polmone venga infettato in un secondo momento. Questo avverrebbe per passaggio dei batteri dalla placenta al sangue fetale e quindi al polmone o per aspirazione di amnios contaminato (Miller et al. 1983; Kirkbride, 1992).

Come accennato nell'introduzione moltissime specie batteriche sono in grado, una volta colonizzata la placenta, di dare luogo ad una infezione che può esitare in aborto.

L'infezione placentare avviene nella maggior parte dei casi per via diretta (Miller et Barnum; 1983), l'infezione indiretta per via ematogena è più rara e si verifica perlopiù in presenza di patogeni quali *Leptospira* spp. (Ellis, 1994); *Coxiella Burnetii* (Andreani et al. 1994) e *Listeria Monocytogenes* (Kirkbride, 1993).

Per alcune specie batteriche, in bibliografia si possono reperire descrizioni dettagliate dei quadri lesivi sia negli studi epidemiologici generali sull'aborto bovino (Kirkbride, 1993; Barr et Anderson, 1993; Cavirani, 2003) sia in studi limitati ad un specifico patogeno compiuti su uno o pochi feti abortiti (Schiefer et al. 1974; van Dreumel et Kierstead, 1975; Schuh , 1985; Kirkbride, 1989; Ward, 1990; Alexander et al., 1992; Welsh et Stair, 1993; Miller et al., 1994; Otter, 1996, Cox et al. 1998; Kraipowich et al. 2000; Campero et al. 2005). I quadri istopatologici riscontrati nel presente studio sono riconducibili a quanto riportato in tali lavori, soprattutto per quanto riguarda le lesioni placentari e gli aspetti polmonari. Secondo Johnson et al. (1994) le lesioni placentari non sono, tuttavia, patognomoniche di infezione batterica, in quanto comuni e parzialmente sovrapponibili a quelle causate da altri agenti patogeni in grado di infettare la placenta. Tale aspetto è stato rilevato anche nel presente studio in corso di infezione da BHV-1 e micosi.

Nelle placentiti batteriche è rilevante, ovviamente, la presenza di batteri a cui si associno reazioni infiammatorie di diversa gravità ed eventuali fenomeni di fagocitosi; criterio peraltro utilizzato nella ricerca per discriminare tale eziologia coerentemente alla indicazioni di Kirkbride (1993) e Johnson et

al. (1994).

A proposito degli aspetti istopatologici del polmone non deve meravigliare il fatto che, pur con la presenza di colonie batteriche intrabronchiolari o alveolari, la reazione infiammatoria sia modesta o addirittura nulla; tale quadro viene più volte segnalato per vari agenti batterici causa di aborto (Kirkbride, 1993; del Piero, 2003) e troverebbe diverse possibili spiegazioni. Tra le ipotesi: l'imaturità del sistema immunitario (soprattutto se l'infezione avviene nel primo periodo della gravidanza); l'evoluzione acuta o iperacuta dell'infezione; la colonizzazione indiretta (metastatica) del polmone con quadri più intensi a livello placentare.

Esula dagli scopi di questo studio individuare esattamente la specie batterica coinvolta nell'aborto, considerando che anche i batteri più comuni (*Escherichia coli*, *Streptococcus* spp ed altri contaminanti ambientali) come dimostrano Kirkbride (1993), BonDurant (1999) e molti degli autori citati nella tabella 4.1, sono in grado di infettare il feto e la placenta.

Ciò nonostante, seguendo quanto riportato da Marco et al. (1988) e Campero et al. (2002), tutti i campioni d'organo in cui si apprezzava la presenza di batteri sono stati sottoposti a prova immunoistochimica per la ricerca di *Listeria monocytogenes*. Questa analisi non ha fornito comunque alcuna positività, risultato compatibile con l'esiguo numero di campioni valutati.

La stessa motivazione si può addurre per l'assenza di lesioni placentari attribuibili a *Coxiella burnetii*, la cui presenza in Italia in corso di aborto è stata recentemente segnalata (Parisi et al., 2006). Il sospetto di infezione da *Coxiella burnetii* viene considerato di fronte al rilievo di quadri di aspecifici di placentite in cui però risalta il rigonfiamento del citoplasma dei trofoblasti (al cui interno il patogeno si duplica) (Bildfell et al., 2000), rilievo che può essere poi confermato con metodica immunoistochimica (Baumgärtner et al., 1988).

Infine è da segnalare l'esiguità della frequenza e della gravità delle lesioni renali che permettono di escludere la presenza di *Leptospira* spp., infezione batterica solitamente correlata a quadri di nefrite interstiziale tanto nel bovino adulto (Sağlam et al., 2003) quanto nel feto (Ellis, 1994). Anche per tale patogeno la valutazione immunoistochimica è documentata (Yener et Keles, 2004).

4.3.3 Aborti di origine micotica

Nel presente studio ife fungine sono state rilevate a livello placentare in n=3 casi (6% sul totale), tuttavia solo in n=2 casi (4% dei casi valutati) la diagnosi è stata di aborto micotico in quanto in un caso alla presenza di ife si associava anche la presenza di batteri nel polmone e positività al virus della rinotracheite infettiva bovina (BHV-1).

L'aborto micotico è ben descritto nella letteratura scientifica sull'argomento aborto e viene chiamato

in causa nella maggior parte degli studi epidemiologici consultati.

Gli agenti micotici coinvolti sono molteplici tuttavia si ritiene che la maggior parte degli aborti sia attribuibile alla specie *Aspergillus* (in particolare *A. fumigatus*) (Hill et al., 1971; Knudtson et Kirkbride; 1992).

Le percentuali di coinvolgimento di miceti nella patogenesi abortiva variano a seconda dei diversi autori e studi, raggiungendo valori anche notevoli; Hill et al. (1971) riportano percentuali di aborto attribuibili a micosi fino al 19,4%; in uno studio compiuto in Australia; Jerret et al. (1984) hanno valutato micosi come causa di aborto nel 10,2% dei casi; mentre studi più recenti (McEwen et Carman, 2004; Yamini et al., 2004; Khodakaram et Ikede, 2005; Murray, 2006; Corbellini et al., 2006) riportano percentuali più basse e simili a quella riportata nel presente studio.

Poiché è accertato che l'infezione micotica giunge alla placenta per via ematica (Hillman et McEntee 1968) e che la madre possa infettarsi o per via gastroenterica a causa di alimentazione con foraggi o insilati di scarsa qualità o per via respiratoria in condizioni igieniche scarse (Hill et al., 1971), è molto probabile che il miglioramento delle condizioni igieniche e della preparazione dei foraggi abbia diminuito la possibilità di contagio all'interno delle moderne stalle.

Le lesioni associate alla micosi ricalcano perfettamente quanto descritto in letteratura (Carter et al., 1973; Neilan et al., 1982; Knudtson et Kirkbride, 1992; Johnson et al., 1994) ovvero: placentite più o meno grave, con evidente necrosi, picnosi dei trofoblasti e, ovviamente, presenza di ife fungine alla colorazione GMS.

Alcune autori riferiscono anche la presenza di ife sulla cute (ben visibile anche macroscopicamente, per la presenza di placche cutanee inspessite giallo-grigiastre) in circa un caso su tre di placentite micotica (Kirkbride 1986; Walker 1997) e, più raramente, nei polmoni e nell'encefalo (Neilan et al. 1982; Knudtson et Kirkbride, 1992). Questi quadri non sono stati osservati. Tuttavia è da notare che secondo questi autori l'aborto micotico avviene solitamente nel terzo trimestre di gravidanza. Ciò è vero solo per uno dei casi qui esaminati (n° 9366), che peraltro risulta essere il campione che presenta infezione multipla e per cui si considera l'infezione fungina secondaria.

I rimanenti due casi corrispondono ad aborti avvenuti al 3° (n° 9961-2) e al 5° mese (n° 10267) di gravidanza. Nel primo a livello polmonare ed encefalico si riscontrano fenomeni necrotici, mentre nel secondo la grave autolisi che coinvolge tutti i tessuti campionati non permette alcuna valutazione istologica.

La tipizzazione dei miceti coinvolti non ha avuto luogo, tuttavia, date le caratteristiche delle ife e alla frequenza di isolamento in corso di aborto bovino, si può ragionevolmente pensare al probabile coinvolgimento di *Aspergillus fumigatus*.

Da segnalare, infine, che, come riferiscono Foley e Schlafer (1987), l'aborto micotico può essere causato anche da funghi della specie *Candida*. Gli autori citati riferiscono che i quadri istopatologici a livello placentare non differiscono da quanto descritto precedentemente, mentre è molto più comune il reperimento di elementi fungini in altri organi. Inoltre la specie *Candida* non dà luogo alla formazione di ife bensì di piccoli elementi fungini che possono essere ben evidenziati dalla colorazione GMS frammenti a detriti necrotici e/o all'interno dei trofoblasti e cellule dell'infiltrato (il cui citoplasma appare rigonfio anche ad una prima osservazione microscopica).

4.3.4 Ossalosi renale congenita

Come riportato nelle schede analitiche dei singoli casi, nei campioni di rene di due casi analizzati (n° 9050 e 10314), pari al 4,2% dei campioni di rene (n=47) valutati, si apprezzava la presenza di cristalli radiali, birifrangenti in luce polarizzata e positivi alla colorazione di PIZZOLATO.

Tali cristalli, pertanto, risultano essere formati da precipitati di ossalato di calcio.

In uno dei due casi (n° 9050) tale aspetto non era associato ad altra possibile causa di aborto, mentre il secondo (N° 10314) presentava anche placentite e polmonite batterica.

Il reperto di cristalli di ossalato di calcio nei reni di feti abortiti, e il possibile coinvolgimento di quadri riferibili a ossalosi renale in corso di aborto bovino trovano scarsissimo riscontro nella bibliografia consultata.

Negli studi epidemiologici reperiti solo Yamini et al (2004) riportano che nello 0,74% (n=12) della casistica totale (n=1618) l'aborto poteva essere attribuito a ossalosi renale congenita. Percentuale molto più elevate vengono riportate da Schiefer et Moffatt (1974). I due autori, in uno studio condotto su n=545 campioni di rene provenienti da n=1509 casi di aborto bovino, hanno verificato la presenza di cristalli di ossalato nel 47,2% dei campioni totali (n=257), e nel 53,3% (n=175) dei casi in cui una diagnosi non era stata emessa e tale reperto non era associato ad alcuna altra causa di aborto (n=328). Secondo i due autori i cristalli di ossalato originerebbero da cause endogene (disturbi genetici) o da cause esogene (deficienze/eccessi alimentari; farmaci; tossici; ingestione di particolari piante da parte della madre). Tali cause vengono riportate anche da Gülbahar et al. (2002) in uno studio su un caso di ossalosi renale in un vitello venuto a morte poche ore dopo la nascita. In un altro lavoro Moffatt (1974) rileva la forte associazione fra ossalati a livello renale e quadri di epatopatia in corso di sospetto aborto enzootico bovino (EBA), segnalando come l'ossalosi renale possa predisporre il feto a possibili disturbi di circolo o malformazioni vascolari.

Tutti gli autori citati concordano sul fatto che l'ossalosi renale abbia un ruolo importante come causa diretta o indiretta (predisponendo il soggetto ad altre patologie) in corso di aborto o patologie post-

natali.

Quadri istopatologici a livello renale associati alla presenza di ossalati vengono descritti solo da Schiefer et Moffatt (1974) e concordano in massima parte anche con quanto rilevato nel presente studio.

4.3.5 Aspetti istopatologici osservati in assenza di diagnosi precisa

Nel presente lavoro il 28,3% dei casi (n=15) rileva presenza di lesioni a cui non è stato possibile associare una possibile causa. Come già accennato tale situazione è presente e comune anche in altri studi sullo stesso argomento. Nella maggior parte degli articoli, che a tali studi si riferiscono, tuttavia, tali quadri istopatologici non vengono descritti e la percentuale di casi presentanti lesioni ma a cui non è stato possibile emettere una diagnosi viene definita molto spesso come: “aborti di origine infettiva non determinata” o “cause non determinate: riscontro di lesioni suggestive di malattia infettiva”.

Fanno eccezione Kirkbride (1992) e Anderson et al. (1990) che elencano sommariamente tutte le lesioni istopatologiche riscontrate in casi rimasti indagnosticati.

È interessante notare come gli autori citati concordino nell'osservare molto frequentemente lesioni di tipo infiammatorio a livello encefalico, cardiaco (talvolta associati alla presenza di cisti non meglio identificate) e, in minor misura, epatico.

Approfondendo questi aspetti gli stessi Anderson et al. in uno studio successivo (1991) hanno potuto aumentare il successo diagnostico del lavoro precedente ed associare gli aspetti istopatologici, prima non spiegabili, all'infestazione da *Neospora caninum*; questo è stato ottenuto col miglioramento della metodica ipotizzando le lesioni prima riportate caratteristiche di *Neospora caninum*, un protozoo appena scoperto essere causa di aborto (Barr et al., 1990; Dubey et Lindsay, 1994) e includendo tale patogeno nella ricerca immunostochimica.

Le lesioni provocate da *Neospora caninum* sono ora ben descritte nella letteratura scientifica (Barr et al., 1990; Wouda et al. 1997; Schock et al., 2000; Bergeron et al., 2001; Dubey et al., 2002; Moore et al., 2003b; Edelhofer et al., 2003) e comprendono, fondamentalmente, encefalite focale non suppurativa associata a miocardite.

Anche i metodi diagnostici vengono ben analizzati nella letteratura consultata (Lindsay et Dubey, 1989; Wounda et al., 1998; Sager et al., 2001; Jenkins et al., 2002; Pereira-bueno et al., 2003; van Maanen et al., 2004), in cui tutte le maggiori metodiche vengono descritte ponendo maggior risalto alle tecniche istopatologiche ed immunostochimiche.

Da rilevare che il metodo retrospettivo impiegato da Anderson et al. (1991) anticipa quanto riportato

da Borger et Hattel (2003), ovvero che un'ulteriore indagine per la ricerca di *Neospora caninum* possa avere esiti positivi in aborti bovini altrimenti indagnosticati.

Nel presente studio lesioni istopatologiche o positività immunoistochimiche attribuibili a *Neospora caninum* non sono state rilevate, mentre i quadri istopatologici non associati ad alcuna causa evidente, presenti sono per la maggior parte di tipo infiammatorio diffusi a vari organi (specialmente: cuore; encefalo; milza; placenta; timo); di tipo regressivo/progressivo soprattutto e molto intensamente a livello splenico e timico; alterazioni morfologiche nei villi nell'intestino tenue.

Per quanto appena enunciato i dati riscontrati nel presente studio possono ritenersi in linea con quanto riportato in letteratura sulle lesioni istopatologiche in corso di aborto bovino indagnosticato.

Le lesioni che si riscontrano non permettono alcuna ipotesi sulla possibile causa; per questo caso altre metodiche investigative (sierologia *in primis*) o un miglioramento di quelle impiegate (ampliamento del numero di anticorpi da utilizzare nella prova immunoistochimica) potrebbero forse dare qualche elemento diagnostico in più.

In ogni caso, sul significato ed importanza diagnostica e patologica di alcune lesioni vi sono pareri discordanti. Per alcuni autori non tutte le lesioni riscontrate hanno valore diagnostico. Secondo Thurmond et al. (1999), ad esempio, il riscontro di lesioni e positività immunoistochimiche per *Neospora Caninum* hanno statisticamente poco valore diagnostico se non associate ad altri parametri quali: gravità del danno tissutale; età del feto ed altri fattori di rischio. A conferma di questa tesi si possono citare anche Miller et Quinn (1975) che hanno rilevato lesioni istopatologiche in n=12 (su un totale di n=50) feti prelevati al macello e, quindi, non abortiti. I due autori riferiscono una sostanziale similitudine dei quadri istopatologici dei feti non abortiti con quelli che si apprezzavano in n=24 feti abortiti (su un totale di n=50) inclusi anch'essi nello stesso studio.

Questo aspetto tuttavia non è condiviso da Okanol et al. (2003) che in uno studio su 17 feti non abortiti e 93 feti abortiti hanno riscontrato lesioni solo nei secondi, soprattutto di tipo infiammatorio (gliosi encefalica; infiltrati di cellule mononucleari in vari organi, ma specialmente fegato e polmoni), senza però dare indicazioni di tipo diagnostico.

PARTE 5

CONCLUSIONI

Le lesioni istopatologiche e i rilievi immunoistochimici rilevati nel presente studio in corso di aborto bovino appaiono coerenti con quelli riportati in letteratura dagli altri autori e si dimostrano originali in termini di completezza, dettaglio ed organizzazione.

La valutazione parametrizzata dei dettagli qualitativi, l'analisi istopatologica parametrizzata e dettagliata di tutti gli organi campionati e l'impiego di un database informatico per la gestione dei dati così ottenuti, giustificano l'originalità dei risultati.

Tale impostazione ha permesso una valutazione oggettiva e pratica dei preparati istologici.

Una volta messa a punto la metodica il tempo richiesto per la valutazione è risultato accettabile: l'analisi dettagliata e parametrizzata di un intero caso mediamente ha richiesto meno di un'ora. L'utilizzo dell'informatica ha di molto facilitato le operazioni di registrazione e valutazioni delle lesioni.

La parametrizzazione di tutti i valori ha permesso una oggettiva e rapida comparazione fra gli aspetti patologicamente significativi e quelli trascurabili, rendendo l'analisi dei singoli organi più coerente; anche in questo caso l'informatizzazione dello studio è risultata fondamentale.

Il numero limitato di ore di formazioni dedicate ad istruire al campionamento i veterinari efferenti ha determinato si correla all'ampia varietà di tessuti inviati al laboratorio (si veda a proposito la tabella di 3.4), di cui molti non sono risultati significativi per il rilievo di lesioni istopatologiche.

Per quanto attiene l'aspetto meramente diagnostico della ricerca, in linea con le considerazioni di altri autori, alcuni punti basilari per un incremento significativo nella diagnosi dell'aborto bovino vengono anche qui riconosciuti.

Il valore diagnostico della placenta appare evidente dall'alta percentuale di successo diagnostico nei casi che contemplavano tale organo. Anche nei due casi in cui la placenta era l'unico organo presente si è potuto dare, seppur di massima e senza la pretesa di certezza, un'indicazione diagnostica.

L'invio del feto intero anziché campioni d'organo risulta preferibile. Per il veterinario di campo è solitamente difficile fare un prelievo completo ed accurato di tutti gli organi richiesti, procedura molto più snella in una struttura organizzata quale un laboratorio di anatomia patologica. È da segnalare che nei n=6 feti interi inviati (su n=53 casi), la diagnosi è stata possibile in n=5 di essi.

L'aborto sporadico rimane difficile da interpretare, anche utilizzando tutte le metodiche disponibili. I migliori risultati si ottengono con l'invio dalla stessa stalla di più feti; in questo modo è molto probabile riuscire a dare un'indicazione diagnostica “di stalla” alla cui luce si possono interpretare anche eventuali risultati dubbi o non significativi di altri aborti.

Gli organi in cui maggiormente si sono rilevate alterazioni patologiche significative o all'esame

istopatologico o immunostochimico sono risultati, oltre che la placenta: timo; polmone; fegato; milza; intestino tenue e crasso. Tuttavia, considerato quanto riportato dalla letteratura consultata in relazioni alle cause di aborto, appaiono parimenti importante il campionamento di: cuore ed encefalo (per la diagnosi di *Neospora caninum*); rene (per la diagnosi di *Leptospira* spp.).

Da un punto di vista prettamente epidemiologico, i dati rilevati non si scostano di molto da quelli presenti in letteratura. I batteri, soprattutto da quelli di probabile origine ambientale, sono la principale causa di aborto, seguiti dai virus e miceti. Tuttavia l'elemento forse più significativo è la totale mancanza di lesioni istopatologiche e rilievi immunostochimici attribuibili alla presenza di *Neospora caninum* protozoo che, come discusso, è indicato da moltissimi autori di diversi paesi come principale causa di aborto. Seppur nel nord Italia la positività segnalata per *Neospora caninum* sia piuttosto alta (Hemphills et Gottstein, 2000; Magnino et al., 2001; Duvia 2002); il metodo impiegato, sierologia, potrebbe sovrastimare la presenza di *Neospora* come causa diretta di aborto; in questo caso, quindi, il feto non rilevarebbe all'istologia lesioni compatibili col patogeno, pur avendo risultati sierologici positivi. Bisogna, tuttavia, anche valutare la possibilità che l'esiguità del numero di casi valutati in questo studio non abbia permesso di riscontrare casi attribuibili a questo patogeno. Altra ipotesi potrebbe chiamare in causa le piccole dimensioni e la tipologia degli allevamenti qui valutati. Poiché si ritiene che la trasmissione di *Neospora caninum* avvenga per la maggior parte per via verticale (Buxton et al., 2002; Dubey et Dubey, 2003) e poi per trasmissione da ospiti definitivi (cane) al bovino, è meno probabile che tale agente sia presente in aziende di piccole dimensioni, in cui la rimonta interna è la maggior fonte di ricambio aziendale e, pertanto, il rischio di introdurre animali infestati risulta piuttosto basso.

In ultima analisi il presente studio ha dato una risposta diagnostica nel 47% dei casi, valore che è da ritenersi più che soddisfacente, collocandosi fra i risultati dei migliori studi epidemiologici presenti in letteratura.

Pertanto si può affermare che l'utilizzo dell'istopatologia associata all'immunostochimica è di sicuro ausilio nella ricerca diagnostica in corso di aborto bovino e solo raramente non riporta risultati degni di nota.

Risulta l'unica metodica applicabile per stabilire una netta associazione fra la presenza di un determinato patogeno e lesioni ad esso attribuibili e, quindi, il suo reale ruolo nella patogenesi dell'evento abortivo; inoltre, risulta fondamentale per rilevare alcune alterazioni di tipo non infettivo, come l'ossalosi renale congenita, in alcun modo altrimenti rilevabili.

L'ampliamento del pannello di anticorpi primari, da utilizzare nella tecnica immunoistochimica, potrà affinare la diagnosi rendendola più specifica, soprattutto in corso di aborto batterico, così come l'incremento della casistica permetterà un ulteriore miglioramento e validazione dei risultati fin qui ottenuti.

TAVOLE FOTOGRAFICHE

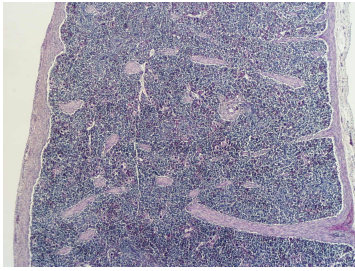


Foto 1 BVD milza EE piccolo ingrandimento: ipoplasia dei noduli linfatici

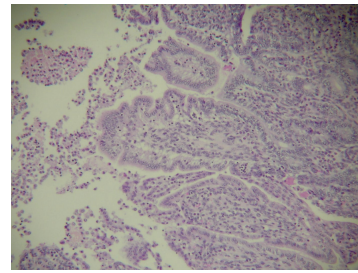


Foto 2 BVD intestino tenue EE medio ingrandimento: anomalie morfologiche dei villi

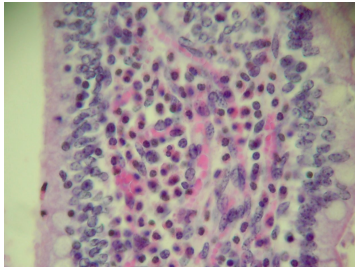


Foto 3 BVD intestino tenue EE forte ingrandimento: infiltrato granulocitario eosinofilo vi

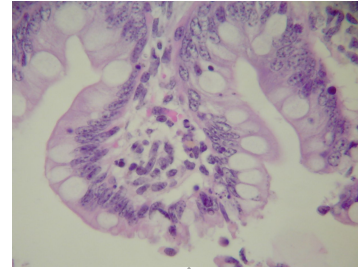


Foto 4 BVD intestino crasso EE forte ingrandimento: enterite catarrale

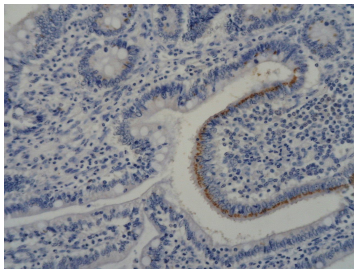


Foto 5 BVD intestino tenue IHC piccolo ingrandimento

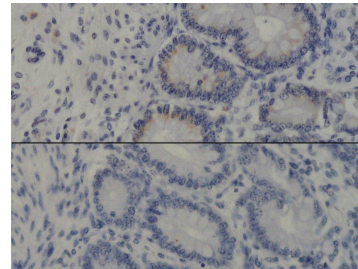


Foto 6 intestino crasso IHC medio ingrandimento

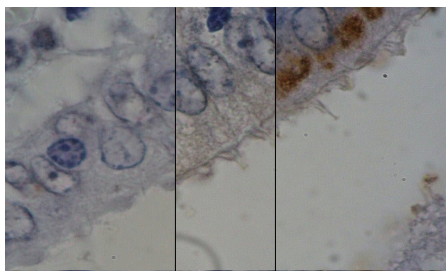


Foto 7 BVD intestino tenue IHC forte ingrandimento a DX omissione Ab primario, al centro Ab anti BHV1

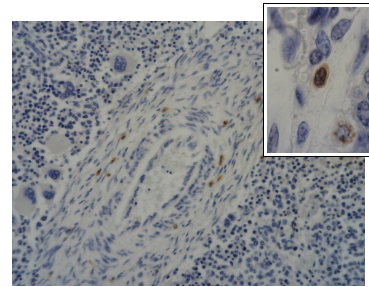


Foto 8 BVD milza IHC medio e forte (riquadro) ingrandimento

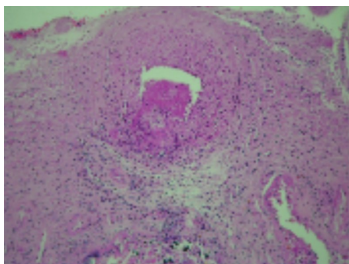


Foto 9 BHV1 placenta EE piccolo ingrandimento: vasculite necrotizzante

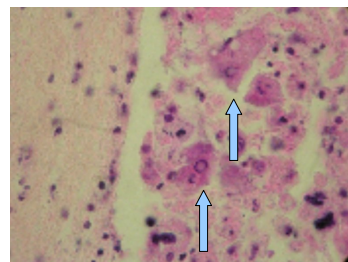


Foto 10 BHV1 placenta EE forte ingrandimento: inclusi intranucleari (frecce)

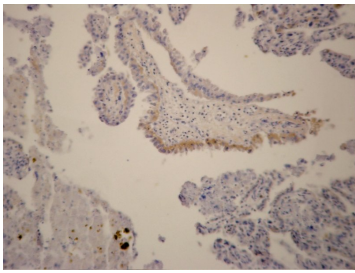


Foto 11 BHV1 placenta IHC piccolo ingrandimento

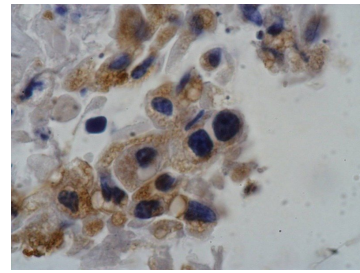


Foto 12 BHV1 placenta IHC forte ingrandimento

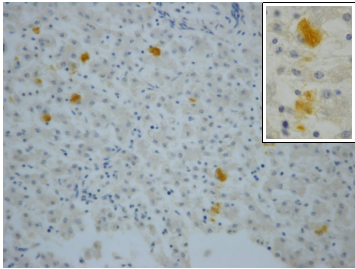


Foto 13 BHV1 fegato IHC medio e forte (riquadro) ingrandimento

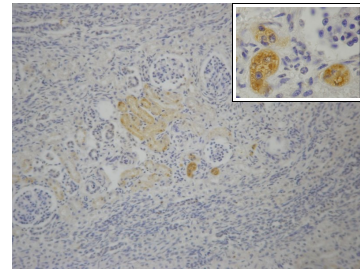


Foto 14 BHV1 rene IHC medio e forte (riquadro) ingrandimento

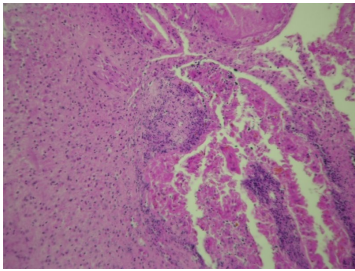


Foto 15 BATTERI placenta EE piccolo ingrandimento: necrosi dell'epitelio trofoblastico

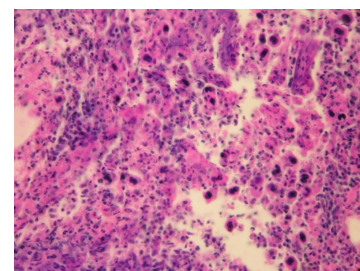


Foto 16 BATTERI placenta EE medio ingrandimento: iperplasia dei trofoblasti

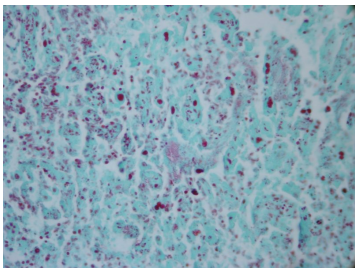


Foto 17 BATTERI placenta GRAM piccolo ingrandimento: batteri Gram-negativi

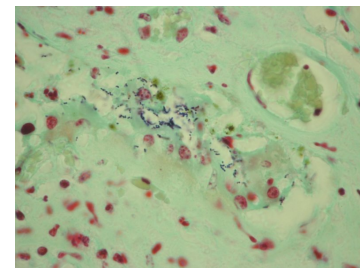


Foto 18 BATTERI placenta GRAM forte ingrandimento: batteri Gram-positivi

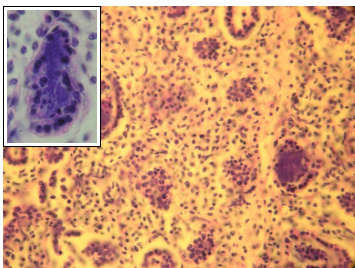


Foto 19 BATTERI polmone EE piccolo e forte (riquadro) ingrandimento: colonie batteriche

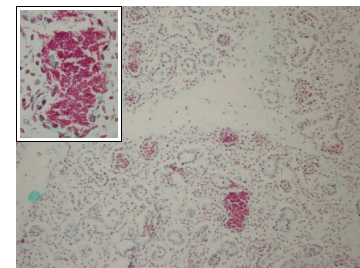


Foto 20 BATTERI polmone GRAM piccolo e forte (riquadro) ingrandimento colonie batteriche Gram-negative (stesso caso di foto 19)

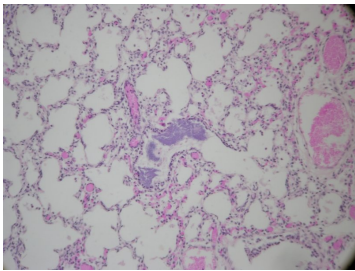


Foto 21 BATTERI polmone EE medio ingrandimento. enfisema e colonie batteriche (al centro)

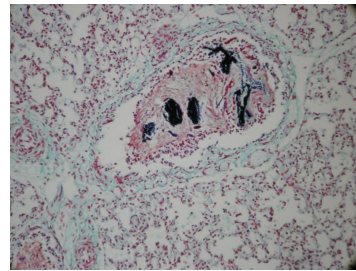


Foto 22 BATTERI polmone GRAM forte ingrandimento. colonie batteriche Gram-positive intrabronchiolari (stesso caso di foto 21)

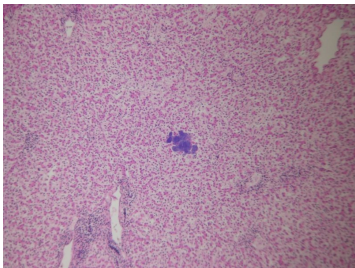


Foto 23 BATTERI fegato EE piccolo ingrandimento al centro: focolaio batterico

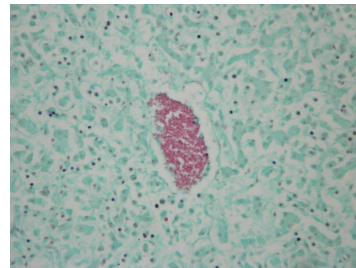


Foto 24 BATTERI fegato GRAM medio ingrandimento: (stesso focolaio di foto 23)

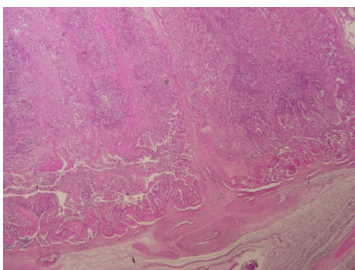


Foto 25 MICOSI placenta EE piccolo ingrandimento: grave necrosi tissutale

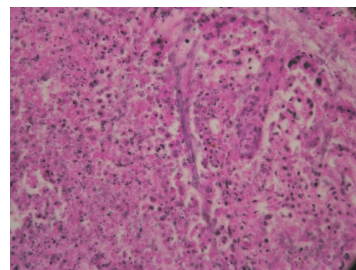


Foto 26 MICOSI placenta EE forte ingrandimento: ifa fungina

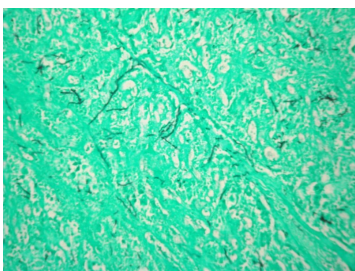


Foto 17 MICOSI placenta GMS piccolo ingrandimento: ife fungine

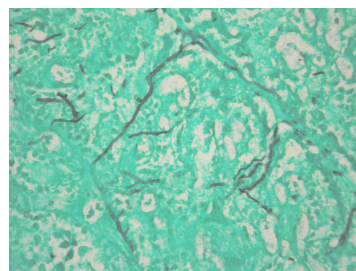


Foto 18 MICOSI placenta GMS forte ingrandimento: ife fungine

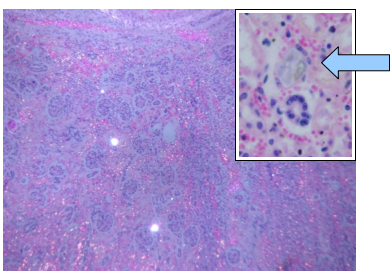


Foto 29 OSSALOSI rene EE piccolo ingrandimento luce polarizzata (punti incolore = cristalli birifrangenti) e EE forte ingrandimento (riquadro: al centro un cristallo)

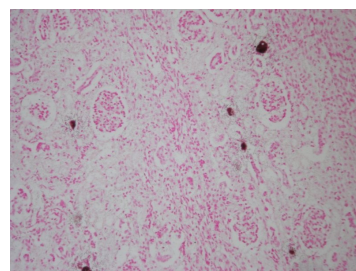


Foto 30 OSSALOSI rene PIZZOLATO: reazione positiva alla colorazione

BIBLIOGRAFIA

- B. **Abbitt**, 1997. Protozoal abortion in cattle. in Current therapy in R. S. Youngquist: "Large animal theriogenology" pagg. 383-385 W. B. Saunders Philadelphia 1997
- J. S. **Agerholm**; H. V. Krogh; H. E. Jensen, 1995. A retrospective study of bovine abortions associated with *Bacillus licheniformis*. Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of veterinary medicine. Series B. 42 (49): 225-234
- A. V. **Alexander**; R. L. Walker; B. J. Johnson; B. R. Charlton; L. W. Woods, 1992. Bovine abortions attributable to *Listeria ivanovii*: four cases (1988-1990). J Am Vet Med Assoc 200 (5): 711-714
- D. **Alves**; B. McEwen; M. Hazlett; G. Maxie; N. Anderson, 1996. Trends in bovine abortions submitted to the Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 1993-1995. Can Vet J 37 (5): 587-588
- N. M. **Aly**; G. G. Shehab; I. H. Abd el-Rahim, 2003. Bovine viral diarrhoea, bovine herpesvirus and parainfluenza-3 virus infection in three cattle herds in Egypt in 2000. Rev Sci Tech 22 (3): 879-892
- M. L. **Anderson**; P. C. Blanchard; B. C. Barr; R. L. Hoffman 1990. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. J Vet Diagn Invest 2 (4): 283-287
- M. L. **Anderson**; P. C. Blanchard; B. C. Barr; J. P. Dubey; R. L. Hoffman; P. A. Conrad, 1991. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. J Am Vet Med Assoc 198 (2): 241-244
- M. L. **Anderson**; B. C. Barr; P. A. Conrad, 1994. Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. Vet Clin North Am Food Anim Pract 10 (3): 439-461
- E. **Andreabi**; R. Nuvoloni; D. Cerri, 1994. La febbre Q dei ruminanti. La situazione epidemiologica italiana. Obiettivi Veterinari 7/8: 23-26
- R. **Atxaerandio**; G. Aduriz; I. Ziluaga; J. I. Esteban; L. Maranda; R. C. Mainar-Jaime, 2005 Serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava infection and its association with abortions in cattle in northern Spain. Vet Rec 156 (12): 376-80
- V. K. **Ayers**; J. K. Collins; C. D. Blair; B. J. Beaty, 1989. Use of in situ hybridization with a biotinylated probe for the detection of bovine herpesvirus-1 in aborted fetal tissue. J Vet Diagn Invest 1 (3): 231-236
- B. C **Barr**; M. L. Anderson; P. C. Blanchard; B.M. Daft; H. Kinde; P. A. Conrad, 1990. Bovine Fetal Encephalitis and Myocarditis Associated With Protozoal Infections. Vet Pathol 27 (5): 354-361
- B. C. **Barr**; M. L. Anderson, 1993. Infectious diseases causing bovine abortion and fetal loss. Vet Clin North Am Food Anim Pract 9 (2): 343-68
- B. C. **Barr**; R. H. BonDurant, 1997. Viral diseases of the fetus in R. S. Youngquist: "Current therapy in large animal theriogenology" pagg. 373-382 W. B. Saunders Philadelphia: 1997
- T. V. **Baszler**; J. F. Evermann; P. S. Kaylor; T. C. Byington; P. M. Dilbeck, 1995. Diagnosis of naturally occurring bovine viral diarrhoea virus infections in ruminants using monoclonal antibody-based immunohistochemistry. Vet pathol 3 (6): 609-618
- C. **Baule**; G. Kulcsár; K. Belák; M. Albert; C. Mittelholzer; T. Soós; L. Kucsera; S. Belák, 2001. Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhoea virus type I. J Clin Microbiol 39 (1): 146-53

- W. **Baumgärtner**; H. Dettinger; N. Schmeer; E. Hoffmeister, 1988. Evaluation of different fixatives and treatments for immunohistochemical demonstration of *Coxiella burnetii* in paraffin-embedded tissues. *J Clin Microbiol* 26 (10): 2044-2047
- W. **Baumgärtner**; S. Bachmann, 1992. Histological and immunocytochemical characterization of *Coxiella burnetii*-associated lesions in the murine uterus and placenta. *Infect Immun* 60 (12): 5232-5241
- G. **Belletti**; B. Biolatti; F. Guarda; E. Bollo; S. Appino, 1996. Aborti. In G. Sali "Manuale di teriogenologia bovina" pagg. 321-336 Edagricole - Edizioni Agricole della Calderini.srl Bologna 1996
- C. **Benazzi**; P. S. Marcato, 2002. Sistema genitale femminile. In P.S. Marcato: "Patologia Sistematica Veterinaria" pagg. 1030-1043 Ed. Agricole de il Sole24 ORE Edagricole S.r.l Bologna. 2002
- N. **Bergeron**; C. Girard; J. Paré; G. Fecteau; J. Robinson; P. Baillargeon, 2001. Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves. *J Vet Diagn Invest* 13 (2): 173-175
- R. J. **Bildfell**; G. W. Thomson; D. M. Haines; B. J. McEwen; N. Smart, 2000. *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. *J Vet Diagn Invest* 12 (5): 419-425
- B. **Biolatti**; S. Pau, 1996. Patologia embrionaria e fetale. Aborti In F. Guarda; G. Mandelli: "Trattato di anatomia patologica veterinaria". pagg. 561-581 Unione Tipografica-editrice torinese Torino 1996
- N. **Biuk-Rudan**; S. Cvetnić; J. Madić; D. Rudan, 1999. Prevalence of antibodies to IBR and BVD viruses in dairy cows with reproductive disorders. *Theriogenology* 51 (5): 875-881
- L. A. **Boger**; A. L. Hattel, 2003. Additional evaluation of undiagnosed bovine abortion cases may reveal fetal neosporosis. *Vet Parasitol* 113 (1): 1-6
- R. H. **BonDurant**, 1999. Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J Anim Sci* 77: 101-110
- D. **Buxton**; M. M. McAllister; J. P. Dubey, 2002. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol* 18 (12): 546-52
- C. M. **Campero**; A. C. Odeón; A. L. Cipolla; D. P. Moore; M. A. Poso; E. Odriozola, 2002. Demonstration of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissues from natural cases of ovine and bovine encephalitis. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 49 (8): 379-383
- C. M. **Campero**; D. P. Moore; A. C. Odeón; A. L. Cipolla; E. Odriozola, 2003. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Vet Res Commun* 27 (5): 359-369
- C. M. **Campero**; M. L. Anderson; R. L. Walker; P. C. Blanchard; L. Barbano; P. Chiu; A. Martínez; G. Combessies; J. C. Bardón; J. Cordeviola, 2005. Immunohistochemical identification of *Campylobacter fetus* in natural cases of bovine and ovine abortions. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 52 (3): 138-141
- M. E. **Carter**; D. O. Cordes; M. E. di Menna; R. Hunter, 1973. Fungi Isolated From Bovine Mycotic Abortion and Pneumonia With Special Reference to *Mortierella Wolfii*. *Res Vet Sci* 14 (2):201-206
- G. **Castrucci**; B. I. Osburn; F. Frigeri; M. Ferrari; D. Salvatori; M. L. Dico; F. Barreca, 2000. The use of immunomodulators in the control of infectious bovine rhinotracheitis. *Comp Immunol Microbiol*

Infect Dis 23: 163-173

S. **Cavirani**, 1999. L'aborto infettivo nel bovino, aspetti eziopatogenetici, criteri diagnostici, considerazioni di carattere epidemiologico in allevamenti da latte. *Large Animal Review* 5 (4): 13-24

S. **Cavirani** S. Cabassi; G. Donofrio; B. De Iaco; S. Taddei; C. F. Flammini, 2001. Association between *Chlamydia psittaci* seropositivity and abortion in Italian dairy cows. *Prev Vet Med* 50 (1-2) 145-151

S. **Cavirani**, 2003. Infectious diseases involved in reproductive failures in cattle: recent findings and consequences on management. In G. Bertone "L'ipofertilità della bovina da latte" pagg. 49-66 Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche Brescia 2003

D W **Chladek**, 1975. Bovine abortion associated with *Haemophilus somnus*. *Am j vet res.* 36 (7): 1041

R. **Coleman**, 2000. The impact of histochemistry--a historical perspective. *Acta Histochem* 102 (1). 5-14

Committee on Bovine Reproductive Nomenclature Terms, 1972. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *Cornell vet* 62 (2): 216-37

S. **Conigliaro**, 1997. Abortos causas, diagnostico y profilaxis *Boletin* 12 Centro Diagnostico veterinario S.A. 1997

L. G. **Corbellini**; C. A. Pescador; F. Frantz; E. Wunder; D. Steffen; D. R. Smith; D. Driemeier, 2006. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *Vet J* 172 (1): 114-120

H U **Cox**; P G Hoyt; R P Poston; T G Snider; T X Lemarchand; K L O'Reilly, 1998. Isolation of an avian serovar of *Chlamydia psittaci* from a case of bovine abortion. *J Vet Diagn Invest* 10 (3): 280-282

G. **Czaplicki**; E. Thiry, 1998. An association exists between bovine herpesvirus-4 seropositivity and abortion in cows. *Prev Vet Med* 33 (1-4): 235-240

F. **DelPiero**, 2003. Aborti infettivi dei ruminanti. *Large Animal Review* 1: 11-27

T. **Done**; S. Terlecki; C. Richardson; J. W. Harkness; J. J. Sands; D. S. Patterson; D. Sweasey; I. G. Shaw; C. E. Winkler; S. J. Duffell, 1980. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. *Vet Rec* 106 (23): 473-479

J. P. **Dubey**; D. S. Lindsay, 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 67 (1-2): 1-59

J. P. **Dubey**; B. C. Barr; J. R. Barta; I. Bjerkås; C. Björkman; B. L. Blagburn; D. D. Bowman; D. Buxton; J. T. Ellis; B. Gottstein; A. Hemphill; D. E. Hill; D. K. Howe; M. C. Jenkins; Y. Kobayashi; B. Koudela; A. E. Marsh; J. G. Mattsson; M. M. McAllister; D. Modrý; Y. Omata; L. D. Sibley; C. A. Speer; A. J. Trees; A. Uggla; S. J. Upton; D. J. Williams; D. S. Lindsay, 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol* 32 (8): 929-946

J. P. **Dubey**; J. Dubey, 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 41 (1): 1-16

S. **Duvia**, 2002. Neosporosi bovina: occorrenza di aborti da *N. caninum* in aziende con infezione accertata sierologicamente. *L'osservatorio* 5 2. Consultabile al sito: <http://www.oevr.org/>

- R. **Edelhofer**; K. Loeschenberger; R. Peschke; H. Sager; N. Nowotny; J. Kolodziejek; A. Tews; G. Doneus; H. Prosl, 2003. First PCR-confirmed report of a *Neospora caninum*-associated bovine abortion in Austria. *Vet Rec* 152 (15): 471-473
- W. A. **Ellis**, 1994. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 10 (3): 463-478
- A. **Fernandez**; M. Hewicker; G. Trautwein; J. Pohlenz; B. Liess, 1989. Viral Antigen Distribution in the Central Nervous System of Cattle Persistently Infected With Bovine Viral Diarrhea Virus. *Vet Pathol* 26 (1): 26-32
- G. L. **Foley**; D. H. Schlafer, 1987. Candida Abortion in Cattle. *Vet Pathol* 24 (6): 532-536
- G. L. **Foley**; D. H. Schlafer, 1994. Bacterial endotoxemia and reproductive effects in ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 10 (3): 491-501
- B. **Fredriksen**; C. M. Press; T. Løken; S. A. Odegaard, 1999. Distribution of viral antigen in uterus, placenta and foetus of cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Microbiol* 64 (2-3): 109-122
- B. **Fredriksen**; C. M. Press; T. Sandvik; S. A. Odegaard; T. Løken, 1999. Detection of viral antigen in placenta and fetus of cattle acutely infected with bovine viral diarrhea virus. *Vet Pathol* 36 (4): 267-275
- B. **Gottstein**; B. Hentrich; R. Wyss; B. Thür; A. Busato; K. D. Stärk; N. Müller, 1998. Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. *Int J Parasitol* 28 (4): 679-691
- D. L. **Grooms**; C. A. Bolin, 2005. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus and *Leptospira* spp. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 21 (2): 463-472
- D. L. **Grooms**, 2006. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. *Theriogenology* 66: 624-628
- M. Y. **Gulbahar**, A. Kaya, I. Golen, 2002. Renal Oxalosis in a Calf. *Turk J Vet Anim Sci* 26: 1197-1200
- D. M. **Haines**; B. J. Chelack, 1991. Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed paraffin-embedded tissues for diagnostic pathology. *J Vet Diagn Invest* 3 (1): 101-112
- D. M. **Haines**; E. G. Clark; E. J. Dubovi, 1992. Monoclonal antibody-based immunohistochemical detection of bovine viral diarrhea virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Vet Pathol* 29 (1): 27-32
- D. M. **Haines**; K. M. Moline; R. A. Sargent; J. R. Campbell; D. J. Myers; P. A. Doig 2004. Immunohistochemical study of *Hemophilus somnus*, *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia hemolytica*, and bovine viral diarrhea virus in death losses due to myocarditis in feedlot cattle. *Can Vet J* 45 (3): 231-234
- D. M. **Haines**; K. H. West, 2005. Immunohistochemistry: forging the links between immunology and pathology. *Vet Immunol Immunopathol* 108 (1-2): 151-156
- A. **Hemphill**; B. Gottstein, 2000. A European perspective on *Neospora caninum*. *Inter J Paras* 30 (8): 877-924

- R. B. **Hillman**; K. McEntee, 1969. Experimental studies on bovine mycotic placentitis. *Cornell Vet* 59 (2): 289-302
- M. W. **Hill**; C. E. Whiteman; M. M. Benjamin; L. Ball, 1971. Pathogenesis of Experimental Bovine Mycotic Placentitis Produced By *Aspergillus Fumigatus*. *Vet Pathol* 8 (2): 175-92
- A. A. **Jamaluddin**; J T. Case; D. W. Hird; P. C. Blanchard; J. R. Peuroi; M. L. Anderson, 1996. Dairy cattle abortion in California: evaluation of diagnostic laboratory data. *J Vet Diagn Invest* 8 (2): 210-218
- M. **Jenkins**; T. Baszler; C. Björkman; G. Schares; D. Williams. 2002. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Int J Parasitol* 32 (5) 631-636
- I. V. **Jerrett**; S. McOrist; J. Waddington; J. W. Browning; J. C. Malecki; I. P. McCausland, 1984. Diagnostic studies of the fetus, placenta and maternal blood from 265 bovine abortions. *Cornell Vet* 74 (1): 8-20
- C. T. **Johnson**; G. R. Lupson; K. E. Lawrence, 1994. The bovine placentome in bacterial and mycotic abortions. *Vet Rec* 134 (11): 263-266
- A. **Khodakaram-Tafti**; B. O. Ikede, 2005. A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada, from 1990 to 2001. *Can Vet J* 46 (7): 635-637
- J. H. **Kim**; J. K. Lee; B. C. Lee; B. K. Park; H. S. Yoo; W. S. Hwang; N. R. Shin; M. S. Kang; Y. H. Jean; H. J. Yoon; S. K. Kang; D. Y. Kim, 2002. Diagnostic survey of bovine abortion in Korea: with special emphasis on *Neospora caninum*. *J Vet Med Sci* 64 (12): 1123-1127
- C. A. **Kirkbride**; E. J. Bicknell; D. E. Reed; M. G. Robl; W. U. Knudtson; K. Wohlgemuth, 1973. A diagnostic survey of bovine abortion and stillbirth in the Northern Plains States. *J Am Vet Med Assoc* 162 (7): 556-560
- C. A. **Kirkbride**; D. Martinovich; D. A. Woodhouse, 1977. Immunoglobulins and lesions in aborted bovine foetuses. *N Z Vet J* 25 (7): 180-187
- C. A. **Kirkbride**, 1979. Abortive diseases of cattle: their significance and prevalence. *Vet Med Small Anim Clin* 74 (8): 1151-1155
- C. A. **Kirkbride**, 1982. Diagnostic approach to Abortion in Cattle. *Comp Cont educ* 4 (8): 5341-5346
- C. A. **Kirkbride**, 1985. Managing an outbreak of livestock abortion -2: diagnosis and control of bovine abortion *Vet. Med.* 80: 70-79
- C. A. **Kirkbride**, 1986. Examination of bovine and ovine fetuses. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2 (1): 61-83
- C. A. **Kirkbride**; C. E. Gates; M. C. Libal, 1989. Ovine and bovine abortion associated with *Fusobacterium nucleatum*. *J Vet Diagn Invest* 1 (3): 272-273
- C. A. **Kirkbride**, 1992a. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest* 4 (2): 175-180
- C. A. **Kirkbride**, 1992b. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest* 4 (4): 374-379
- C. A. **Kirkbride**, 1993. Bacterial agents detected in a 10-year study of bovine abortions and

stillbirths. *J Vet Diagn Invest* 5 (1): 64-68

W. U. **Knudtson**; C. A. Kirkbride, 1992. Fungi associated with bovine abortion in the northern plains states (USA). *J Vet Diagn Invest* 4 (2): 181-185

N. R. **Kraipowich**; D. L. Morris; G. L. Thompson; G. L. Mason, 2000. Bovine abortions associated with *Bacteroides fragilis* fetal infection. *J Vet Diagn Invest* 12 (4): 369-371

H. **Langoni**; L. C. de Souza; A. V. da Silva; M. C. Luvizotto; A. C. Paes; S. B. Lucheis, 1999. Incidence of leptospiral abortion in Brazilian dairy cattle. *Prev Vet Med* 40 (3-4): 271-275

B. **La Scola**; H. Lepidi; D. Raoult, 1997. Pathologic changes during acute Q fever: influence of the route of infection and inoculum size in infected guinea pigs. *Infect Immun* 65 (6) 2443-2447

R. A. **Laven**; D. Fountain; C. Penny, 2005. Investigation of bovine viral diarrhoea virus-associated abortion in cattle vaccinated with inactivated vaccine. *Vet Rec* 157 (6): 173-175

D. S. **Lindsay**; J. P. Dubey, 1989. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am J Vet Res* 50 (11): 1981-1983

S. **Magnino**; C. Bandi; P. C. Vigo; C. Bazzucchi; I. DeGiuli; M. Fabbi; C. Genchi, 2001. La neosporosi del bovino: aggiornamento su una malattia emergente. *L'osservatorio* 4 1 Consultabile al sito: <http://www.oevr.org/>

P. S. **Marcato**, 2002. Sistema gastroenterico e peritoneo. In *Patologia Sistemica Veterinaria* di P. S. Marcato pagg. 697-768 Ed. Agricole de il Sole24 ORE Edagricole S.r.l Bologna. 2002

A. J. **Marco**; J. A. Ramos; L. Dominguez; M. Domingo; L. Gonzalez, 1988. Immunocytochemical Detection of *Listeria Monocytogenes* in Tissue With the Peroxidase-Antiperoxidase Technique. *Vet Pathol* 25 (5): 385-387

O. **Markusfeld-Nir**, 1997. Epidemiology of bovine abortions in Israeli dairy herds. *Prev Vet Med* 31 (3-4): 245-255

D J **Marshall**; R A Moxley; C L Kelling, 1996. Distribution of virus and viral antigen in specific pathogen-free calves following inoculation with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Vet Pathol* 33 (3): 311-318

B. **McEwen**; S. Carman, 2005. Animal health laboratory reports--cattle. Bovine abortion update, 1998-2004. *Can Vet J* 46 (1): 46

J. M. **Miller**; M. J. Van der Maaten, 1989. Demonstration of infectious bovine rhinotracheitis virus antigen in paraffin sections. *J Vet Diagn Invest* 1 (2): 105-109

R. B. **Miller**; P. J. Quinn, 1975. Observations on abortions in cattle: a comparison of pathological, microbiological and immunological findings in aborted fetuses and fetuses collected at abattoirs. *Can J Comp Med* 39 (3): 270-290

R. B. **Miller**; B. N. Wilkie, 1979. The indirect fluorescent antibody technique as a method for detecting antibodies in aborted fetuses. *Can J Comp Med* 43 (3): 255-261

R. B. **Miller**; D. A. Barnum, 1983a. Effects of *Hemophilus somnus* on the pregnant bovine reproductive tract and conceptus following cervical infusion. *Vet Pathol* 20 (5): 584-589

R. B. **Miller**; S. D. Van Camp; D.A. Barnum, 1983b. The Effects of Intra-Amniotic Inoculation of *Hemophilus Somnus* On the Bovine Fetus and Dam. *Vet Pathol* 20 (5): 574-583

- R **Miller**; A Chelmonska-Soyta; B Smits; R Foster; S Rosendal, 1994. Ureaplasma diversum as a cause of reproductive disease in cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 10 (3): 479-490
- R E **Moffatt**, 1974. Hepatopathy with renal oxalosis in the bovine fetus. *Can Vet J* 15 (10): 286-288
- D. P. **Moore**; C. M. Campero; A. C. Odeón; J. C. Bardón; P. Silva-Paulo; F. A. Paolicchi; A. L. Cipolla, 2003a. Humoral immune response to infectious agents in aborted bovine fetuses in Argentina *Revista Argentina de Microbiología* 4 (35): 143-148
- D. P. **Moore**; C. M. Campero; A. C. Odeón; R. Chayer; M. A. Bianco, 2003b.. Reproductive losses due to *Neospora caninum* in a beef herd in Argentina. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 50 (6): 304-308
- R. D. **Murray**, 1990. A field investigation of causes of abortion in dairy cattle. *Vet Rec* 127 (22): 543-547
- R. D. **Murray**, 1991. Lesions in aborted bovine fetuses and placenta associated with bovine viral diarrhoea virus infection. *Arch Virol Suppl* 3: 217-224
- R. D. **Murray**, 2006. Practical approach to infectious bovine abortion diagnosis. Proceedings of the 26th World Buiatrics Congress 2006 scaricabile dall'indirizzo: <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/murray.pdf?LA=1>
- S. **Mutoloki**; M. Ishii; M. Narita 2002. Demonstration of bovine herpesvirus type 1 and Mannheimia haemolytica antigens in specimens stored for up to 22 months in buffered formalin. *Can J Vet Res* 66 (1): 60-63
- M. **Narita**; K. Kimura; N. Tanimura; S. Arai; T. Tsuboi; K. Katsuda, 2000. Immunohistochemical characterization of calf pneumonia produced by the combined endobronchial administration of bovine herpesvirus 1 and Pasteurella haemolytica. *J Comp Pathol* 123 (2-3):126-134
- M. C. **Neilan**; I. P. McCausland; M. Maslen, 1982. Mycotic pneumonia, placentitis and neonatal encephalitis in dairy cattle caused by *Mortierella wolfii*. *Australian Vet J* 59 (2): 48-49
- W. **Okanol**; A.P.F.R.L. Bracarensell; A.C.F. ReisII; A.A. AlfieriII 2003. Histological findings in aborted and non-aborted cattle fetuses. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55 (2): 223-225
- A. **Otter**, 1996. *Fusobacterium necrophorum* abortion in a cow. *Vet Rec* 139 (13): 318-9
- A. **Parisi**; R. Fracalvieri; M. Cafiero; A. Miccolupo; I. Padalino; C. Montagna; F. Capuano; R. Sottili, 2006. Diagnosis of *Coxiella burnetii*-related abortion in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR. *Vet Microb* 118 (1-2): 101-106
- J. **Pereira-Bueno**; A. Quintanilla-Gozalo; V. Pérez-Pérez; A. Espi-Felgueroso; G. Alvarez-García; E. Collantes-Fernández; L. M. Ortega-Mora, 2003 Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Vet Parasitol* 111 (2-3): 143-152
- P. **Pizzolato**, 1964. Histochemical recognition of calcium oxalate . *J Histochem Cytochem* 12: 333-336
- Z. **Pospíšil**; J. Krejčí; P. Jínek; P. Lány; D. Zendulková; P. Cíhal, 1996. Development of a disease control programme based on the use of an inactivated vaccine against infectious bovine rhinotracheitis. *Vet Microbiol* 53 (1-2): 199-206
- G. C. **Pritchard**; E. D. Borland; L. Wood; D. G. Pritchard, 1989. Severe disease in a dairy herd

- associated with acute infection with bovine virus diarrhoea virus, Leptospira harjo and Coxiella burnetii. *Vet Rec* 124 24 625-629
- G. Pritchard**, 1990. Diagnosing the cause of bovine abortion. *In Prac* 3: 92-97
- P. L. Roeder**; M. Jeffrey; M. P. Cranwell, 1986. Pestivirus fetopathogenicity in cattle: changing sequelae with fetal maturation. *Vet Rec* 118 (2) 44-48
- J. Rüfenacht**; P. Schaller; L. Audigé; B. Knutti; U. Küpfer; E. Peterhans, 2001. The effect of infection with bovine viral diarrhoea virus on the fertility of Swiss dairy cattle. *Theriogenology* 56 (2) 199-210
- H. Sager**; I. Fischer; K. Furrer; M. Strasser; A. Waldvogel; P. Boerlin; L. Audigé; B. Gottstein, 2001. A Swiss case-control study to assess Neospora caninum-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Vet Parasitol* 102 (1-2): 1-15
- Y. S. Sağlam**; A. Temur; A. Aslan, 2003. Detection of leptospiral antigens in kidney and liver of cattle. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 110 (2): 75-77
- A.P.M.E. Santos**; I.T. Navarro; A.P.F.R.L. Bracarense; R.L. Freire; E.R.M. Marana; L. Ogawa; A.A. Alfieri; J.C. Freitas; O. Vidotto, 2005. Dairy cow abortion associated with Neospora caninum and other infectious agents. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57 (4) 545-547
- G. Sarli**, 1997. Tecniche diagnostiche in istopatologia. In P.S. Marcato: "Anatomia e istologia patologica generale veterinaria" pagg. 831-833 Società Editrice Esculsapio Bologna 1997
- B Schiefer**; R E Moffatt, 1974. Bovine abortion associated with renal oxalosis in the fetus. *Can Vet J* 15 (3): 57-65
- B Schiefer**; J F Pantekoek; R E Moffatt, 1974. The pathology of bovine abortion due to *Corynebacterium pyogenes*. *Can Vet J* 15 (11): 322-326
- A. Schock**; D. Buxton; J. A. Spence; J. C. Low; A. Baird, 2000. Histopathological survey of aborted bovine fetuses in Scotland with special reference to *Neospora caninum*. *Vet Rec* 147 (24): 687-688
- J Schuh**; D Weinstock, 1985. Bovine abortion caused by *Bacillus cereus*. *J Am Vet Med Assoc* 187 (10): 1047-1048
- T. Shin**; H. Acland, 2001. Tissue distribution of bovine viral diarrhoea virus antigens in persistently infected cattle. *J Vet Sci* 2 (2): 81-84
- G. H. Smith**; J. K. Collins; J. Carman, 1989. Use of an immunoperoxidase test for the detection of bovine herpesvirus-1 in aborted fetal tissue. *J Vet Diagn Invest* 1 (1):39-44
- K. C. Smith**, 1997. Herpesviral abortion in domestic animals. *Vet J* 153 (3): 253-268
- D. J. Sprecher**; J. C. Baker; R. E. Holland; B. Yamini, 1991. An outbreak of fetal and neonatal losses associated with the diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology* 36 (4): 597-606
- D. Tainturier**; F. Fieni; J. F. Bruyas; I. Battut, 1997. Etiologia degli aborti nella specie bovina. *SUMMA* 7: 9-15
- J P Thilsted**; J P Dubey, 1989 Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest* 1 (3): 205-209
- G Thobokwe**; C Heuer, 2004. Incidence of abortion and association with putative causes in dairy herds in New Zealand. *N Z Vet J* 52 (2): 90-94

- R. **Thornton** 1992. Bovine abortions - laboratory diagnosis 1991. Surveillance (Wellington) 4 ABSTRACT
- R. **Thornton**, 1996. Bovine abortion diagnoses in 1995. Surveillance (Wellington) 4 ABSTRACT
- M C **Thurmond**; J P Picanso; S K Hietala, 1990. Prospective serology and analysis in diagnosis of dairy cow abortion. J Vet Diagn Invest 2 (4): 274-282
- M. C. **Thurmond**; S. K. Hietala; P. C. Blanchard, 1999. Predictive values of fetal histopathology and immunoperoxidase staining in diagnosing bovine abortion caused by *Neospora caninum* in a dairy herd. J Vet Diagn Invest 11 (1): 90-94
- A. A. **van Dreumel**; M. Kierstead, 1975. Abortion associated with *Hemophilus somnus* infection in a bovine fetus. Can Vet J 16 (12): 367-70
- C. **van Maanen**; W. Wouda; G. Schares; D. von Blumröder; F. J. Conraths; R. Norton; D. J. L. Williams; I. Esteban-Redondo; E. A. Innes; J. G. Mattsson; C. Björkman; A. Fernández-García; L. M. Ortega-Mora; N. Müller; H. Sager; A. Hemphill, 2004. An interlaboratory comparison of immunohistochemistry and PCR methods for detection of *Neospora caninum* in bovine foetal tissues. Vet Parasitol 126 (4): 351-64
- R. L. **Walker**, 1997. Mycotic bovine abortion. in R. S. Youngquist: "Current therapy in large animal theriogenology" pagg. 389-391 W. B. Saunders Philadelphia 1997
- A. C. **Ward**, 1990. Isolation of Pasteurellaceae from bovine abortions. J Vet Diagn Invest 2 (1): 59-62
- R. D. **Welsh**; E. L. Stair, 1993. *Yersinia pseudotuberculosis* bovine abortion. J Vet Diagn Invest 5 (1): 109-111
- M. T. **Winkler**; F. A. Osorio; H. J. Barahona; M. Taffarel, 1995. Study of neutralizing monoclonal antibodies to bovine herpes virus type-1 (Cooper strain) by immunoperoxidase and immunoelectron microscopy. FEMS Immunol Med Microbiol 11 (1) 1-4
- G L **Woods**; D H Walker, 1996. Detection of infection or infectious agents by use of cytologic and histologic stains. Clin Microbiol Rev 9 (3): 382-404
- W **Wouda**; J Brinkhof; C van Maanen; A L de Gee; A R Moen, 1998. Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: A comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays Clinical and diagnostic laboratory immunology 5 (5): 711-716
- W. **Wouda**; A. R. Moen; I. J. Visser; F. van Knapen, 1997. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. J Vet Diagn Invest 9 (2): 180-185
- M. **Yaeger**; L. D. Holler, 1997. Bacterial causes of bovine infertility and abortion. in R. S. Youngquist "Current therapy in large animal theriogenology" pagg. 364-372 W. B. Saunders Philadelphia 1997
- B. **Yamini**; T.P. Mullaney; J. S. Patterson; S.D. Fitzgerald; B. A. Steficek; F. Kennedy, 2004. Causes of bovine abortion in the North-Central United States: survey of 1618 cases (1983-2001). Bovine Practitioner 38 (1): 59-64 ABSTRACT
- Z. **Yener**; H. Keles, 2001. Immunoperoxidase and histopathological examinations of leptospiral nephritis in cattle. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med 48 (7): 441-447

RINGRAZIAMENTI

Si desidera ringraziare:

- il Dottor Loris ALBORALI dello IZS dell'Emilia Romagna e Lombardia per la fornitura degli anticorpi anti-BVDV e anti-BHV1;
- i Dottori Bruno CANTARUTTI e Daniele GALLO per il reperimento e campionamento dei casi;
- il Dottor Ernesto PASCOTTO per il caro aiuto in questi anni e, non ultimo, per la stesura di questa tesi;
- lo staff del Dipartimento di Scienze Animali, Sezione di Biologia e Patologia Animale dell'Università degli Studi di UDINE per gli insegnamenti, l'incoraggiamento, l'aiuto e la sopportazione dimostrata per tutto questo tempo.

GRAZIE!

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry, no matter how small, should be recorded to ensure the integrity of the financial statements. This includes not only sales and purchases but also expenses, income, and transfers between accounts.

Next, the document outlines the process of reconciling bank statements with the company's records. It stresses the need to identify and explain any discrepancies, such as outstanding checks or bank errors, to ensure that the books are in balance. Regular reconciliation is presented as a key practice for preventing errors and detecting fraud.

The document also covers the classification of assets and liabilities. It provides guidance on how to categorize different types of property, equipment, and debts, ensuring that they are reported correctly on the balance sheet. This section highlights the importance of using consistent accounting methods to allow for meaningful comparisons over time and across different periods.

Finally, the document discusses the preparation of financial statements, including the income statement, balance sheet, and statement of cash flows. It provides a step-by-step guide to calculating each component and ensuring that the numbers are accurate and supported by the underlying data. The document concludes by reminding the reader that the ultimate goal of accounting is to provide a clear and honest picture of the company's financial health.