

## Modalità operative

### Chi sono i destinatari del corso FAD?

Il corso, accreditato presso la Conferenza Nazionale per la Formazione Continua, è rivolto alla categoria dei medici veterinari.

### È importante essere abbonati a *SUMMA Animali da reddito* per accedere al corso FAD?

Per gli abbonati a *SUMMA Animali da reddito* sono previste condizioni riservate e particolarmente vantaggiose.

### Come si svolge il corso?

Il corso è composto da 9 dossier (materiale formativo) pubblicati in successione su *SUMMA Animali da reddito* a partire da gennaio/febbraio 2015 (SUMMA n. 1) e fino a dicembre 2015 (SUMMA n. 10). Soltanto il numero monotematico in uscita a maggio 2015 (SUMMA n. 4) NON conterrà alcun dossier riferito al corso FAD.

### Come si ottengono i crediti ECM?

Per ottenere i crediti ECM è necessario seguire questi semplici passaggi:

#### Letture dei Dossier

I dossier pubblicati in successione sui numeri di *SUMMA Animali da reddito* durante l'anno 2015 rappresentano il materiale formativo e di studio. Si presentano come articoli scientifici, contraddistinti sulla pagina da uno specifico richiamo al corso FAD.

Sono consultabili anche in formato digitale, accedendo alla versione on line del periodico su [www.pointvet.it](http://www.pointvet.it).

#### Registrazione/Login su [www.pviformazione.it](http://www.pviformazione.it)

L'utente deve attivare un account all'indirizzo <http://fad.pviformazione.it/accedi>. L'operazione è gratuita e senza obbligo di acquisto. Naturalmente chi avesse già un account su questa piattaforma NON deve crearne uno nuovo, ma può utilizzare quello esistente.

#### Acquisto del questionario

Gli abbonati a *SUMMA Animali da reddito* possono acqui-

stare dall'account personale il SOLO questionario di valutazione dell'apprendimento al prezzo riservato di **€ 36,00 (IVA inclusa)**.

#### Attestato ECM

Superato il questionario di valutazione dell'apprendimento e compilato il questionario di valutazione della qualità percepita, è possibile dal proprio account effettuare il download dell'attestato con i crediti ECM.

A seconda della data di superamento del questionario, i crediti saranno attribuiti all'anno 2015 (corso concluso entro il 31.12.15) o all'anno 2016 (corso concluso dopo il 31.12.15).

#### Come è composto il questionario?

Il questionario verte sui temi trattati dai singoli dossier pubblicati su *SUMMA Animali da reddito* ed è disponibile soltanto on line.

Si compone di **9 test** in successione, attivati in contemporanea con l'uscita del dossier a cui si riferiscono. L'ultimo test pubblicato sarà pertanto quello riferito al dossier di *SUMMA Animali da reddito n. 10*, dicembre 2015.

Ogni test presenta una serie di domande a risposta quadrupla e scelta singola. Per superare il singolo test è necessario rispondere correttamente almeno all'80% delle domande.

Per informazioni dettagliate sul funzionamento dei test, si rimanda alle modalità operative FAD sul sito [www.pviformazione.it](http://www.pviformazione.it).

Il questionario di valutazione dell'apprendimento si considera concluso una volta superati tutti e 9 i singoli test. Per accedere al download dell'attestato ECM sarà sufficiente a questo punto compilare il form di valutazione della qualità percepita.

#### Quando termina il corso?

La validità del corso abbinato a *SUMMA Animali da reddito* termina in data 14 febbraio 2016. Dopo la scadenza NON sarà più possibile ottenere i relativi crediti ECM.

## PATOLOGIE RIPRODUTTIVE

## Aborto bovino

QUESTO DOSSIER  
PREVEDE MATERIALE  
ACCESSORIO\*

Giovanni Gemmi, Cristina Maraboli

Medici veterinari liberi professionisti Bovinevet – Bovine Ultrasound Services, Premosello Chiovenda (VB).

## RIASSUNTO

I batteri, i virus, i parassiti e i miceti sono patogeni che rientrano tra le innumerevoli cause di aborto nella bovina. La diagnosi precoce è di primaria importanza, al fine di attivare rapidamente le opportune misure profilattiche e prevenire la diffusione delle infezioni.

Fondamentale è anche giungere a una diagnosi clinica di morte embrionale tardiva e di morte fetale precoce, nonché di aborto precoce e aborto tardivo. A tal fine, estremamente utili si rivelano, da un lato, l'esame ultrasonografico e, dall'altro, una raccolta anamnestica completa e accurata, l'applicazione di una tempestiva e corretta procedura di campionamento e l'invio dei campioni al laboratorio di riferimento in condizioni ottimali.

**Parole chiave:** aborto infettivo, morte embrionale, aborto precoce, aborto tardivo, bovina.

## SUMMARY

*Abortion in cattle*

*Bacteria, viruses, parasites and fungi are among the many causes of abortion in cattle. Early detection is paramount, in order to quickly activate appropriate preventive measures and prevent the spread of infections.*

*It is also essential to issue a clinical diagnosis of late embryonic death and early foetal death, as well as of early abortion and late abortion. In this view, it is extremely useful to carry out, on the one hand, an ultrasonographic examination and, secondly, to collect a complete and accurate medical history, to use an early and correct sampling procedure and to send samples to the laboratory in optimal conditions.*

**Keywords:** *infectious abortion, embryonic death, early abortion, late abortion, cow.*

I motivi per cui le bovine abortiscono sono veramente molti; alcuni aborti sono indotti da cause non infettive, quali gravidanze gemellari, stress da calore, assunzioni di sostanze tossiche o di micotossine, carenze nutrizionali, utilizzo di farmaci che possono avere effetti abortivi, malformazioni fetali congenite, patologie concomitanti quali mastiti cliniche o forme respiratorie caratterizzate da elevati rialzi di temperatura, l'esecuzione di fecondazioni artificiali in bovine gravide e i traumi; altri, invece, che rappresentano la maggior parte dei casi, sono imputabili a cause infettive (batteri, funghi, virus o protozoi).

I laboratori meglio attrezzati e con maggiore esperienza, riescono a determinare con certezza la diagnosi solamente nel 30-40% dei casi. La ragione di questa scarsa efficienza diagnostica, in parte, risiede nel fatto che, come accennato, molte cause di aborto non sono infettive, e in parte è dovuto alle pessime condizioni in cui il materiale diagnostico (invogli fetali, feti o parti di feto), arrivano al laboratorio ... quando arriva.

Immaginando di migliorare l'efficienza diagnostica, innanzi tutto, è fondamentale migliorare l'accuratezza del campionamento in caso di aborto (tipologia del materiale da raccogliere, conservazione e invio del materiale stesso). È altresì importante procedere a un'adeguata raccolta anamnestica, che aiuterà non poco a interpretare correttamente i dati ottenuti in laboratorio. La predisposizione di protocolli diagnostici e di procedure operative a livello aziendale sono determinanti per giungere all'identificazione di una possibile causa di aborto, in base alla quale si possono adottare adeguati interventi di profilassi.

Scopo di questo lavoro è quello di suggerire un possibile percorso diagnostico-decisionale nel campo degli aborti del bovino, importante per la definizione di un corretto approccio profilattico e/o terapeutico.

## Definizioni

L'aborto, per definizione, è l'espulsione del feto prima del 260° giorno di gestazione; quando il "parto" avviene tra il 260°-265° giorno si parla

di parto prematuro. Ancora oggi, la terminologia è utilizzata impropriamente: in particolare, si definisce erroneamente "morte embrionale precoce" quello che in realtà è la "morte embrionale tardiva" (di cui per altro è possibile fare una diagnosi precoce). Fino al 42° giorno di gravidanza, si deve parlare di embrione e solo successivamente si parla di feto. Pertanto, si può parlare di morte embrionale tardiva fino al 42° giorno di gestazione; superato questo termine, si deve parlare di "morte fetale precoce" o "aborto precoce", definizione che ha valore fino a 90° giorno di gestazione, termine oltre il quale si deve parlare di "aborto tardivo".

## Epidemiologia

La morte embrionale tardiva colpisce circa un 6-16% delle gestazioni, tra il 26°-56° giorno di gestazione. Un tasso di aborto del 4-5% (nei due ultimi trimestri di gestazione), se depurato dal dato relativo alle gravidanze gemellari, può essere considerato nella norma. Tuttavia, in certe condizioni, gli aborti possono interessare anche il 20% delle bovine gravide.

## Eziologia

## 1. Cause infettive di aborto dal 45° giorno di gestazione fino a fine gravidanza

Affrontare uno o più episodi infettivi, per il medico veterinario, è una delle sfide più impegnative. E anche avvalendosi di un laboratorio competente e attrezzato, la percentuale di successo diagnostico non supera mai il 40-50% [1, 3] (tabella 1 e tabella 2\*).

## ► Aborto batterico

Sono molti i batteri, considerati opportunisti, che possono raggiungere la placenta e il feto e, quindi, causare un aborto, con una frequenza variabile del 20-25% [1]. L'aborto batterico si può verificare in qualunque stadio della gestazione, quasi sempre senza alcun segno clinico rilevabile, se non, in caso di aborti tardivi, la comparsa di un'eventuale ritenzione placentare. Di norma, questi batteri non sono contagiosi, ma possono essere frequentemente rilevati nell'ambiente o sulle mucose. In altri casi, sia pure

tra il

**Tabella 1. Principali patologie infettive (batteriche, virali, micotiche e protozoarie) con potenziale abortigeno nel bovino**

Batteriche	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Batteri sporadici opportunisti</li> <li>• <i>Brucella abortus</i></li> <li>• <i>Listeria</i> spp.</li> <li>• <i>Salmonella</i> spp. (<i>dublin</i>)</li> <li>• <i>Leptospira</i> (<i>hardjo</i>, <i>pomona</i>)</li> <li>• <i>Campylobacter</i> (<i>fetus</i>, <i>jejuni</i>)</li> <li>• <i>Coxiella burnetii</i> (febbre Q)</li> <li>• <i>Chlamydophila</i></li> <li>• <i>Histophilus somni</i></li> </ul>
Micotiche	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Virali	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rinotracheite infettiva del bovino (BoHV-1)</li> <li>• Virus della diarrea virale del bovino (BVDV)</li> <li>• <i>Bovine Herpesvirus</i> tipo 4 (BoHV-4)</li> <li>• <i>Blue tongue virus</i></li> <li>• <i>Schmallenberg virus</i></li> </ul>
Protozoarie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Neospora caninum</i></li> <li>• <i>Trichomonas foetus</i></li> </ul>

rari, possono giungere alla placenta e al prodotto del concepimento per via ematica materna, anche in questo caso, spesso, in assenza di una chiara sintomatologia clinica. I batteri più frequentemente rilevati sono *Trueperella* (*Archanobacterium*) *pyogenes* ed *Escherichia coli*, ma possono essere coinvolti anche *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacillus* spp., *Haemophilus somni*, *Pasterurellae*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. [42]. L'aborto batterico è sporadico e non correlabile alla presenza di aborti ripetuti (*abortion storm*), se in presenza di altri patogeni, come ad esempio i miceti e il virus della BVD [24]. È possibile osservare un livello variabile di autolisi dei feti abortiti e un essudato giallo-brunastro a livello placentare. Nella diagnosi diretta, eseguita su feto e placenta, si deve porre attenzione alla possibile contaminazione accidentale del feto. Per questo motivo, la diagnosi eziologica di laboratorio si basa su colture batteriche ottenute da campioni di contenuto abomasale o di organi interni (fegato, milza, rene, timo, cervello) e sull'individuazione di lesioni istologiche, negli organi stessi, riconducibili a un'infezione batterica.

• *Brucella abortus*: l'aborto da *B. abortus*, almeno in Italia, è un evento raro. La trasmissione del patogeno avviene per via orale o mucosale, per contatto con materiale infetto (prevalentemente lochiazioni *post partum* o urine). L'aborto si verifica circa 24-72 ore dopo l'ingestione delle brucelle e la morte fetale è conseguente alle lesioni placentari e all'endotossinemia del feto. Si tratta di un aborto medio-tardivo (oltre il 5°-

6° mese di gestazione) e sono frequenti le ritenzioni placentari post-aborto. A livello placentare si rilevano gravi lesioni, con placentite associata a edema, necrosi focale e ispessimento dei cotiledoni con essudato giallastro. Il feto si presenta, di frequente, autolitico. L'isolamento del patogeno è indispensabile per la conferma del sospetto diagnostico (finestra 1\*).

• *Listeria*: l'aborto da *Listeria*, sostenuto da *L. monocytogenes* e *L. ivanovii*, è sporadico e relativamente poco frequente; tuttavia, può presentarsi in forma epidemica, soprattutto quando molte bovine contraggono l'infezione per ingestione di foraggi contaminati (in genere, di bassa qualità e con pH elevato). Le bovine che abortiscono, di rado, manifestano i tipici sintomi nervosi. I feti, in genere, vengono espulsi nell'ultimo terzo di gravidanza e non mostrano lesioni visibili, anche a causa di una frequente autolisi. In alcuni casi, si rilevano piccoli foci di colore pallido nei cotiledoni placentari. L'esame istopatologico evidenzia una placentite suppurativa associata a lesioni suppurative o necrotizzanti nel fegato fetale. Il batterio diffonde in molti organi fetali ed è rilevabile nel fluido abomasale.

• *Salmonella* spp.: il sierotipo più spesso coinvolto nell'aborto bovino (sporadico in Italia) è *S. dublin*. L'infezione, parte dal tratto intestinale e diffonde rapidamente per via ematica (batteriemia) raggiungendo la placenta, con distruzione dei villi fetali e aborto, senza che il feto sia invaso dai batteri. In altri casi, l'intensa proliferazione batterica nella placenta è seguita da una massiva diffusione dei batteri al fegato del feto. Gli aborti da *Salmonella* si verificano soprattutto nella seconda metà della gravidanza e possono essere seguiti da ritenzione placentare. Anche in questo caso, il feto si presenta spesso autolitico (finestra 2\*).

• *Leptospire*: i ceppi di *Leptospira* di norma associati a episodi abortivi nel bovino sono *L. hardjo* e *L. pomona*; più raramente, si riscontrano *L. interrogans* serovars *icterohaemorrhagiae* e *gripotyphosa*. Le leptospire possono essere eliminate in grande quantità con le urine e possono resistere nell'ambiente fino a 30 giorni. Possono penetrare attraverso le mucose intatte o attraverso lesioni cutanee. È possibile la trasmissione verticale per via placentare. L'aborto da *Leptospira hardjo* nel bovino è conseguente a un'infezione cronica. Spesso, l'aborto è l'unico sintomo rilevabile, mentre, a volte, le bovine in lattazione presentano agalassia o mastite, con mammelle flaccide e secrezioni giallastre o con tracce ematiche. L'aborto si verifica 1-3 mesi dopo l'infezione e, in genere, dal 3-4° mese di gestazione in poi (possibile anche la nascita di vitelli disvitali). I tassi di aborto da leptospira possono essere occasionalmente elevati e superare il 10%. L'isolamento

del patogeno dai feti è difficile, sia per la frequente autolisi dei feti sia per la labilità del patogeno. Quindi, l'esame sierologico della madre è indicato per indirizzare il sospetto diagnostico.

• *Campylobacter* spp.: la diffusione dell'inseminazione artificiale ha drasticamente ridotto il rischio di aborto da *Campylobacter*, in particolare, l'aborto da *C. fetus* subsp. *fetus* e *venerealis* (tipica patologia a trasmissione venerea). La sottospecie *jejuni* può essere coinvolta in episodi abortivi (in genere, primi mesi di gestazione) conseguenti all'infezione del feto per via ematogena a partire dal tratto intestinale [41]. *C. fetus-venerealis* è anche causa di infertilità, morte embrionale e, occasionalmente, di aborti in fase più avanzata. Può essere presente una placentite fibrinosa tra i cotiledoni, che possono apparire necrotici e di colorazione giallo-brunastra. I feti possono presentare splenomegalia ed essudazione fibrinosa a livello di pleura.

• *Coxiella burnetii* (febbre Q): è causa di una pa-

tologia zoonosica a diffusione mondiale, riscontrabile non solo nei ruminanti (domestici o selvatici) ma anche in uccelli, rettili e artropodi.

Nel bovino, il segno clinico più evidente, anche se non il più frequente, è l'aborto, che si verifica a partire dal 3° mese di gestazione, con una maggiore frequenza nell'ultimo terzo di gravidanza. In caso di aborto, il feto si presenta macroscopicamente normale e solo raramente mostra segni di broncopolmonite. La placenta può mostrare lesioni fibrinose intercotiledonari, comunque non patognomoniche, con presenza di esudato. L'infertilità, con allungamento del periodo parto-concepimento [29], le metriti e le endometriti tardive post inseminazione artificiale [40], la presenza di bovine "repeat breeders", la ritenzione degli involgii fetali e la nascita di vitelli disvitali sono segni, molto spesso sottostimati, che possono essere correlati all'infezione da *Coxiella burnetii* (figura 1 e finestra 3\*).

• *Chlamydia* spp.: i ceppi patogeni per i piccoli

Tabella 3. Conseguenze dell'infezione da BVDV

Momento dell'infezione e via di trasmissione	Animali infetti	Conseguenza
Trasmissione orizzontale post natale	Animali sieropositivi non gravidi	Malattia lieve o subclinica
	Animali sensibili non gravidi	<ul style="list-style-type: none"> <li>Malattia lieve o subclinica</li> <li>Malattia con sintomi moderati o gravi dopo infezione con ceppi ad alta virulenza</li> </ul>
	Animali sensibili in attività riproduttiva	Possibile mancato concepimento
	Animali sensibili gravidi	Infezione fetale
Trasmissione verticale in gravidanza	Feto da madri persistentemente infette	Infezione fetale - Riassorbimento embrionale o aborto - Feto/vitello immunotollerante persistentemente infetto
	Feto da madri sensibili (dal concepimento fino al 90-125° giorno di gestazione). Ceppo citopatico	Infezione fetale - Riassorbimento embrionale o aborto
	Feto da madri sensibili (dal concepimento fino al 90-125° giorno di gestazione). Ceppo non citopatico	Infezione fetale - Riassorbimento embrionale o aborto - Feto/vitello immunotollerante persistentemente infetto - Malformazioni fetali (100°-150° giorno): ipoplasia cerebellare, ipotricosi, brachignatismo ecc.)
	Feto di madri gravide sensibili con un feto immunocompetente (> 90-125 giorni)	Infezione fetale - Aborto - Malformazioni fetali - Nascita di un vitello normale
	Feto di madri gravide sieropositive in seguito a infezione naturale	<ul style="list-style-type: none"> <li>Feto protetto dall'infezione</li> <li>Infezione fetale?</li> </ul>
	Feto di madri gravide sieropositive (buon livello di anticorpi sieroneutralizzanti) in seguito a vaccinazione	<ul style="list-style-type: none"> <li>Feto protetto dall'infezione</li> </ul>

## Formazione a distanza

ruminanti e i bovini sono *Chlamydophila abortus* e *Chlamydophila pecorum* (finestra 4\*) [7, 21].

Tuttavia, anche altri germi, definiti paraclamidie (*Chlamydia-like Waddia chondrophila*), sono stati associati ad aborto nella bovina [6]. Gli animali infetti sono frequentemente asintomatici. I ruminanti eliminano in grande quantità *Chlamydophila* spp. attraverso la placenta e gli scoli uterini, sia al momento del parto sia in caso di aborto. *C. abortus*, nel bovino, è causa di aborto sporadico che si verifica principalmente nel corso dell'ultimo terzo di gestazione. Nel bovino, l'infezione da *C. pecorum* è invece stata associata a polmonite, poliartrite, congiuntivite e occasionalmente aborto medio-tardivo. L'infezione da *C. abortus* e *C. pecorum* si presenta nel bovino con caratteristiche di endemicità ed è stata correlata a una diminuzione delle performance riproduttive [22]. In corso di aborto, i microrganismi replicano attivamente e sono presenti a livello dei cotiledoni della placenta, che si presentano necrotici, mentre le aree intercotiledonari si mostrano inspessite e si rileva la presenza di uno strato superficiale di materiale giallastro di sfaldamento.

• *Histophilus somni*: è uno dei principali microrganismi responsabili di patologia respiratoria nel bovino, ma è stato recentemente isolato anche a livello del tratto riproduttivo. Può dare infertilità e, sia pure raramente, aborto [42]. L'infezione del feto avviene per via ematogena, in seguito al contatto con materiale infetto (scoli nasali o vaginali).

### ► Aborto micotico

L'aborto micotico ha diffusione mondiale e si

manifesta in modo sporadico, anche se, in alcune regioni, risulta essere una delle principali cause di aborto [1], con tassi di aborto che possono raggiungere anche il 20%. La maggioranza degli aborti sporadici è associata alla presenza di *Aspergillus fumigatus*, ma sono possibili anche infezioni da *Mucor* spp. e *Mortierella wolffi* [26]. I funghi responsabili di aborto sono saprofiti ubiquitari ambientali e la loro concentrazione aumenta il rischio di aborto, che si verifica, di solito, a partire dal 3° mese di gestazione, con un'incidenza maggiore nell'ultimo terzo di gravidanza.

Normalmente, nelle bovine che abortiscono non si rilevano segni clinici evidenti, se non ritenzione placentare, che risulta relativamente frequente. La placentite è la lesione primaria e i cotiledoni appaiono inspessiti; tuttavia, si possono rilevare anche aree di necrosi. Il feto, in genere, non presenta lesioni evidenti e il livello di autolisi è minimo. In alcuni casi, si possono rilevare lesioni cutanee circoscritte di colore bianco-grigiastro e lesioni associate all'infezione fungina a livello polmonare o di tipo focale, localizzate nel tratto digestivo.

### ► Aborto virale

L'IBR e la BVD sono considerate "forme riproduttive virali", in quanto hanno chiare ripercussioni a carico delle performance riproduttive, oltre ad avere un ruolo nella patologia respiratoria (IBR e BVD) o gastroenterica (BVD) della vitellina.

• Rinotracheite infettiva del bovino (IBR): *Bovine herpesvirus 1* (BoHV-1) appartiene alla famiglia *Herpesviridae*, sottofamiglia *Alpha herpesvirinae* [11]. Pur mantenendone l'unicità antigenica, per BoHV-1, sulla base dell'analisi del genoma virale

Figura 2. Segni clinici di infezione da *Coxiella burnetii* nel bovino



Tabella 4. Dati che sempre dovrebbero accompagnare l'invio di materiale biologico al laboratorio

Scheda di accompagnamento per l'invio di materiale diagnostico in caso di aborto				
Medico veterinario				
Allevamento				
Codice aziendale				
N° della bovina		N° parti		
Data ultima FA		Data aborto		
Vaccinazioni	Tipo di vaccino		Data ultima vaccinazione	
	Tipo di vaccino		Data ultima vaccinazione	
Stato sanitario al momento dell'aborto				
Materiale inviato (barrare)	Placenta (3 cotiledoni)		Si	No
	Feto intero		Si	No
	Organi del feto		Si	No
	Sangue della madre		Si	No

effettuata utilizzando enzimi di restrizione, si riconoscono più sottotipi virali [23, 30]: BoHV-1.1. e BoHV-1.2a, isolati soprattutto in corso di forme respiratorie; BoHV-1.2b, isolato con maggiore frequenza in corso di patologie genitali.

Per quanto riguarda le caratteristiche genetiche e antigeniche, i ceppi di BoHV-1 sono molto simili tra loro e le differenze antigeniche non influenzano la risposta immunitaria alle vaccinazioni. La principale fonte di infezione è costituita dai bovini infetti e la trasmissione avviene, di regola, per contatto diretto del virus con le mucose delle vie respiratorie superiori, genitali e, a volte, congiuntivali. Il virus penetra nel tratto respiratorio tramite aerosol (a brevi distanze) oppure per

contatto diretto con particelle virali presenti nelle secrezioni nasali degli animali infetti in fase acuta o degli animali sani escretori, dopo riattivazione dell'infezione latente. Il virus, durante la fase di infezione, raggiunge il torrente circolatorio infettando i monociti e, aderendo alla superficie dei linfociti, diffonde (fase viremica transitoria dell'infezione) a vari distretti organici, quali il tratto digestivo, le ovaie e il feto.

Lo stato di latenza si instaura anche in seguito a vaccinazione con vaccini vivi attenuati, in particolare dopo somministrazione per via intranasale. Nella fase di latenza, il DNA virale assume un aspetto circolare e rimane nel nucleo della cellula sotto forma episomiale, non integrato

Tabella 7. Esami eseguibili su invogli fetali e organi del feto, in funzione del sospetto diagnostico

Patogeno	Placenta	Cotiledoni	Organi del feto	
<i>Brucella</i> spp.	PCR	PCR	Esame colturale	Contenuto abomasale, cervello, fegato, polmone, milza
<i>Campylobacter fetus</i>	Esame colturale	Esame colturale	Esame colturale	Contenuto abomasale, fegato, polmone
<i>Chlamydomphila</i>	PCR	PCR	PCR	Polmone
<i>Coxiella burnetii</i>	PCR	PCR	PCR	Pool di organi (fegato, milza, polmone)
<i>Leptospirae</i>			Esame colturale	Contenuto abomasale, cervello, fegato, polmone, milza
<i>Listeria</i> spp.			Esame colturale	Contenuto abomasale, cervello, fegato, polmone, milza
<i>Salmonella</i> spp.			Esame colturale	Contenuto abomasale, fegato, polmone
<i>Neospora caninum</i>			PCR	Cervello
			Esame istologico	Cervello
Aborto micotico			Esame colturale	Campioni da aree sede di lesioni o da vari organi
BVD-MD	PCR	PCR	PCR	Pool di organi (fegato, milza, polmone)
IBR (BoHV-1)			PCR	
BoHV-4			PCR	
<i>Bluetongue virus</i>			PCR	
<i>Schmallenberg virus</i>			PCR	

## Formazione a distanza



**Foto 1.** L'infiammazione della trachea è un segno patognomonico dell'infezione da BoHV-1 (foto G. Valla, C. Manzoli).

con il genoma cellulare. L'espressione dei geni virali appare limitata a poche proteine, che non sono in grado di stimolare il sistema immunitario dell'ospite. Dal punto di vista epidemiologico, è fondamentale tener presente che il BoHV-1 in latenza può riattivarsi, iniziare un nuovo ciclo replicativo e, quindi, diffondere nell'ambiente. Tuttavia, la riattivazione non è necessariamente associata a re-escrezione virale. Infatti, la quantità di virus latente riattivato ed escreto è influenzata dalla presenza di una solida risposta immunitaria dell'animale: maggiore è la quantità di anticorpi neutralizzanti, minore (o del tutto assente) è l'escrezione virale (figure 3\* e 4\* e finestra 5\*).

La forma respiratoria è la manifestazione più comune di malattia sostenuta dal BoHV-1, che può essere evidenziata in animali di ogni età (foto 1). Tuttavia, nelle bovine non gravide, l'infezione può determinare ripercussioni gravi sull'attività riproduttiva, con la possibile comparsa di ooforite necrotizzante [31], mentre, nelle bovine gravide, si può avere aborto [32], anche in conseguenza di un'infezione subclinica (foto 2 e finestra 6\*).

• **Diarrea virale bovina-malattia delle mucose (BVD-MD):** il virus responsabile (BVDV) è un pestivirus appartenente alla famiglia *Flaviviridae*, che comprende il virus della peste suina classica (CSFV), il virus della *Border disease* (BDV) e due distinti genotipi di BVDV (BVDV tipo 1 e BVDV tipo 2) [finestra 7\*] [36].

A seguito dell'infezione per via digerente e/o respiratoria, il virus si moltiplica a livello mucosale (sito primario di replicazione) e, in particolare, infetta le tonsille dopo infezione per via oronasale. Il tropismo di BVDV per il tessuto linfoide trova riscontro nelle tipiche lesioni a carattere emorragico-ulcerativo che interes-

sano l'apparato gastroenterico, in particolare le placche del Peyer e le stazioni linfonodali. Le conseguenze dell'infezione variano in base alla virulenza del ceppo infettante e allo stato immunitario dell'animale, ma soprattutto in base al periodo di gestazione al momento dell'infezione. L'infezione post natale di soggetti non gravidi può essere causa di immunodepressione, diarrea, sindromi di tipo trombocitopenico/emorragico e disturbi della fertilità. Negli animali gravidi, l'infezione che raggiunge la placenta e il feto può determinare perdite embrionali precoci e tardive, aborto, anomalie congenite e sviluppo di un'infezione cronica, con nascita di soggetti immunotolleranti persistentemente infetti (PI) (tabella 3).

Nei soggetti immunotolleranti PI, il livello della viremia può raggiungere le 10.000 particelle virali per ml di sangue [39]. Quindi, tali soggetti, essendo escretori persistenti del virus, devono essere considerati come una continua fonte di infezione, rappresentando il cardine per il mantenimento e la diffusione dell'infezione nei gruppi di animali con i quali vengono a contatto (finestra 8\*).

Nell'approccio vaccinale, risulta cruciale la protezione verso i danni correlati all'infezione (immunosoppressione, disturbi della fertilità, aborti) e, soprattutto, la protezione verso l'infezione transplacentare e la conseguenza nascita di vitelli immunotolleranti persistentemente infetti (PI).

• **Bovine herpesvirus tipo 4 (BoHV-4):** è diffuso in tutto il mondo. Dal punto di vista antigenico è completamente diverso dagli altri herpesvirus del bovino, incluso BoHV-1. Quindi, i vaccini contro l'IBR (sia tradizionali che deleti) non sono efficaci nel controllo di BoHV-4. La sieroprevalenza è elevata, anche se, nella maggior parte dei casi, non si rileva alcuna sintomatologia. Il virus BoHV-4 è isolato di frequente dal tratto respiratorio e genitale. La trasmissione per via nasale è stata confermata sperimentalmente. Come accade per gli altri herpesvirus, anche BoHV-4 è in grado di indurre latenza.

Il virus è coinvolto nell'eziopatogenesi delle patologie *post partum* a carico dell'apparato riproduttore ed è considerato anche causa di aborto. Inoltre, è stata ipotizzata una stretta correlazione tra l'instaurarsi di un'endometrite batterica (che induce la secrezione di citochine pro infiammatorie, il richiamo di macrofagi persistentemente infettati dai distretti periferici) e la stimolazione della replicazione virale del BoHV-4, in grado di causare ulteriori danni e infiammazione a carico del tessuto endometriale [14, 20]. Il ruolo abortigeno del BoHV-4 è ancora in discussione, anche se, dal punto di vista epidemiologico, è stata eviden-

ziata una correlazione tra un'elevata sieroprevalenza e alti tassi di aborto [16].

L'aborto si verifica soprattutto dopo il 5° mese di gestazione e non presenta caratteri di tipicità, in termini sia di sintomi nella bovina sia di lesioni fetali che, spesso, sono assenti o non patognomoniche.

• *Blue tongue virus*: è trasmesso da insetti ematofagi del genere *Culicoides*, nei quali il virus sopravvive a lungo. È un virus a RNA, appartenente alla famiglia *Reoviridae*, genere *Orbivirus*. Sono conosciuti almeno 24 differenti sierotipi. Normalmente, l'infezione nel bovino esita in un'infezione asintomatica, caratterizzata comunque da una viremia di lunga durata, che rende i ruminanti un importante serbatoio di infezione. Tuttavia, il sierotipo 8, nel corso di un'epidemia verificatasi nel Nord Europa, ha mostrato un tasso elevato di virulenza anche nel bovino [18]. Il virus replica nel tratto digestivo dell'insetto, raggiunge le ghiandole salivari e viene trasmesso al bovino durante il pasto di sangue. Nel bovino, è stata descritta la trasmissione verticale in utero da madre a figlia. Durante la fase viremica (che può durare fino a 100 giorni circa), il virus raggiunge differenti distretti organici (milza e polmoni) ed è in grado di attraversare la placenta e dare luogo a infezioni congenite (finestra 9\*).

Nelle bovine gravide, l'infezione può determinare infertilità, mummificazione fetale, aborto, vitelli con malformazioni o natimortalità. In particolare, nell'infezione che avviene prima dei 100 giorni di gestazione, si possono avere perdite fetali precoci o aborti, mentre l'infezione, dopo il 150° giorno non esita, di norma, nell'interruzione della gravidanza. I feti abortiti non presentano segni patognomoniche.

• *Schmallenberg virus*: appartenente alla famiglia *Bunyaviridae*, genere *Orthobunyavirus*, è trasmesso da differenti *Culicoides* (*C. obsoletus complex*, *C. chiopterus* e *C. dewulfi*) (finestra 10\*) [12].

Per quanto riguarda i bovini adulti, l'infezione da SBV è stata associata alla comparsa di sintomi clinici poco specifici, quali febbre, diarrea, drastica riduzione della produzione del latte fino al 50%. La viremia indotta dal patogeno è, nel bovino, di breve durata ed è compresa tra i 2 e i 6 giorni [19]. In conseguenza dell'infezione da SBV, sono stati registrati casi di aborti, natimortalità e soprattutto malformazioni a livello congenito, episodi che sono comunque rari nel bovino.

Al momento, non esistono dati conclusivi per quanto riguarda il periodo durante il quale si verifica l'aborto da SBV. Tuttavia, in considerazione del fatto che le manifestazioni teratogeniche osservate, sia negli ovini sia nei bo-

vini, sono simili a quelli sostenuti dal virus Akabane e Aino, si ritiene che l'aborto possa verificarsi tra il 76° e il 174° giorno di gestazione [25]. In particolare, sono stati descritti feti di agnelli e vitelli con artrogrifosi, grave torcicollo, deviazioni della colonna vertebrale, idranencefalia (perdita degli emisferi cerebrali), ipoplasia cerebellare, anchilosi, opistotono e rigidità articolare. Al momento, l'infezione da SBV ha avuto un impatto limitato dal punto di vista zoeconomico, con un tasso di morbilità e mortalità inferiore al 3% [13].

### ► Aborto protozoario

• *Neospora caninum*: ha come ospite definitivo il cane. *N. caninum* è in grado di infettare, oltre al bovino, nel quale è causa di gravi conseguenze riproduttive, anche gli ovini, il bufalo, gli equini, i cervi [15] e, occasionalmente, la capra. Nel bovino, l'infezione da *N. caninum* è considerata la principale causa di aborto nel mondo [27]. *N. caninum* ha un ciclo vitale abbastanza simile a quello di *Toxoplasma gondii*, che però ha come ospite definitivo il gatto. Il ciclo vitale è caratterizzato da tre stadi infettivi: tachizoiti, cisti tissutali e oocisti (finestra 11\* e figura 5\*). La trasmissione verticale al feto si verifica per via transplacentare e si parla di infezione trasplacentare endogena in caso di recrudescenza di una pregressa infezione parassitaria e di infezione trasplacentare endogena in seguito a ingestione di oocisti sporulate durante la gravidanza. Le vie di trasmissione transplacentari sono entrambe in grado di indurre aborto, ma si ritiene che la principale sia quella endogena. La via verticale di trasmissione è la più efficiente e frequente mo-



**Foto 2.** L'aborto può essere determinato da un episodio clinico acuto, ma può subentrare come conseguenza di un'infezione sub-clinica, cosa che complica il processo diagnostico (foto G. Valla, C. Manzoli).

dalità di infezione del feto e, in assenza di aborto, dà luogo a infezione della progenie e gioca un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'infezione in allevamento. La riattivazione di un'infezione latente può portare ad aborto, evento che dipende dal periodo di gestazione [4] e dalle interazioni che avvengono tra ospite (bovina gravida) e parassita. Tuttavia, almeno in condizioni sperimentali, l'infezione da *N. caninum* esita inevitabilmente nell'infezione del feto. Il sintomo principale dell'infezione da *N. caninum*, nelle bovine da latte e da carne, è l'aborto. Le bovine possono abortire a partire dal 3° mese di gestazione [4] e la maggior parte degli aborti si verifica tra il 5° e il 6° mese. In ogni caso, non si può escludere che il patogeno possa avere un ruolo anche nelle perdite fetali precoci. Recentemente, è stato dimostrato che l'infezione artificiale con tachizoiti di *N. caninum* al 210° giorno (7° mese) di gravidanza non induce aborto [4]. Inoltre, le tipiche lesioni focali nei placentomi (foci di necrosi coagulativa o citolisi dei villi fetali), sono risultate ridotte rispetto a quelle che si rilevano nelle prime fasi di gravidanza. In conseguenza dell'infezione, il feto può essere espulso, morire in utero e andare incontro a mummificazione o autolisi. Si può inoltre avere la nascita di vitelli disvitali, o nati vivi, ma con segni neurologico-muscolari (atassia, barcollamenti, arti flessi o iperestesi), con diminuzione dei riflessi patellari e perdita di coscienza. Occasionalmente, i vitelli possono nascere con malformazioni (idrocefalo o alterazioni del midollo spinale). Molti vitelli (fino al 95%), tuttavia, nascono sani, ma possono essere infetti.

L'aborto da *Neospora caninum* non presenta caratteri di stagionalità e può presentarsi in modo epidemico (normalmente correlato alla prima infezione in allevamento) o endemico (di frequente legato all'infezione transplacentare endogena), che può essere conseguenza di un pregresso episodio di aborto epidemico. L'aborto da *N. caninum* è definito epidemico se gli episodi abortivi si concentrano nel tempo (circa il 15% delle bovine gravide che abortiscono nel giro di 8 settimane oppure il 10% delle bovine gravide che abortiscono nel giro di 6 settimane). Al contrario, si parla di aborto endemico quando gli aborti si manifestano nel corso di alcuni mesi o anni. In una stalla con presenza endemica dell'infezione, solo una certa percentuale di animali (fino al 5%) presenta ripetuti casi di aborto.

• *Trichomonas foetus*: è responsabile di trichomoniasi, una malattia a trasmissione sessuale. L'infezione da *T. foetus* si localizza a livello del pene, del prepuzio e dell'uretra distale dei tori infetti ed è trasmessa alle bovine durante

il coito con le secrezioni prepuziali [35]. I tori adulti mostrano di frequente un'infezione cronica. L'infezione nelle manze e nelle bovine adulte induce fallimenti riproduttivi, con ritorni in calore fuori ciclo, imputabili alla morte embrionale. Altri sintomi rilevabili includono: endometrite, salpingite e placentite. L'aborto si manifesta principalmente nel 1° trimestre di gravidanza e può essere seguito da piometra. All'infezione può seguire un periodo di infertilità, che può durare anche alcuni mesi. La pratica della fecondazione artificiale ha ridotto, fino ad annullarlo, il rischio di trasmissione di questo protozoo [38].

### Protocollo diagnostico

#### 1. Diagnosi clinica di morte embrionale tardiva e fetale precoce

Non sono disponibili test clinici che permettano di diagnosticare la mancata fertilizzazione o la morte embrionale precoce (6°-17°-22° giorno di gestazione). È invece possibile realizzare in campo la diagnosi di morte embrionale tardiva (25°-42° giorno di gestazione) e di morte fetale precoce (42°-90° giorno di gestazione). Questa diagnosi si avvale dell'uso dell'ultrasonografia, in quanto i test biochimici oggi disponibili per la diagnosi di gestazione hanno un'ottima specificità (diagnosi di animali sicuramente negativi), ma hanno una sensibilità relativamente bassa, diagnosticando come positivi tutti gli animali con una morte embrionale tardiva (finestra 12\*). L'esame ultrasonografico si può effettuare durante le visite ginecologiche routinarie sul campo, anche con una unità ecografica ultraportatile. Ovviamente la qualità dello strumento, il suo set up, l'esperienza del tecnico e le condizioni ambientali di lavoro (in ragione del tipo di schermo utilizzato) hanno un'importanza fondamentale. Questa diagnosi si basa sulla valutazione di otto differenti parametri:

- presenza dell'embrione;
- presenza del battito cardiaco;
- anecogenicità del liquido amniotico e allantoideo;
- quantità dei liquidi embrionali/fetali;
- dimensioni dell'embrione;
- separazione della membrana corion allantoidea;
- rottura della membrana amniotica;
- edema dell'endometrio (finestra 13\* e 14\*).

#### 2. Diagnosi di aborto precoce e tardivo

##### ► Raccolta dati anamnestici

La raccolta anamnestica è fondamentale, sia per le singole bovine che hanno abortito sia per la mandria. Più in particolare, per le singole bovine che abortiscono, i dati da raccogliere sono:

- mese di gestazione al momento dell'aborto;

- numero dei parti (*parity*);
- stato clinico della bovina al momento dell'aborto e nel mese precedente l'aborto.

In caso di aborto, è sempre opportuno inviare al laboratorio l'intero feto (se possibile), la placenta (almeno 3 cotiledoni) e il siero della madre.

A livello di mandria, i dati utili sono:

- incidenza (%) degli aborti nell'ultimo anno. Se possibile, soprattutto quando si sospetta la presenza di aborti sostenuti da *Neospora caninum*, sarebbe importante acquisire i dati relativi alla % di aborti negli ultimi 3 anni. Inoltre, è opportuno valutare l'incidenza degli aborti anche nelle figlie delle bovine che hanno abortito negli anni precedenti, al fine di valutare una possibile correlazione, tra aborti nelle madri e nelle figlie, che possa fare sospettare una trasmissione verticale dell'infezione;
- distribuzione stagionale degli aborti, con particolare riferimento al periodo estivo;
- eventuale recente introduzione di nuovi animali in allevamento;
- eventuali interventi vaccinali eseguiti nell'anno precedente all'episodio abortivo.

### 3. Campionamento

Il secondo passo verso una corretta diagnosi di aborto è la raccolta dei campioni. A tal proposito è determinante quali campioni si raccolgono, come vengono raccolti e come vengono inviati al laboratorio di riferimento (tabella 4).

#### ► Indagini da eseguire sui campioni di siero ottenuti dal sangue delle bovine

Volendo orientare il sospetto diagnostico, è possibile eseguire sul siero del sangue materno, indagini sierologiche o virologiche. Si deve prelevare il sangue di tutte le bovine che hanno abortito negli ultimi 15 giorni e il sangue di almeno 3 bovine che non hanno abortito, provenienti dallo stesso gruppo di quelle che hanno abortito (tabella 5\*).

Il siero è sottoposto a valutazione degli anticorpi verso IBR, BVD/MD, Herpesvirus tipo 4, Febbre Q, *Neospora caninum*, *Leptospira* (tabella 6\*).

#### ► Indagini da eseguire sul latte di massa

La valutazione della presenza di *Coxiella burnetii* e/o BVD (mediante PCR) può essere utile al fine di accertare la presenza in allevamento dei due patogeni. I campioni di latte di massa destinati alla ricerca di *Coxiella burnetii* possono essere congelati, prima dell'invio, mentre per BVD è opportuno che il campione sia inviato in laboratorio in condizioni di refrigerazione (tra +2 e +8 °C). Tuttavia, occorre ricordare che la sola presenza del patogeno nel latte non è indicativa della causa dell'aborto, che deve essere confermata dall'eventuale isolamento del patogeno dal feto e/o dagli invogli fetali.

#### ► Indagini su feti abortiti e invogli fetali

Sugli invogli fetali e sui feti abortiti è possibile eseguire un cospicuo numero di esami: PCR, esami colturali su placente e cotiledoni, contenuto abomasale del feto abortito, cervello, milza, fegato e polmoni. Sul feto è anche possibile eseguire un test PCR a partire da un pool di organi (tabella 7).

#### ► Modalità di prelievo e invio del materiale diagnostico

Il feto deve essere inviato il più presto possibile (entro 12-24 ore dall'aborto) al laboratorio diagnostico, refrigerato (+2/+8 °C). Quando possibile, inviare anche la placenta (almeno 3 cotiledoni) e un campione di siero materno, allegando la scheda di rilevazione dei dati anamnestici (tabella 4). Il feto deve essere posto in un doppio sacco di plastica. Se non è possibile inviare il materiale entro 24 ore, si può procedere al congelamento: questa procedura consente di eseguire le indagini biomolecolari (PCR), ma preclude la possibilità di procedere, in modo attendibile, alle indagini colturali. Quando il feto è di grandi dimensioni, l'invio *in toto* al laboratorio può risultare difficile/impossibile; in questi casi, si può procedere a una necropsia del feto, prelevando i campioni necessari per la diagnosi.

Per l'esecuzione della necropsia, è utile predisporre un set di contenitori sterili a tenuta stagna, alcuni contenenti formalina tamponata al 10%, utili per l'esecuzione degli esami istologici. Si procede con il prelievo dei principali organi (fegato, milza, polmoni, rene e timo), con l'apertura della scatola cranica per il prelievo del cervello e, infine, con la raccolta del contenuto del quarto stomaco. È sempre opportuno, se disponibile, inviare anche la placenta. Il materiale deve essere inviato refrigerato (+2/+8 °C) o congelato, con i limiti diagnostici già espressi in precedenza.

### Interpretazione del dato diagnostico

- Il dato sierologico, che evidenzia la presenza di una risposta anticorpale verso un determinato patogeno, fornisce indicazioni valide unicamente per quanto riguarda l'orientamento del sospetto diagnostico e non consente di formulare una diagnosi di certezza.

- L'eventuale valutazione della sierconversione, accertata con un doppio prelievo (fase acuta e convalescente), consente di evidenziare l'avvenuta infezione nel periodo intercorrente tra i due prelievi. In questo caso, si può orientare in modo più preciso il sospetto diagnostico, ma non è possibile trarre conclusioni certe per quanto attiene l'effettiva causa di aborto.

- L'identificazione del patogeno (mediante coltura o procedure di biologia molecolare) è indicativa di un forte sospetto diagnostico. Si può giungere alla diagnosi di certezza quando all'identificazione

del patogeno si associa il rilievo di specifiche lesioni istopatologiche, correlate all'azione patogena svolta dall'agente infettivo rilevato;

• nel caso in cui le indagini diagnostiche diano esito negativo, non è possibile formulare un sospetto per quanto attiene le possibili cause infettive.

### Conclusioni

La diagnosi precoce di sofferenza e/o di morte embrionale tardiva/fetale precoce è di fondamentale importanza nella gestione ginecologica della mandria. L'importanza di una diagnosi rapida è molto importante per poter attivare tutte le misure profilattiche e preventive e contrastare la diffusione del problema.

L'ecografia non solo è utile per una diagnosi altrimenti impossibile, ma permettendo un sospetto diagnostico, impone un approfondimento sulle possibili cause del fenomeno. La qualità dello strumento utilizzato, il suo set up e le condizioni ambientali di lavoro sono fattori estremamente importanti nel determinare la qualità e soprattutto la precocità della diagnosi.

In caso di aborto precoce o tardivo, l'identificazione della causa di uno o più episodi abortivi è sicuramente una delle sfide più difficili e spesso frustranti che il medico veterinario deve affrontare. Una raccolta anamnestica completa e accurata, l'applicazione di una tempestiva e corretta procedura di campionamento e l'invio del materiale diagnostico al laboratorio di riferimento sono tappe fondamentali per poter avere risposte rapide e convincenti.

Il costante miglioramento delle metodiche diagnostiche applicate nei laboratori consente di formulare, in molti casi, un forte sospetto diagnostico per gli aborti da cause infettive.

### Bibliografia

1-Anderson M.L. Infectious causes of bovine abortion during mid to late-gestation. *Theriogenology*, 2007; vol. 68: pp. 474-486.  
2-Baker J. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 1995; vol. 11, n. 3: pp. 425-443.  
3-Barberio A. Approccio diagnostico agli aborti bovini. Corso di formazione IZS Venezia, Ordine dei Medici veterinari di Trento, 18 dicembre 2009.  
4-Benavides J., Katzer F., Maley S.W., Bartley P.M., Cantón G., Palarea-Albaladejo J., Purslow C.A., Pang Y., Rocchi M., Chianini F., Buxton D., Innes E.A. High rate of transplacental infection and transmission of *Neospora caninum* following experimental challenge of cattle at day 210 of gestation. *Vet. Res.*, 2012; vol. 10: pp. 43-83.  
5-Bolin S.R., McClurkin A.W., Coria M.F. Effects of bovine viral diarrhoea virus on the percentages

and absolute numbers of circulating B and T lymphocytes in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1985; vol. 46: pp. 884-886.

6-Borel N., Ruhl S., Casson S., Kaiser C., Pospischil A., Greub G. Parachlamydia spp. and related Chlamydia-like organisms and bovine abortion. *Emerg. Infect. Dis.*, 2007; vol. 13: pp. 1904-1907.  
7-Borel N., Thoma R., Spaeni P., Weilenmann R., Teankum K., Brugnera E. Chlamydia-related abortions in cattle from Graubünden, Switzerland. *Vet. Pathol.*, 2006; vol. 43: pp. 702-708.

8-Brodersen B.W., Kelling C.L. Alteration of leukocyte populations in calves concurrently infected with bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus. *Viral Immunol.*, 1999; vol. 12: pp. 323-334.

9-Brodersen B.W., Kelling C.L. Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infection on respiratory tract and enteric diseases in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1998; vol. 59: pp. 1423-1430.

10-Cavirani S. La diarrea virale del bovino - Il virus. *UTET Divisioni periodici*, 2002.

11-Coleman, S.A., Fischer, E.R., Howe, D., Mead, D.J., Heinzen, R.A. Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation. *J. Bacteriol.*, 2004; vol. 186: pp. 7344-7352.

12-De Regge N., Deblauwe I., De Deken R., Vantieghem P., Madder M., Geysen D., Smeets F., Losson B., van den Berg T., Cay A.B. Detection of Schmallenberg virus in different *Culicoides* spp. by real-time RT-PCR. *Transbound Emerg. Dis.*, 2012, vol. 59: pp. 471-475.

13-Doceul V., Lara E., Sailleau C., Belbis G., Richardson J., Bréard E., Viarouge C., Dominguez M., Hendrikx P., Calavas D., Desprat A., Languille J., Comtet L., Pourquier P., Eléouët J.F., Delmas B., Marianneau P., Vitour D., Zientara S. Epidemiology, molecular virology and diagnostics of Schmallenberg virus, an emerging orthobunyavirus in Europe. *Vet. Res.*, 2013; vol. 44: pp. 31.

14-Donofrio G., Cavirani S., van Santen V., Flammini C.F. Potential secondary pathogenic role for bovine herpesvirus 4. *J. Clin. Microbiol.*, 2005; vol. 43: pp. 3421-3426.

15-Dubey J.P., Schares G., Ortega-Mora L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinic. Microbiol. Rev.*, 2007; vol. 20: pp. 323-367.

16-Frazier K.S. Seroprevalence and comparison of isolates of endometriotropic bovine herpes virus -4. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2002; vol. 14: pp. 457-460.

17-Ganheim M.D., Hulten C., Carlsson U. The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhoea virus and/or *Mannheimia haemolytica*. *J. Vet. Med. B* 2003; vol. 50: pp. 183-190.

18-Guyot H., Mauroy A., Thiry E., Losson B., Bodmer

- M., Kirten P., Rollin F., Saegerman C. Description clinique des cas de FCO survenus au Nord de l'Europe durant l'été et l'automne 2006. *Bulletin GTV* 2007; vol. 39: pp. 89-96.
- 19-Hoffmann B., Scheuch M., Hoper D., Jungblut R., Holsteg M., Schirmer H., Eschbaumer M., Goller K.V., Wernike K., Fischer M., Breithaupt A., Mettenleiter T.C., Beer M. Novel orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012; vol. 18: pp. 469-472.
- 20-Jacca F., Franceschi V. La flogosi nelle patologie uterine del bovino e il ruolo del BHV-4. *Rivista di Medicina veterinaria* 2013; vol. 49, n. 2: pp. 28-32.
- 21-Jee J.B., Degraeves F.J., Kim T.Y., Kaltenboeck B. High prevalence of natural Chlamydia species infection in calves. *J. Clin. Microbiol.*, 2004; vol. 42, n. 12: pp. 5664-5672.
- 22-Kaltenboeck B., Hehnen H.R., Vaglenov A. Bovine Chlamydia spp infection: do we underestimate the impact on fertility? *Vet. Res. Commun.*, 2005; pp. 1-15.
- 23-Kelling C.L., Steffen D.J., Cooper V.L. Effect of infection with bovine viral diarrhea virus alone, bovine rotavirus alone, or concurrent infection with both on enteric disease in gnotobiotic calves. *Am. J. Vet. Res.*, 2002; vol. 63: pp. 1179-1186.
- 24-Kirkbride C.A. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1992; vol. 4: pp. 374-379.
- 25-Kirkland P.D., Barry R.D., Harper P.A., Zelski R.Z. The development of Akabane virus-induced congenital abnormalities in cattle. *Vet. Rec.*, 1988; vol. 122: pp. 582-586.
- 26-Knudtson W.U., Kirkbride C.A. Fungii associated with bovine abortion in the northern plains states (USA). *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1992; vol. 4: pp. 181-185.
- 27-Larson R.L., Hardin D.K., Pierce V.L. Economic considerations for diagnostic and control options for Neospora caninum-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2004; vol. 224: pp. 1597-1604.
- 28-Liebler-Tenorio E.M., Ridpath J.E., Neill J.D. Distribution of viral antigen and development of lesions after experimental infection of calves with a BVDV 2 strain of low virulence. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2003; vol. 15: pp. 221-232.
- 29-López-Gatius F., Almería S., García-Ispuerto I. Serological screening for Coxiella burnetii infection and related reproductive performance in high producing dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 2012; vol. 93, n. 1: pp. 67-73.
- 30-Metzler A.E., Matile H., Gassman U., Engels M., Wyler R. European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Arch. Virol.*, 1985; vol. 85: pp. 57.
- 31-Miller J.M., Van Deer Maaten M.J. The effect of IBR infection on reproductive function of cattle. *Vet. Med.*, 1991; vol. 95: pp. 95-98.
- 32-Miller J.M., Whetstone C.A., Van Deer Maaten M.J. Abortifacient property of bovine rhinotracheitis type 1 isolates that represents three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. *Am. J. Vet. Res.*, 1991; vol. 52: pp. 458-461.
- 33-Misra V., Babiuk L.A., Le Q., Darcel C. Analysis of bovine herpesvirus-type 1 isolates by restriction endonuclease fingerprinting. *Arch. Virol.*, 1983; vol. 76: pp. 341.
- 34-Potgieter L.N., McCracken M.D., Hopkins F.M., Walker R.D. Effect of bovine viral diarrhea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1984; vol. 45: pp. 687-690.
- 35-Rhyan J.C., Wilson K.L., Wagner B., et al. Demonstration of Tritrichomonas foetus in the external genitalia and of specific antibodies in preputial secretions of naturally infected bulls. *Vet. Pathol.*, 1999; vol. 36: pp. 406-411.
- 36-Ridpath J.F., Bolin S.R., Dubovi E.J. Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes. *Virol.*, 1994; vol. 205: pp. 66-74.
- 37-Roizman B., Desroisiers R.C., Fleckenstein B., Lopez C., Minson A.C., Studdert M.J. The family Herpesviridae. *Arch. Virol.*, 1992; vol. 123: pp. 423.
- 38-Sanderson M.W., Gnod D.P. Biosecurity for reproductive disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2002; vol. 18: pp. 79-98.
- 39-Thiry E. Clinician virology of ruminants. *Les Éditions de Le Point Vétérinaire*; 2007.
- 40-Valla G., Bizzarri D., Ferrari G., Bussacchini M. Prevalenza di Coxiella burnetii nel latte di massa in allevamenti di bovina dal latte italiano e possibile correlazione con problemi riproduttivi. *Large Anim. Rev.*, 2014; vol. 2, n. 20: pp. 51-56.
- 41-Walker R.L. Bovine venereal campylobacteriosis. In: Howard J.L., editor, Smith R.A., Assoc. editor, *Current veterinary therapy food animal practice*, 4th ed. WB Saunders Co. 1999; p. 323-326.
- 42-Yaeger M.J., Holler L.D. Bacterial causes of bovine infertility and abortion. In: Youngquist R.S., Threlfall W.R., editors. *Current therapy in large animal theriogenology*. 2nd ed., WB Saunders Co. 2007; pp. 389-398.

*\*Il materiale accessorio è disponibile online per gli utenti che hanno acquistato il percorso FAD: "Buiatria oggi: sfide, problemi e soluzioni".*