

REVISTA PORTUGUESA DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Volume 114

Nº 611-612

Ano 2019



PROPRIEDADE

Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias

FUNDADOR

J. V. Paula Nogueira

EDITOR

Maria dos Anjos Pires

Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias,
FMV –Polo Universitário do Alto da Ajuda, Av. da Universidade Técnica,
1300-477 Lisboa / Portugal
Tel. 21 358 02 22
E-mail: spcv.pt@gmail.com
www.spcv.pt

ISSN-0035-0389

Resumos da XXIV Reunião da Sociedade Portuguesa de Patologia Animal

15-16 de Junho de 2019

Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, Vila Real

Patologia de Animais Exóticos, Selvagens e de Espécies Cinegéticas**Abstracts of XXIV Meeting of the Portuguese Society of Pathology**

15-16 June 2019

University of Trás os Montes e Alto Douro, Vila Real

Pathology of Exotic, Wildlife and Game Animals**Ligações perigosas: casos de endoparasitoses em animais exóticos e lesões associadas**

Inês B. Veiga

Institut für Tierpathologie, Vetsuisse Bern, Universität Bern,
Länggassstrasse 122, 3012 Berna, Suíça
ines.veiga@vetsuisse.unibe.ch, +41 316312416

A ocorrência de endoparasitoses é frequentemente observada em animais exóticos, muitas vezes em associação com doença clínica. Nesta apresentação oral, serão discutidos casos emblemáticos de endoparasitoses e respectivas lesões macroscópicas e histológicas, registadas em várias espécies de animais exóticos, pelo serviço de necrópsias da Vetsuisse Bern. A ocorrência de equinocose alveolar em primatas e de dicrocoeliose em camelídeos do Novo Mundo ilustra, de maneira exemplar, como a desadequação de um dado hospedeiro a um novo habitat pode estar associada a uma maior susceptibilidade de ocorrência de doença clínica após contacto com parasitas autóctones. Por outro lado, a ocorrência de infeções com tremátodes intravasculares da família Spirorchiidae em vários exemplares de cágado-de-carapaça-estriada (*Emys orbicularis*) ilustra como uma endoparasitose pode comprometer iniciativas de reintrodução de espécies autóctones no seu habitat natural. Finalmente, a ocorrência de serratospiculose num grupo de falcões peregrinos (*Falco peregrinus*) e falcões gerifaltes (*Falco rusticolus*) cativos demonstra como mesmo espécimens submetidos a desparasitações profiláticas regulares não estão isentos de ser infectados por endoparasitas normalmente identificados em animais selvagens.

Dangerous liaisons: cases of endoparasitosis in exotic animals and associated lesions

Inês B. Veiga

Institute of Animal Pathology, Vetsuisse Bern, University of Bern,
Länggassstrasse 122, 3012 Bern, Switzerland
ines.veiga@vetsuisse.unibe.ch, +41 316312416

The coevolution process between a given host and its respective endoparasites is dynamic and prolonged in time. It involves the development of new resistance mechanisms by the host, which in turn leads to the development of new virulence factors by the endoparasite. When new factors such as host immunodepression lead to an unbalance in this interspecific interaction, endoparasitosis can lead to disease and even death in the most severely affected animals.

Endoparasitosis is frequently observed in exotic animals and it is often associated with clinical disease. In this oral presentation, emblematic endoparasitosis cases and respective macroscopic and histologic lesions from the necropsy diagnostic service from the

Vetsuisse Bern will be discussed. The occurrence of alveolar echinococcosis in primates and of dicrocoeliosis in New World camelids are good examples of how the introduction of a given host into a new habitat can be associated with a bigger susceptibility for clinical disease following contact with autochthonous endoparasites. Additionally, infections with intravascular trematodes from the Spirorchiidae family in European pond turtles (*Emys orbicularis*) show how endoparasitosis may seriously undermine efforts to reintroduce endangered species back in their original habitats. Finally, the occurrence of serratospiculosis in a group of captive peregrine (*Falco peregrinus*) and gyrfalcons (*Falco rusticolus*) shows how even regular prophylactic deworming is sometimes unable to prevent infection with endoparasites that are most commonly identified in wild animals.

Aves exóticas: patologias mais frequentesMadalena Monteiro¹, Paulo Carvalho¹, Paula Mendonça¹, Teresa Albuquerque², Teresa Faguiha³, Margarida Henriques³¹Laboratório de Patologia. ²Laboratório de Bacteriologia.
³Laboratório de Virologia- Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Oeiras, Portugal

A criação de aves exóticas continua a ser uma actividade muito apreciada, pois a sua procura como animais de companhia é cada vez mais frequente não só pela sua beleza e canto como também pela capacidade de vocalização de algumas delas. No entanto, o comércio internacional/tráfico de aves e as novas condições de criação provocaram o aparecimento e a disseminação de patologias responsáveis por elevadas mortalidades colocando mesmo em risco a sobrevivência de algumas espécies. Entre as doenças mais frequentes estão as infeções de etiologia vírica dos psitacídeos, das quais se salientam a doença do bico e das penas provocada pelo circovírus e a doença da dilatação do proventrículo provocada por um bornavírus. Das doenças bacterianas continuam a destacar-se as infeções por *Yersinia pseudotuberculosis*, *Salmonella* sp. e *Chlamydia psittaci*. As micobacterioses são muito relevantes nos passeriformes. Pela sua frequência salientam-se as infeções por fungos nomeadamente do género *Aspergillus*, muitas delas como consequência da imunodeficiência provocada pela circovirose dos psitacídeos. Nos passeriformes as megabactérias assumem especial destaque. Por último são descritos alguns casos de patologia não infecciosa com especial relevância para as neoplasias e as perturbações metabólicas em aves mantidas em cativeiro.

Exotic birds: most frequent pathologies

Madalena Monteiro¹, Paulo Carvalho¹, Paula Mendonça¹, Teresa Albuquerque², Teresa Fagulha³, Margarida Henriques³

¹Laboratório de Patologia. ²Laboratório de Bacteriologia.

³Laboratório de Virologia- Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Oeiras, Portugal

The breeding of exotic birds continues to be a highly appreciated activity since their search as companion animals is increasingly frequent not only for its beauty and singing but also for their vocalization skills. However, international trade / bird traffic and the new breeding conditions have led to the emergence and spread of pathologies with high mortalities rates, putting the survival of some species at risk. Among the most frequent diseases are psittacines viruses, especially the Beak and Feathers Disease (BFD) caused by circovirus and the Proventricular Dilatation Disease (PDD) caused by a bornavirus. Bacterial diseases such as those caused by *Yersinia*, *Salmonella* and *Chlamydia* important findings. Diseases caused by fungi are also common findings namely in immunocompromised birds affected by circovirus. In passerine, infections by megabacteria and mycobacteria are of foremost importance. The authors will also describe some non-infectious diseases, namely metabolic disorders in captive birds.

Patologia de animais exóticos - O que procuram os clínicos?

Rui Patrício

All Pets – Clínica Veterinária de Tires, Portugal

A medicina veterinária de animais exóticos, tal como as restantes áreas da medicina veterinária, tem evoluído e hoje em dia os animais exóticos entraram definitivamente nas casas de várias pessoas.

A procura do diagnóstico definitivo para que seja possível aumentar o sucesso do tratamento, melhorar as condições de manutenção e a dieta e prevenir doenças futuras em coleções de vários animais, é um imperativo da medicina veterinária de animais exóticos. Neste sentido a histopatologia é uma ferramenta extremamente importante, e nalguns casos imprescindível, para a obtenção de melhores resultados no tratamento, prevenção e compreensão da fisiopatologia de várias doenças.

Mas afinal, o que procuram os veterinários clínicos? Bem, essa é a resposta que vou procurar responder ao longo desta apresentação.

De um modo geral, os veterinários de animais exóticos ainda recorrem pouco aos patologistas e apenas o fazem quando é estritamente necessário. Porquê? Falta de conhecimento, falta de confiança nos resultados ou falta de apoio por parte dos patologistas, podem estar na origem deste problema.

O diagnóstico anatomo-patológico é muitíssimo importante. É importante em doenças mais comuns, como clamidíose, doença do bico e das penas, linfoma ou mixomatose, para confirmação do problema. É importante para o diagnóstico definitivo de miosite idiopática disseminada, síndrome de dilatação proventricular ou criptosporidiose.

É também muito importante que os veterinários clínicos saibam o que pretendem procurar e cumpram as regras de colheita e envio de material para análise. É importante também que os veterinários patologistas saibam o que encontrar e digam como querem o envio e colheita de amostras. Se estas duas premissas se encontrarem seremos todos beneficiados, clínicos,

patologistas, animais e tutores. O que, na realidade é o que procuramos.

Citologia em aves: a ponte entre a clínica e a patologia - casos práticos

Pedro Nunes

Parque Ornitológico de Lourosa, Portugal

O médico veterinário de aves é frequentemente confrontado com pacientes que apresentam sintomatologia pouco específica, transversal a inúmeras doenças. O facto das aves, na sua maioria, evidenciarem sintomas tardiamente no curso da doença, associado à grande facilidade de propagação de uma doença dentro de um bando, obriga o clínico a procurar ferramentas de diagnóstico que forneçam respostas de forma célere. Esta é uma das vantagens da citologia que orienta assim o clínico na direção do diagnóstico definitivo. No entanto, a citologia não preserva a arquitetura dos tecidos, não define as margens da lesão e a representatividade dos achados pode mesmo ser enganosa. Não sendo totalmente completa, a citologia, faz a ligação entre a consulta e o laboratório, funcionando como uma ponte e, por este motivo, comumente enquadrada no que se denomina de patologia clínica. A Micobacteriose, a Aspergilose, a Histomoníase, a Atoxoplasmose e a Poxvírose são alguns exemplos práticos de várias patologias que, sendo idealmente diagnosticadas por outros exames auxiliares de diagnóstico, como a bacteriologia, a histopatologia ou a genética molecular, veem na citologia uma solução prática e económica, por vezes temporária e intermédia, mas sempre útil e orientativa. Ainda que o universo da citologia abarque também a obtenção de amostras no animal vivo, esta apresentação está direcionada à vertente prática de atuação em casos de morbidade e mortalidade elevadas em grupos de aves, pelo que se centra principalmente na obtenção de informação a partir da necropsia. Esta vertente da citologia aproxima-se mais da histopatologia permitindo chegar de forma mais fiável a um diagnóstico, definir o progresso da doença, direcionar a terapia e estabelecer um prognóstico.

A citologia é uma modalidade de diagnóstico baseada no estudo das células. Atualmente, a disponibilidade comercial de diferentes corantes e o desenvolvimento de técnicas de coloração simplificadas, permite ao clínico obter resultados em apenas alguns passos laboratoriais simples.

Exemplos disso são a coloração Diff-Quik, Gram, Azul de Metileno e as diferentes modificações da coloração de Ziehl Neelsen.

Já amplamente utilizado nos pequenos animais, o Diff-Quick mantém a sua importância na citologia de aves, sendo a primeira coloração de escolha e o ponto de partida para colorações mais específicas. Esta técnica possui um protocolo simples de emersão consecutiva em três soluções, mas a qualidade obtida depende significativamente da sensibilidade do operador, tornando-se necessário, por vezes, alterar os tempos de exposição protocolados. Patologias como a Atoxoplasmose, a Histomoníase e a Poxvírose podem ser diagnosticadas por este meio.

De cada amostra recolhida o clínico deve preparar várias lamínas com o intuito de possuir material para estudo, caso na coloração de Diff-Quik encontre achados que sugiram a necessidade de recorrer a colorações mais direcionadas à respetiva suspeita. A técnica simplificada de Ziehl Neelsen para coloração de microorganismos álcool-ácido resistentes apresenta várias modificações que lhe conferem uma grande versatilidade, englobando o diagnóstico de agentes tão importantes como o *Micobacterium*, o *Cryptosporidium* ou a *Chlamydophyla*.

Por sua vez, a coloração Gram permite definir, juntamente com a avaliação morfológica do agente e o seu enquadramento na origem da amostra, a categoria a que este pertence e a sua eventual importância patológica. Esta técnica inicialmente vocacionada para a classificação bacteriana é igualmente útil no diagnóstico de alguns tipos de fungos e microsporídios. À medida que o clínico vai aprofundando os seus conhecimentos no citodiagnóstico aviário consegue tirar partido de um largo espetro de técnicas de coloração, cuja principal finalidade é a obtenção de uma resposta rápida. Não obstante da sua utilidade a outros níveis, a citologia de aposição ou de impressão, vê a sua maior pertinência e aplicabilidade na clínica de efetivos numerosos como os encontrados em lojas de animais, criadores, parques zoológicos e exposições.

Tuberculose bovina em ungulados selvagens na Península Ibérica: epidemiologia e diagnóstico

Nuno Santos

CIBIO – Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, Universidade do Porto, Portugal

A tuberculose animal (TB) é uma doença zoonótica causada por infecção com *Mycobacterium bovis* e outros membros do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, cujos hospedeiros naturais são muitas espécies de mamíferos selvagens e domésticos.

A TB é uma doença sujeita a programas de controlo em bovinos domésticos em muitos países, por razões económicas, de saúde pública e de conservação da natureza. A prevalência em explorações bovinas na Península Ibérica foi de 2,3% em 2016, com grandes variações regionais. A tendência nos últimos anos foi de um ligeiro aumento da prevalência da TB nos bovinos domésticos, apesar de um investimento anual superior a 30 milhões de euros no controlo da doença. Na Península Ibérica, a TB é mantida num sistema multi-hospedeiros, envolvendo ungulados domésticos e selvagens. A epidemiologia destas doenças multi-hospedeiros é complexa e, portanto, menos previsível do que a das doenças de um único hospedeiro e, portanto, o seu controlo é particularmente difícil.

Nesta apresentação vou resumir a minha investigação sobre a epidemiologia da TB no sistema multi-hospedeiros da Península Ibérica, focada na avaliação de métodos de diagnóstico, na caracterização da excreção de *M. bovis* por ungulados selvagens infectados, na contaminação ambiental com micobactérias, na análise espacial da TB na fauna selvagem e na quantificação do papel das várias espécies na sua transmissão.

Criptococose sistémica em psitacídeos

Paulo M. Carvalho¹, Leonor Orge¹, Paula Mendonça¹, Narciso Lapão², Rui Bernardino², Teresa Fernandes², Ana Botelho¹, Madalena Monteiro¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Laboratório de Patologia, Av. da República Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras ²Jardim Zoológico de Lisboa, Estrada de Benfica, 158-160, 1549-004 Lisboa, Portugal

A Criptococose é uma importante micose sistémica, zoonótica e de distribuição mundial que afecta principalmente mamíferos e é causada por uma levedura da espécie *Cryptococcus neoformans* (*C. n. grubii* e *C. n. neoformans*), um microrganismo oportunista, e pelo *Cryptococcus gattii*, um agente patogénico primário. Outras espécies, como o *Cryptococcus albidus*, também foram descritas como patogénicas, principalmente em humanos imuno deprimidos. Apesar do *Cryptococcus* spp. ser

frequentemente isolado em excrementos de aves, representando assim uma potencial fonte de infeção, a ocorrência de doença em aves não é comum e não há consenso sobre a apresentação clínica da doença criptococócica. No entanto, alguns casos isolados foram descritos em algumas aves. Este trabalho descreve as características anatomohistopatológicas de uma Criptococose generalizada numa catatua confirmada por uma imunohistoquímica discriminatória, e relata, pela primeira vez, um caso de *C. albidus* causando doença num papagaio. Dois psitacídeos, uma catatua que não apresentava sintomas e um papagaio com sintomatologia respiratória e neurológica, foram enviados para necrópsia e recolhidas amostras de diferentes órgãos para exame histopatológico, bacteriológico e virológico. As espécies de *Cryptococcus* spp foram identificadas por técnicas de imunohistoquímica e por PCR. Ambas as aves apresentavam formações quísticas na cavidade celómica preenchidas por um líquido gelatinoso amarelado. Nas lesões microscópicas observaram-se estruturas leveduriformes compatíveis com *Cryptococcus* sp. O estudo imunohistoquímico da catatua permitiu concluir que se tratava de *Cryptococcus gattii* e no papagaio o PCR permitiu identificar *Cryptococcus albidus*. Em ambos os animais isolou-se *Escherichia coli* e no papagaio foi ainda detetado *Ascaridia* sp; a pesquisa de circovirus aviário foi negativa. O *Cryptococcus* spp deve ser considerado como um potencial agente patogénico mesmo em aves imunocompetentes.

Systemic cryptococcosis in psittacines

Paulo M. Carvalho¹, Leonor Orge¹, Paula Mendonça¹, Narciso Lapão², Rui Bernardino², Teresa Fernandes², Ana Botelho¹, Madalena Monteiro¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Laboratório de Patologia, Av. da República Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras ²Jardim Zoológico de Lisboa, Estrada de Benfica, 158-160, 1549-004 Lisboa, Portugal

Cryptococcosis is a worldwide important zoonotic systemic mycosis affecting mainly mammals caused by *Cryptococcus neoformans* (*C. n. grubii* and *C. n. neoformans*), an opportunistic pathogen, and *Cryptococcus gattii*, a primary pathogen. Other species, like *Cryptococcus albidus*, have been also reported as pathogen mainly in immunodeficient humans. Despite *Cryptococcus* spp. is commonly isolated from avian excreta, representing a putative source of infection, the occurrence of clinical disease in avian species is scarce and there is no agreement on the clinical presentation of cryptococcal disease. Nevertheless, some isolated cases have been described in some bird species. This work describes the anatomohistopathology of a generalized cryptococcosis in a cockatoo confirmed by a discriminatory immunohistochemistry as well as the first report of *Cryptococcus albidus* causing disease in a parrot. Two captive psittacines- a cockatoo (*Cacatua moluccensis*) without clinical signs and a parrot (*Amazona autumnalis autumnalis*) showing respiratory and neurological signs were necropsied; organs were collected for histopathology, bacteriology, parasitology and virology. *Cryptococcus* species were identified by PCR or immunohistochemistry. In both cases a yellow gelatinous cystic formation was observed in coelomic cavity; microscopic lesions were seen predominantly in the lungs, liver, kidney and encephalon with yeast like structures. *C. gattii* and *C. albidus* were confirmed in the cockatoo and in the parrot, respectively. In both animals *Escherichia coli* was isolated but none resulted positive for avian circovirus. *Ascaridia* sp. was observed in the parrot. *Cryptococcus* spp. should be considered a

potential avian pathogen even in immunocompetent hosts.

Achados de necropsia em mamíferos, répteis e anfíbios selvagens em num Centro Recuperação de Vida Selvagem no Norte de Portugal

Andreia Garcês^{1,2*}, Vanessa Soeiro³, Sara Lóio³, Justina Prada^{2,4}, Filipe Silva^{2,4}, Isabel Pires^{2,4}

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environment and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²Veterinary Science Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ³Wildlife Rehabilitation Centre in Parque Biológico de Gaia, Rua da Cunha, 152, Avintes, Portugal. ⁴CECAV- University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal

*andreamvq@gmail.com, +351 918510495

Apesar das limitações comuns associadas à realização de exames post-mortem em animais selvagens, informações importantes podem ser recolhidas não só para melhorar o conhecimento acerca da ecologia da espécie, mas também permitir a sugestão de boas medidas de conservação. Além disso, os animais selvagens são excelentes bioindicadores. O principal objetivo deste estudo foi descrever as principais lesões observadas durante a necropsia de mamíferos selvagens, répteis e anfíbios no Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Parque Biológico de Gaia e as suas principais causas de mortalidade. Um total de 79 animais foram analisados. Desses, 60,75% pertenciam à Classe Mammalia, 31,64% à Classe Reptilia e 7,59% à Classe Amphibia. As principais causas de admissão foram animais politraumatizados (41,77%) e debilitados (13,92%). Na Classe Mammalia, o sistema respiratório foi o principal sistema afetado (n = 30), enquanto nas Classes Reptilia e Amphibia os sistemas musculoesquelético e tegumentar foram os mais afetados. O exame post-mortem deverá realizar-se sempre que possível, pois apesar de por si só poder não constituir um diagnóstico definitivo, pode fornecer elementos indicativos de causas diretas ou indiretas de patologia. A divulgação dos resultados de estudos semelhantes a este, pode ter um papel preponderante na implementação, análise e avaliação de projetos de conservação de fauna selvagem.

Necropsy findings in wild mammals, reptiles and amphibians in a Wildlife Centre in the North of Portugal

Andreia Garcês^{1,2*}, Vanessa Soeiro³, Sara Lóio³, Justina Prada^{2,4}, Filipe Silva^{2,4}, Isabel Pires^{2,4}

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environment and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²Veterinary Science Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ³Wildlife Rehabilitation Centre in Parque Biológico de Gaia, Rua da Cunha, 152, Avintes, Portugal. ⁴CECAV- University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal

*andreamvq@gmail.com, +351 918510495

Despite the common limitations to perform post-mortem examination in wild animals, it provides important information. It improves the knowledge of species ecology, enabling the suggestion of good conservation measures. Wild animals are excellent bioindicators. The main goal of this study was to describe the major pathological lesions observed during the necropsy of wild mammals, reptiles and amphibians in the Wildlife Rehabilitation Centre of Parque Biológico de Gaia, and the main causes of mortality. A total of 79 animals were

analysed, 60.75 % belonging to Class Mammalia, 31.64% to Class Reptilia and 7.59% to Class Amphibia. Trauma (41.77%) was the most common cause of admission, followed by animals found with debilitated condition (13.92%). Within the Class Mammalia, respiratory system was the most affected (n = 30) whereas in Classes Reptilia and Amphibia the most affected ones were musculoskeletal and integumentary systems. Post-mortem examination should be performed whenever possible. Even though it might not diagnostic, it can point out direct or indirect causes of pathology. The dissemination of information from similar studies might be important for the implementation (or enforcement) and evaluation of future wildlife conservation projects.

A histologia veterinária forense no diagnóstico médico-legal

Isabel Pires, Paula Rodrigues, Anabela Alves, Adelina Gama, Lígia Lourenço, Justina Prada

Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal

A histologia forense é um ramo da patologia forense que consiste na aplicação de técnicas histológicas a casos médico-legais. A sua importância em Medicina Humana não é consensual. No entanto, alguns autores consideram que o exame histológico sistemático deveria ser realizado em todos os casos de autópsias forenses, podendo contribuir para confirmar ou excluir o diagnóstico macroscópico. Nesta comunicação, os autores pretendem efetuar uma revisão crítica da importância do exame histológico no diagnóstico Médico-veterinário Forense e das suas limitações. Nos casos estudados, este exame contribuiu para a determinação da causa de morte ou das circunstâncias da mesma em situações de intoxicação, ferimentos por arma de fogo e crimes sexuais. Permite, ainda, identificar outras alterações microscópicas não relacionadas diretamente com a morte, mas que devem ser incluídas no relatório médico-legal. A maior limitação esteve relacionada com a autólise do material. A necrópsia tardia e o consequente avançado estado de putrefação do cadáver, inviabilizaram o diagnóstico histopatológico na grande maioria dos casos. A histologia veterinária forense, apesar de não se ter mostrado essencial para o diagnóstico na maioria dos casos, contribuiu para a identificação de lesões microscópicas associadas ou para compreensão das circunstâncias da morte. Assim, pode ser importante para responder a múltiplas questões de relevância médico-legal ao permitir integrar as lesões microscópicas num quadro macroscópico e história clínica prévia, determinar a idade das lesões e a cronologia da doença e excluir diagnóstico diferenciais.

Forensic veterinary histology in medico-legal diagnosis

Isabel Pires, Paula Rodrigues, Anabela Alves, Adelina Gama, Lígia Lourenço, Justina Prada

Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal

Forensic histology is a subdivision of forensic pathology that consists of the application of histological techniques to medico-legal cases. Its importance in Human Medicine is not consensual. However, some authors consider that systematic histological examination should be performed in all forensic autopsies, and may contribute to confirm or exclude the macroscopic diagnosis. In this communication, the aim of the authors is to carry out a critical review of the importance of histological techniques in forensic

veterinary diagnosis and its limitations. In the examples presented, these methods contributed to the determination of the cause of death or its circumstance in cases of intoxication, firearm injuries and sexual crime. They also allowed to identify other microscopic lesions not directly related to death but that should be included in the medical-legal report. The greatest limitation in the application of histological techniques was related to the autolysis of the material. The delayed time of necropsy and consequent putrefaction of the cadavers made histopathological diagnosis impossible in the great majority of cases. Forensic veterinary histology, although not essential for diagnosis in most cases, has contributed to the identification of microscopic lesions and understanding the circumstances of death. Thus, it may be important to answer multiple questions of medico-legal relevance by integrating the microscopic lesions into a macroscopic and previous clinical history, determining the age of the lesions and the chronology of the disease, and excluding differential diagnosis.

Quando a imunohistoquímica é um desafio

Sandra Carvalho¹, Tânia Carvalho², Maria C. Peleteiro^{1*}
¹CIISA - Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Av. da Universidade Técnica, 1330-477 Lisboa, Portugal. ²Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Av. Prof. Egas Moniz, 1649-028 Lisboa, Portugal
 *mcpellet@fmv.ulisboa.pt, +351 213652838

A interpretação da imunohistoquímica pode ser um desafio quando os resultados da marcação se sobrepõem, parecendo haver lugar a mais do que uma interpretação quanto à natureza das células problema. O maior desafio são os tumores de células redondas com baixo grau de diferenciação. A presente comunicação tem o objetivo de apresentar casos em que a interpretação dos resultados de imunohistoquímica foi difícil, esperando estimular a discussão e a adoção de boas práticas.

Os três primeiros casos referem-se a tumores cutâneos de células redondas em cães das raças Boxer, Cocker Spaniel e Yorkshire Terrier, entre os 9 e os 15 anos. Foi feita marcação para células histiocíticas, CD18, e para plasmócitos, MUM1. A marcação para CD18 foi positiva e forte em mais de 90% das células tumorais. O mesmo sucedeu com a marcação com MUM1.

A interpretação levou em conta o que está referido na literatura, ou seja, que o CD18 é expresso em todos os leucócitos, sendo contudo mais específico para células histiocíticas, as quais marca com maior intensidade¹. Está também referido que o CD18 não é detetado em todos os plasmocitomas e que o melhor marcador destas células é o MUM1. Ou seja, estes tumores foram diagnosticados como plasmocitomas. Contudo, foi recentemente publicado um trabalho em que os histiocitomas cutâneos caninos expressaram antígenos do mieloma (MUM1/IRF-4)².

Finalmente, apresenta-se um caso de tumor de células fusiformes do baço em cadela Labrador com 8 anos, diagnosticado como fibrossarcoma, cuja marcação com o CD18 foi positiva! Já nada é como antes!!

Referências: 1- Ramos-Vara JA & Borst LB (2017). Immunohistochemistry: Fundamentals and Applications in Oncology. In: Tumors of Domestic Animals, Ed. Donald J. Meuten, 2017. 2- Stilwell JM & Rissi DR. Immunohistochemical Labeling of Multiple Myeloma Oncogene 1/Interferon Regulatory Factor 4 (MUM1/IRF-4) in Canine Cutaneous Histiocytoma. Veterinary Pathology, 2018, Vol. 55(4) 517-520.

Agradecimentos: Financiado por Project UID/CVT/276/2019 (CIISA)

When immunohistochemistry is a challenge

Sandra Carvalho¹, Tânia Carvalho², Maria C. Peleteiro^{1*}
¹CIISA - Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa,

Av. da Universidade Técnica, 1330-477 Lisboa, Portugal. ²Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Av. Prof. Egas Moniz, 1649-028 Lisboa, Portugal
 *mcpellet@fmv.ulisboa.pt, +351 213652838

The interpretation of immunohistochemistry can be a challenge when stainings overlay each other in the same cells, suggesting more than one interpretation regarding the cells' nature. The major challenge are round cell tumors due to the low specificity of cells' morphology.

Our work aims at presenting some cases of difficult interpretation of the immunohistochemistry results, stimulating the discussion and the adoption of the best possible practices.

The first three cases refer to cutaneous round cell tumors diagnosed in dogs, 9 to 15 years old, a Boxer, a Cocker Spaniel and a Yorkshire Terrier. Immunolabeling was performed for histiocytic cells with CD18, and for plasma cells with MUM1. CD18 labelling was positive and strong in more than 90% of the round tumor cells. The same labeling was obtained with MUM1.

In these cases interpretation followed what is mentioned in the literature, meaning the CD18 is expressed by all leukocytes, being more specific for histiocytic cells that label intensely¹. It is also mentioned that CD18 does not label all plasma cell tumors and that the best marker for these cells is MUM1. In conclusion, all three diagnosis were of plasma cell tumors. However, work has been recently published reporting that cutaneous canine histiocytic tumors expressed multiple myeloma antigens (MUM1/IRF-4)².

Finally, a case of fusiform cell tumor in the spleen of a 9 years old Labrador female dog is presented, diagnosed as fibrosarcoma, which labelled positively with CD18! Nothing is like before!

References: 1- Ramos-Vara JA & Borst LB (2017). Immunohistochemistry: Fundamentals and Applications in Oncology. In: Tumors of Domestic Animals, Ed. Donald J. Meuten, 2017. 2- Stilwell JM & Rissi DR. Immunohistochemical Labeling of Multiple Myeloma Oncogene 1/Interferon Regulatory Factor 4 (MUM1/IRF-4) in Canine Cutaneous Histiocytoma. Veterinary Pathology, 2018, Vol. 55(4) 517-520.

Acknowledgements: Funded by Project UID/CVT/276/2019 (CIISA)

Mortalidade elevada devido a síndrome de hipertensão pulmonar (síndrome ascítica) durante um ensaio experimental em frangos submetidos a diferentes tratamentos para reduzir as emissões de amoníaco

Alves A^{1,2*}, Almeida JM^{1,2}, Oliveira J^{3,4}, Ferreira S^{1,4}, Garcia C³, Marques F³, Pinheiro, V^{1,2}, Trindade H^{2,4}, Pereira JL^{3,4}, Vala H^{3,4}

¹Animal and Veterinary Research Centre, CECAV, University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real, Portugal. ²University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Agrarian and Veterinary Sciences School. Vila Real, Portugal. ³Agrarian School of Viseu, Polytechnic Institute of Viseu, Portugal. ⁴Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real, Portugal
 *aalves@utad.pt

Os frangos de carne, principalmente em produção intensiva, são suscetíveis a várias síndromes caracterizadas por ascite marcada. As causas de ascite são multifactoriais mas a dieta e, em particular, interações entre a dieta, o ambiente e fatores genéticos desempenham um papel preponderante. O excesso de amoníaco é um fator ambiental a ter em conta. Objetivos Avaliar o efeito de aditivos na cama e no alimento (orgânicos, minerais e químicos) para reduzir as emissões de amoníaco, nomeadamente os efeitos na saúde animal.

Uma amostra de 832 frangos Ross foi dividida em dois ciclos de engorda. Em cada ensaio, 26 pintos (0 dias de

idade) foram selecionados e alojados ao acaso em 16 pavilhões herméticos, com temperatura e ventilação controladas (0,07 m² por frango) durante 35 dias. Cada pavilhão (ca. 2 m²) recebeu 7kg de casca de arroz como material de cama (3,8 kg m⁻²). Um Controlo e os seguintes 7 aditivos foram usados, correspondendo aos 8 tratamentos aplicados: nenhum aditivo, Control; clinoptilolite na cama (1,6 kg m⁻²), CliCama; clinoptilolite no alimento (2%), CliAli; cloreto de alumínio (40 g kg⁻¹ cama) + carbonato de cálcio (60 g kg⁻¹ cama) na cama, CIAI; De-Odorase® no alimento (0,16%), DeOd; óleo de soja na cama (5 ml m⁻²), OS; sulfato de alumínio na cama (8%), SulAl, e sulfato de magnésio na cama (8%), SulMg. Durante o ciclo de engorda (35 dias) os índices de mortalidade foram registados e os animais submetidos a necropsia. As amostras colhidas foram processadas para histopatologia.

Registaram-se 42 mortes, o que fez uma taxa de mortalidade de 4,4% sem significado estatístico relacionado com qualquer tratamento. 27 (64%) dos animais necropsiados revelaram síndrome ascítica, 6 (14%) congestão generalizada, 4 (9,5%) enterite, 3 (7%) peritonite e 2 (4,7%) nanismo. As lesões histopatológicas mais observadas incluíram nódulos cartilagineos e ósseos ectópicos no interstício pulmonar sem inflamação, hiperplasia do músculo liso do pulmão e discreta fibrose hepática.

O desequilíbrio entre a necessidade e o fornecimento de oxigénio necessários para a obtenção de uma taxa de crescimento rápida e elevada eficiência alimentar pode causar ascite nos frangos. Está descrito que a otimização da temperatura ambiental, ventilação e restrição de luz, com vista à diminuição da taxa de crescimento são práticas de manejo úteis para reduzir as síndromes ascíticas. Contudo, o presente estudo tratava-se de um estudo experimental in vivo com condições de temperatura, ventilação e luz permanentemente controladas.

Agradecimentos: Este trabalho é financiado pelo projeto AMONIAVE R&D, Técnicas de Controlo de Concentrações de Amónia em Instalações Avícolas (R&D-Co-promoção), Co- financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do programa COMPETE 2020 Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI). Este trabalho é financiado Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto UID/AGR/04033/2019.

Unexpected high mortality due to pulmonary hypertension syndrome (ascitic syndrome) during an experimental assay with broilers submitted to different additives to control ammonia volatilization

Alves A^{1,2*}, Almeida JM^{1,2}, Oliveira J^{3,4}, Ferreira S^{1,4}, Garcia C³, Marques F³, Pinheiro, V^{1,2}, Trindade H^{2,4}, Pereira JL^{3,4}, Vala H^{3,4}

¹Animal and Veterinary Research Centre, CECAV, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Vila Real, Portugal. ²University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Agrarian and Veterinary Sciences School, Vila Real, Portugal. ³Agrarian School of Viseu, Polytechnic Institute of Viseu, Portugal. ⁴Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Vila Real, Portugal

*aalves@utad.pt

Young broilers are susceptible to a number of syndromes characterized by marked ascites. The causes of ascites are multifactorial but diet and, particularly, interactions between diet, environmental and genetic factors play an important role. The ammonia excess is an environmental factor to take into account. Objectives The goal of this research was to evaluate the effect of feed and litter additives (organic, mineral and chemical), with the potential to reduce ammonia volatilization, on broiler performance and health.

A sample of 832 Ross broilers was used, divided in two fattening cycles. In each experiment, 26 broilers chicks (0 days age) were randomly placed in 16 airtight pavilions with controlled temperature and ventilation (0.07 m² per broiler) during 35 days. Each pavilion (ca. 2 m²) received 7kg of rice hulls as litter material (3.8 kg m⁻²). A Control and the following 7 additives were used, matching the 8 treatments applied: no additive, Control; clinoptilolite in the litter (1.6 kg m⁻²), CliCama; clinoptilolite in the feed (2%), CliAli; aluminum chloride (40 g kg⁻¹ litter) + calcium carbonate (60 g kg⁻¹ litter) in the litter, CIAI; De-Odorase® in the feed (0.16%), DeOd; soybean oil in the litter (5 mL m⁻²), OS; aluminum sulfate in the litter (8%), SulAl, and; magnesium sulfate in the litter (8%), SulMg. During the trial (35 days) all the deaths were recorded and all the broilers that died were necropsied. Samples were collected and fixed in 10% neutral-buffered formalin, and processed routinely.

During the trial 42 deaths were recorded with a mortality rate of 4.4%, with no statistically significant correlation with the treatments. 27 (64%) of the necropsied animals had ascitic syndrome, 6 (14%) generalized congestion, 4 (9.5%) enteritis, 3 (7%) peritonitis and 2 (4.7%) dwarfism. The more frequent histopathological lesion observed were ectopic cartilaginous and osseous nodules in pulmonary interstitium, without inflammatory reaction around it, pulmonary smooth muscle hyperplasia and slight hepatic fibrosis.

It is believed that an imbalance between oxygen supply and the oxygen required to sustain rapid growth rates and high food efficiencies causes ascites in broiler chickens. It is known that optimization of the house temperature, ventilation and light restriction, in order to slow down the growth rate, seem helpful practices to decrease ascites incidence. In this work the temperature, ventilation and lighting of the individual houses were permanently controlled.

Acknowledgments: This work was funded by the AMONIAVE R&D project, Techniques of Control of Ammonia Concentrations in Poultry Installations (R&D-Co-promotion), Co- financed by the European Regional Development Fund (FEDER) through the COMPETE 2020 Operational Program for Competitive Internationalization (POCI) and National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the project UID/AGR/04033/2019.

Epidermal Growth Factor Receptor: análise imunohistoquímica e de mutações em neoplasias malignas da mama da cadela

Gonçalves, A. B.¹, Martins, M. J.², Bastos, E.^{1,3}, Gama, A.^{2,4*}

¹Department of Genetics and Biotechnology, School of Life and Environmental Sciences (ECVA), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real. ²Department of Veterinary Sciences, School of Agrarian and Veterinary Sciences (ECVA), UTAD, Vila Real. ³Center of the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), UTAD, Vila Real. ⁴Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal

*agama@utad.pt

As neoplasias mamárias constituem a neoplasia mais frequente na cadela não ovariectomizada. O Receptor do Factor de Crescimento Epidérmico (EGFR) é um recetor transmembranar envolvido na regulação da proliferação, diferenciação, motilidade e sobrevivência celulares. Apesar de frequentemente estudado no cancro da mama da mulher, são escassos os estudos acerca do EGFR na mama da cadela, em particular no que diz respeito à análise de mutações genéticas. O objetivo deste trabalho foi investigar a imunexpressão e a presença de mutações do EGFR no modelo canino. A expressão do EGFR foi avaliada por imunohistoquímica (IHQ) em 111 tumores de mama malignos, 71 metástases ganglionares e 12 metástases pulmonares, de acordo com o Herceptest scoring, considerando-se os casos 2+ e 3+ como positivos (marcação completa da membrana em mais de 10%

das células). A sobre-expressão do EGFR foi observada em 53,2% (n=59) dos tumores primários, 47,1% (n=32) das metástases ganglionares e 25% (n=3) das metástases pulmonares. Verificou-se que a expressão do EGFR em tumores primários e metástases ganglionares estava significativamente associada ($P < 0,0001$), com concordância em 79,4% (n=54) das amostras. Para a pesquisa da presença de variantes de sequência do exão 19 do EGFR, foram utilizadas 30 amostras de tecido mamário congelado (20 carcinomas e 10 tecidos não-neoplásicos adjacentes) para extração de DNA, PCR e sequenciação. Foram detectados quatro variantes intrônicos em 6 amostras correspondentes a 4 cadelas (4 carcinomas e 2 tecidos não-neoplásicos adjacentes). Apesar de três destes carcinomas apresentarem sobre-expressão de EGFR por IHQ, as restantes amostras positivas analisadas não apresentaram alterações do exão 19. São necessários estudos com maior número de amostras para confirmar a raridade de mutações do gene EGFR nas neoplasias da mama da cadela.

Epidermal Growth Factor Receptor: immunohistochemical and mutation analysis in canine mammary cancer

Gonçalves, A. B.¹, Martins, M. J.², Bastos, E.^{1,3}, Gama, A.^{2,4*}

¹Department of Genetics and Biotechnology, School of Life and Environmental Sciences (ECVA), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real. ²Department of Veterinary Sciences, School of Agrarian and Veterinary Sciences (ECAV), UTAD, Vila Real. ³Center of the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), UTAD, Vila Real. ⁴Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal
*agama@utad.pt

Mammary tumours are the most frequent neoplasm diagnosed in intact female dogs. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) is a transmembrane receptor involved in regulating cell proliferation, differentiation, motility and survival. Although frequently studied in human breast cancer, few studies have addressed EGFR in canine mammary tumours, especially EGFR gene mutational status. Thus, the aim of the present study was to investigate EGFR immunoeexpression and the presence of EGFR gene mutations in this animal model. EGFR expression was evaluated by immunohistochemistry (IHC) in 111 mammary malignant tumours, 71 lymph node metastases and 12 lung metastases. Herceptest scoring system was used for EGFR evaluation, with 2+ and 3+ cases considered positive (complete membrane staining in >10% cells). EGFR overexpression was observed in 53.2% (n = 59) of primary tumours, 47.1% (n = 32) of node metastases and 25% (n = 3) of lung metastases. EGFR expression in primary tumours and node metastases was significantly associated ($P < 0.0001$), with a concordance in 79.4% (n=54) samples. In order to search for the presence of EGFR exon 19 sequence variants, 30 frozen mammary tissue samples (20 primary carcinomas and 10 adjacent non-neoplastic tissue) were selected for DNA extraction, PCR and sequencing. Four intronic polymorphisms were detected in six samples, corresponding to four female dogs (four carcinomas and 2 paired non-neoplastic adjacent tissues). Although three of these carcinomas also showed EGFR overexpression by IHC, the remaining positive EGFR samples fail to reveal gene alterations. Additional studies with a larger series are necessary in order to confirm that EGFR gene variations are rare events in canine mammary cancer.

Broken Heart Syndrome em cetáceos: estudo histológico, histoquímico e imunohistoquímico.

Nakita Câmara¹, Eva Sierra¹, Carolina Fernández-Maldonado², Antonio Espinosa de los Monteros¹, Manuel Arbelo¹, Antonio Fernández¹, Pedro Herráez¹
¹Departamento de Histología y Patología Animal, Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Facultad de Veterinaria. Transmontaña s/n, 35413, Arucas, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands, Spain. ²Seashore Environment and Fauna. Calle Mar Jónico 62 Bajo A, 11380, Tarifa, Cádiz, Spain

Tanto os humanos como outros animais, desenvolveram mecanismos para lidar com o stress nas suas vidas, mas quando este é excessivo ou prolongado, podem desenvolver diferentes doenças. Um exemplo é a Cardiomiopatia de Stress (SCMP), ou "Broken Heart Syndrome", que é uma cardiomiopatia (CMP) reversível em humanos, que ocorre, na maioria das vezes, após um stress físico ou emocional. Os cetáceos de vida livre são ameaçados, diariamente, por uma grande variedade de situações stressantes que afetam o seu bem-estar e estudos anteriores sugerem que os cetáceos estariam especialmente predispostos a desenvolver cardiomiopatias de stress devido às características das suas adaptações cardiovasculares. Para este estudo foram examinadas amostras de coração de 67 cetáceos arrojados (48 arrojaram vivos, 7 morreram por colisão com barcos e 12 de bycatch) na costa das Ilhas Canárias de 2000 a 2016 e Andaluzia de 2011 a 2014. Como ocorre na SCMP, todas as entidades patológicas mencionadas anteriormente partilham os mesmos achados microscópicos, caracterizados por lesões cardíacas degenerativo-necróticas, agudas ou subagudas, apresentando um padrão perivascular consistindo de: necrose em banda de contração (49,25%), fibras onduladas (43,28%), hipereosinofilia citoplasmática (100%), e vacuolização perinuclear (97,01%); alterações vasculares ilustradas como congestão (67,41%), edema intersticial (38,81%) e hemorragias (22,38%); infiltração de células inflamatórias (25,37%) e presença de glóbulos de mioglobina (43,28%). Imunohistoquimicamente também é característica a depleção de troponina I, troponina C e mioglobina, além da expressão de fibrinogénio nos cardiomiócitos degenerados/necróticos. Desta forma, pretendemos fornecer mais conhecimento sobre as patologias e suas implicações na conservação de cetáceos.

Broken Heart Syndrome in Cetaceans: histological, histochemical and immunohistochemical study

Nakita Câmara¹, Eva Sierra¹, Carolina Fernández-Maldonado², Antonio Espinosa de los Monteros¹, Manuel Arbelo¹, Antonio Fernández¹, Pedro Herráez¹
¹Departamento de Histología y Patología Animal, Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Facultad de Veterinaria. Transmontaña s/n, 35413, Arucas, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands, Spain. ²Seashore Environment and Fauna. Calle Mar Jónico 62 Bajo A, 11380, Tarifa, Cádiz, Spain

Both humans and other animals, have evolved mechanisms to cope with stress in their lives, but when this is excessive or prolonged over time they can develop different diseases. An example is the Stress Cardiomyopathy (SCMP), or "Broken Heart Syndrome", which is a reversible cardiomyopathy (CMP) in humans, most often occurring after an emotional or physical stress. Free-living cetaceans are threatened, daily, by a wide variety of stressful situations that affect their well-being and previous studies suggest that cetaceans would be especially predisposed to develop stress cardiomyopathies due to the characteristic of their cardiovascular adaptations. For this study we examined heart samples from 67 ashore cetaceans (48 stranded alive, 7 died from ship collision and 12 from bycatch) on the coast of the Canary Islands from 2000 to 2016 and Andalucía from 2011 to 2014. As it occurs in the SCMP,

all the above mentioned pathological entities share the same microscopic findings, characterized by acute or subacute cardiac degenerative necrotic lesions, presenting a perivascular pattern and consisting of: contraction band necrosis (49.25%), wavy fibers (43.28%), cytoplasmic hyper eosinophilia and pyknotic nuclei (100%), perinuclear vacuolization (97.01%); vascular changes illustrated as congestion (67.41%), interstitial edema (38.81%) and hemorrhages (22.38%); infiltration of inflammatory cells (25.37%) and presence of myoglobin globules (43.28%). Immunohistochemically, it is also characteristic the depletion of cardiac troponin I, cardiac troponin C and myoglobin, besides the expression of fibrinogen in the degenerated/necrotic cardiomyocytes. Likewise, we intend to provide more knowledge about the pathologies and their implications in the conservation of cetaceans.

Alterações morfológicas nas glândulas sericígenas e intestino de *Bombyx mori* alimentados com nanopartículas de óxido de ferro

Nuno Ramos^{1,2}, Lígia Lourenço⁴, Albina Franco^{1,2}, Margarida Miranda^{1,2}, Simone Silva^{1,2}, Isabel Dias^{1,2,4}, Jorge Azevedo^{3,5}, Rui L Reis^{1,2,6}, Manuela E Gomes^{1,2}, Carlos Viegas^{1,2,4}, Maria A Pires^{3,4*}

^{1,3}B's Research Group, I3Bs - Research Institute on Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark - Parque da Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal. ²ICVS/3B's - PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal. ³Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), Veterinary Sciences Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ⁴Veterinary Sciences Department, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ⁵Department of Animal Science, ECAV, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ⁶The Discoveries Centre for Regenerative and Precision Medicine, Headquarters at University of Minho, Avepark, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal
apires@utad.pt

O bicho da seda (*Bombyx mori*) é usado como modelo em vários estudos e é muito importante na economia mundial. A vida larval é dividida em cinco estágios ou instares, sendo 5º o mais longo, com maior crescimento e consumo de alimento. A seda é produzida na glândula sericínea e a digestão ocorre no intestino médio, constituído por epitélio simples colunar com células calciformes e estaminais suportadas pela membrana basal.

O objetivo foi investigar a influência de nanopartículas de óxido de ferro (NPOF) veiculadas diariamente na alimentação, na morfologia das glândulas sericígenas e do intestino médio dos bichos da seda.

Foram alimentados com 0.3 wt%, 1.5 wt% e 3 wt% de NPOF durante o 5º instar. Os animais foram fixados em formol a 10% e incluídos em parafina. Os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina, azul da Prússia e PAS.

O grupo alimentado com 0.3 wt% de NPOF apresentou glândula sericígena normal de conteúdo proteico; os grupos com 1.5 wt% e 3 wt% apresentaram aumento do espaço intercelulares no epitélio, citoplasma granular eosinofílico e secreção heterogénea. O intestino médio apresentou evidentes alterações morfológicas: o grupo com 0.3 wt% células calciformes de conteúdo alterado e perda de polaridade do núcleo; o grupo com 1.5 wt% apresentou diminuição de células calciformes e epitélio pseudoestratificado; o grupo com 3 wt% distribuição irregular das células epiteliais, apoptose e aumento de espaços intercelulares.

Concluímos que as NPOF promovem alterações morfológicas e as concentrações mais altas provocam lesões severas nas glândulas sericígenas e intestino médio destes animais.

Silk gland and gut morphology changes in *Bombyx mori* fed with iron oxide nanoparticles

Nuno Ramos^{1,2}, Lígia Lourenço⁴, Albina Franco^{1,2}, Margarida Miranda^{1,2}, Simone Silva^{1,2}, Isabel Dias^{1,2,4}, Jorge Azevedo^{3,5}, Rui L Reis^{1,2,6}, Manuela E Gomes^{1,2}, Carlos Viegas^{1,2,4}, Maria A Pires^{3,4*}

^{1,3}B's Research Group, I3Bs - Research Institute on Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark - Parque da Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal. ²ICVS/3B's - PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal. ³Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), Veterinary Sciences Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ⁴Veterinary Sciences Department, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ⁵Department of Animal Science, ECAV, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ⁶The Discoveries Centre for Regenerative and Precision Medicine, Headquarters at University of Minho, Avepark, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal
apires@utad.pt

Bombyx mori silkworm is one of the most economically important insects in the world and model for several studies. The larval life of silkworms is divided into five instars. The 5th instar is the longest where the larvae show maximum food consumption and growth. The silk is produced in a paired gland composed by glandular epithelium and lumen. The food digestion occurs in the midgut, which presents a folded columnar monolayered epithelium that includes goblet cells and stem cells supported by a basal lamina.

In this work, we aimed to investigate the influence of the concentration of iron oxide nanoparticles (IONPs), incorporated on the food of silkworms, on the silk gland and midgut morphology.

Bombyx mori were fed daily with diets containing 0.3 wt%, 1.5 wt% and 3 wt% IONPs at the 5th instar. The animals were fixed in 10% buffered formalin and processed to paraffin. The tissues were stained with Hematoxylin-eosin, Prussian-blue and PAS.

Histologically the group fed with 0.3 wt% IONPs showed normal silk gland with proteins-filled lumen, whereas the groups with 1.5 wt% and 3 wt% IONPs showed increased intercellular epithelium spaces, eosinophilic granular cytoplasm and heterogeneous secretion in the glandular lumen. The midgut presented evident morphological alterations: the group with 0.3 wt% IONPs had denser content of goblet cells and loss of nucleus polarity; the group with 1.5 wt% IONPs showed loss of goblet cells and pseudostratified epithelium; the group with 3 wt% IONPs had irregular distribution of the epithelial cells, apoptosis and increasing intercellular spaces.

We conclude that the IONPs lead to morphologic alterations and that the higher concentrations severely damage the silk gland and midgut structures of the silkworms.

Ultraestrutura de células de Sertoli em *Bos taurus*

Calado, A.M.

Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal
anacalad@utad.pt

O objetivo deste trabalho é a caracterização ultraestrutural de células de Sertoli (SCs), e a sua relação com as células da linha germinativa. Fragmentos de testículo de animais adultos raça *Bos taurus* foram colhidos no matadouro. Os fragmentos foram imediatamente colocados em fixador adequado e transportados para o laboratório num intervalo até 1-2 horas. Fragmentos de testículo com diâmetro até 1mm foram processados para microscopia eletrónica de transmissão. Efetuaram-se secções ultrafinas de 60 nm, que foram contrastadas com acetato de uranilo e

citrato de chumbo. As grelhas foram observadas num microscópio eletrónico de transmissão LEO 906E. Observaram-se as SCs colunares, altas que se estendem da lamina basal até próximo do bordo do lume do túbulo seminífero. O núcleo das SCs é basal, de contorno irregular e com invaginações pronunciadas, e heterocromatina associada à membrana interna do involucro nuclear. O núcleo e a distribuição dos organelos revelam uma pronunciada polarização celular das SCs, com o citoplasma apical contendo menos organelos relativamente ao citoplasma basal. As SCs estabelecem desmossomas com as espermatogónias adjacentes e hemidesmossomas com a lamina basal. As SCs apresentam uma acumulação significativa de retículo endoplasmático liso no citoplasma adjacente às espermátides. Esta relação das SCs com as células germinativas é importante durante as diferentes fases da espermatogénese.

Agradecimentos: A autora deste trabalho agradece toda a disponibilidade e amabilidade à Unidade de Microscopia Eletrónica (UME) da UTAD, onde foi realizada a ultramicrotomia e a obtenção das imagens de microscopia eletrónica transmissão.

Ultrastructure of *Bos taurus* Sertoli cells

Calado, A.M.

Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal
anacalad@utad.pt

The aim of the present research is to characterize the ultrastructure of *Bos taurus* Sertoli cells (SCs) and their relation to germ cell. At the abattoir, small testicles pieces from adult *Bos taurus* were collected. Tissue was cut into fine pieces, immediately immersed in an appropriate fixative and transported in a thermic box to the laboratory in 1-2 hours. Testicle fragments with no more than 1 mm were processed for transmission electron microscopy. Ultrathin sections with 60 nm were obtained, stained with uranyl acetate and lead citrate. Grids were observed in a LEO 906E transmission electron microscope. We observed that SCs are columnar, tall and extend from the basal lamina to near the seminiferous tubule lumen. SCs nucleus are localized in basal cytoplasm, and showed a very irregular contour with pronounced invaginations, and heterochromatin closely associated to the inner nuclear membrane. The nucleus and organelle distribution reveal a cytoplasmic polarization of SCs, with the apical cytoplasm containing much less organelles relatively to the basal portion. SCs exhibit desmosomes to adjacent spermatogonia and hemidesmosomes to basal lamina. Spermatogonia reveal no special connection to basal lamina. SCs present significant accumulation of smooth endoplasmic reticulum in the cytoplasm adjacent to spermatids. SCs support structurally the developing germ cells and possess distinct cytoplasmic relationship with germ cells in different stages of spermatogenesis.

Acknowledgments: The author is grateful to the availability and kindness of Electron Microscopy Unit (UME) of UTAD, where the ultramicrotomy and the electron microscopy images were obtained.

Breve história da Microscopia e da Histo(pato)logia

Calado, A.M.

Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal
anacalad@utad.pt

O termo "histologia" surgiu pela primeira vez em 1819 num livro da autoria do anatomista e fisiologista alemão Karl Meyer, com a sua origem nos estudos microscópicos de estruturas biológicas descritas pelo médico italiano Marcello Malpighi no século XVII. A histologia é a ciência que estuda a organização dos

tecidos do organismo e é uma componente fundamental da educação em medicina. Desde o seu início no século XVIII, a histologia progrediu de mãos dadas com os avanços na área da microscopia, das tecnologias microscópicas, incluindo a preparação de amostras biológicas, colorações e imunohistoquímica. Desde a formulação da teoria celular em 1839, as universidades de medicina iniciaram o ensino desta ciência em estreita conexão com a fisiologia. Johannes Peter Müller foi o primeiro investigador a acreditar que a microscopia poderia ser útil em medicina., e em 1838 publicou o primeiro livro de técnicas histopatológicas. Rudolf Virchow, considerado o pai da patologia celular, através da utilização do microscópio demonstrou que a doença é consequência de uma disrupção do processo celular normal. O microscópio e o estudo dos tecidos foram considerados como uma abordagem fundamental para o progresso do conhecimento em histologia e patologia desde o século XIX até hoje. Atualmente, o uso de microscopia virtual é uma realidade aceite e muitas vezes integrada no ensino de histologia e da patologia. Em comparação com os métodos tradicionais, a utilização do microscópio virtual nos novos currícula permite que as instituições de ensino em medicina lecionem o mesmo conteúdo programático, poupando material, recursos e tempo.

A brief history of Microscopy and Histo(patho)logy

Calado, A.M.

Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal
anacalad@utad.pt

The term "histology" first appeared in a book of 1819 written by the German anatomist and physiologist Karl Meyer, tracing its origins to the microscopic studies of biological structures of the 17th century by the Italian physician Marcello Malpighi. Histology is the science that provides the adequate learning of the tissue organization of the body, and is a fundamental part of medical education. Since its beginning in the 18th century, the discipline of histology has progressed hand in hand with the advancements in microscopy and microscopic technologies, including techniques for the preparation of biological samples, staining and immunohistochemistry. Since cell theory was formulated in 1839, medical universities have given rise to the teaching of this science in close connection with physiology. Johannes Peter Müller was the first one to believe that microscopy could help the medical profession, and in 1838 he wrote the first book on histopathological techniques. Rudolf Virchow, considered the father of cellular pathology, by using the microscope demonstrated that diseases are the consequence of a disruption of normal cellular processes. The microscope and the study of tissues were considered as a fundamental approach for the progress of histological and pathological knowledge from the 19th century to the present. Nowadays, the use of virtual microscopy is now an accepted and often integral part of teaching histology and pathology. Compared with traditional methods, the use of the virtual microscope in the new curricula allows medical institutions to teach the same programmatic content, sparing material, resources and time.

Mixomatose, considerada uma doença de coelhos, emerge recentemente em lebre- ibérica: o que nos revela a histopatologia nestas duas espécies?

Fábio Abade dos Santos^{1,2*}, Carina L. Carvalho^{1*}, Madalena Monteiro^{1*}, Paulo Carvalho¹, Paula Mendonça¹, Conceição Peleteiro², Andreia Pinto³, Tânia Carvalho³, Jacinto Gomes¹, Teresa Albuquerque¹, Margarida D. Duarte^{1,2}

Equivalent contribution

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária Av. da República, Quinta do Marquês 2780-157 Oeiras. ²CIISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa. ³Instituto de Medicina Molecular João Lobo Antunes. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa Av. Professor Egas Moniz 1649-028 Lisboa Portugal

A presença do vírus da mixomatose (MYXV) em lebres-ibéricas (*Lepus granatensis*) foi recentemente comprovada em laboratório, confirmando-se as suspeitas face os sinais clínicos (edemas) observados. Embora existissem já registos documentais de casos pontuais de mixomatose em lebre- europeia, e alguns testemunhos de avistamentos de lebre-ibérica com lesões sugestivas de mixomatose, este trata-se do primeiro grande surto verificado em lebre-ibérica.

A doença, associada mortalidade elevada, afeta atualmente vários distritos do sul do nosso país e mais de 15 Províncias de Espanha.

O diagnóstico laboratorial dos casos registados em Portugal é efetuado no Laboratório Nacional de Referência-INIAV, no âmbito da avaliação sanitária que decorre à escala nacional desde 2017 (Projeto +Coelho).

A ausência de mixomas cutâneos apresentou-se como a principal diferença relativamente à forma nodular de doença no coelho. A histopatologia revelou a presença de aspetos sobreponíveis aos observados no coelho, nomeadamente hiperplasia epidérmica moderada, degenerescência balonizante das células epiteliais, proliferação de células fusiformes e estelares circundadas por extensa matriz extracelular. No entanto, verificaram-se evidências de maior malignidade das lesões histopatológicas em relação ao coelho, pela presença de células fusiformes adjacentes à epiderme ulcerada, com pleomorfismo moderado, núcleos grandes e cromatina densa. Constatou-se também extensa infiltração de células heterofílicas na derme.

O envolvimento do MYXV no desenvolvimento destas lesões está a ser esclarecido por hibridização in situ e imunohistoquímica.

A maior severidade da doença e das lesões induzidas em lebre pode estar relacionada com a passagem recente de barreira de espécie (coelho-lebre), contrapondo a uma co- evolução vírus-coelho com mais de 60 anos.

Myxomatosis, considered a rabbit disease, emerged recently in Iberian hare: what does histopathology in these two species reveals?

Fábio Abade dos Santos^{1,2*}, Carina L. Carvalho^{1*}, Madalena Monteiro^{1*}, Paulo Carvalho¹, Paula Mendonça¹, Conceição Peleteiro², Andreia Pinto³, Tânia Carvalho³, Jacinto Gomes¹, Teresa Albuquerque¹, Margarida D. Duarte^{1,2}

Equivalent contribution

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária Av. da República, Quinta do Marquês 2780-157 Oeiras. ²CIISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa. ³Instituto de Medicina Molecular João Lobo Antunes. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa Av. Professor Egas Moniz 1649-028 Lisboa Portugal

The presence of myxomatosis virus (MYXV) in Iberian hares (*Lepus granatensis*) has recently been confirmed by laboratory means, corroborating the suspicion raised by the clinical signs (oedema).

Although there had been sporadic reports of myxomatosis in the European hare and sightings of Iberian hares with lesions suggestive of myxomatosis, this is the first great outbreak registered in the Iberian hare. The disease in hares is associated with high mortality and currently affects several districts in the

south of our country and more than 15 Provinces in Spain.

The laboratorial diagnosis has been carried out since 2017 in the National Reference Laboratory (INIAV), within the scope of a Project + Coelho.

The absence of cutaneous myxomas was the main difference when compared to the nodular form of rabbit disease. The histopathology revealed the presence of common aspects seen in rabbits, such as moderate epidermal hyperplasia, ballooning epithelial degeneration, proliferation of spindle and stellar cells surrounded by an extensive extracellular matrix. However, there was evidence of increased malignancy of the histopathological lesions in relation to the rabbit, namely the presence of spindle cells adjacent to the ulcerated epidermis, with moderate pleomorphism, large nuclei and dense chromatin. There was also extensive infiltration of heterophilic cells into the dermis. The involvement of MYXV in the lesions is being clarified by in situ hybridization and immunohistochemistry. The greater severity of the disease and the histopathological particularities can be related to the recent jump of species barrier (rabbit to hare), in opposition to the long co-evolution of the virus with rabbits, spanning around 60 years.

Os mastócitos como alvo na carcinogénese mamária: modelo de roedor

Ana I. Faustino-Rocha^{1,2}, Adelina Gama^{3,4}, Mário Ginja^{2,3}, Rita Ferreira⁵, Paula A. Oliveira^{2,3}

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal. ²Centro de Investigação e de Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ³Departamento de Ciências Veterinárias, UTAD, Vila Real, Portugal. ⁴Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD; Vila Real, Portugal. ⁵Química Orgânica de Produtos Naturais e Agroalimentares, Centro de Espectrometria de Massa, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

O cancro da mama é um dos cancros mais frequentemente diagnosticados. A presença de mastócitos no microambiente tumoral tem sido associada a um aumento da vascularização e pior prognóstico. Este trabalho pretendeu estudar os efeitos da inibição dos mastócitos na carcinogénese mamária. Trinta e quatro ratos fêmea da estirpe Sprague-Dawley foram divididos em cinco grupos. Às sete semanas de idade, os animais dos grupos I, II e III (n=10+10+10) receberam uma injeção do agente carcinogénico N-metil-N-nitrosourea (MNU). Os grupos II e IV (n=2) foram tratados com o cetotifeno imediatamente após a administração da MNU, durante 18 semanas. Os animais do grupo III receberam o cetotifeno após o desenvolvimento da primeira neoplasia mamária. Os animais dos grupos I e V (n=2) receberam apenas água. Os animais foram sacrificados às 25 semanas de idade. As neoplasias mamárias foram recolhidas e fixadas em formol. A vascularização, o índice de proliferação e o índice de apoptose foram avaliados por imunohistoquímica (Factor de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF-A), Ki-67, e caspases-3 e -9, respetivamente). Vinte e um animais dos grupos I, II e III desenvolveram 58 neoplasias mamárias. Na análise histológica, as neoplasias foram maioritariamente classificadas como carcinoma papilar não invasivo. A vascularização das neoplasias mamárias foi semelhante entre grupos (p>0,05). As neoplasias mamárias do grupo II apresentaram menor índice de proliferação (p<0,05) e apoptose. O principal efeito positivo da inibição da desgranulação dos mastócitos parece ser a redução da proliferação das neoplasias quando a desgranulação dos mastócitos foi inibida antes do desenvolvimento das mesmas.

Agradecimentos: O trabalho foi financiado pela FCT- Fundação para a Ciência e Tecnologia, projeto UID/AGR/04033/2019 e projeto PTDC/DTP-DES/6077/2014.

Targeting mast cells on mammary carcinogenesis: a rat model

Ana I. Faustino-Rocha^{1,2}, Adelina Gama^{3,4}, Mário Ginja^{2,3}, Rita Ferreira⁵, Paula A. Oliveira^{2,3}

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal. ²Centro de Investigação e de Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ³Departamento de Ciências Veterinárias, UTAD, Vila Real, Portugal. ⁴Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. ⁵Química Orgânica de Produtos Naturais e Agroalimentares, Centro de Espectrometria de Massa, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

Mammary cancer is one of the most frequent cancers worldwide. The presence of mast cells in tumor microenvironment has been associated with increased angiogenesis and poor prognosis. This work intended to address the role of mast cells' inhibition on mammary carcinogenesis. Thirty-four female Sprague-Dawley rats were divided into five groups. At seven weeks of age, mammary tumors' development was induced in animals from groups I, II, III (n=10+10+10) by the intraperitoneal injection of the carcinogen N-methyl-N-nitrosourea (MNU). Groups II and IV (n=2) were treated with ketotifen in drinking water (1 mg/kg/day, 7 days/week) immediately after the MNU administration, for 18 weeks. Group III received the ketotifen after the development of the first mammary tumor. Groups I and V (n=2) received only water. Animals were sacrificed at 25 weeks of age. Mammary tumors were collected and fixed for posterior analysis. Tumors' vascularization, proliferation and apoptosis were assessed by immunohistochemistry (Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-A, Ki-67, and caspases-3 and -9, respectively). Control animals did not develop any tumor. Twenty-one animals (six animals from group I, eight animals from group II and seven animals from group III) developed a total of 58 mammary tumors. Most of them were histologically classified as papillary non-invasive carcinomas. Tumors' vascularization was similar among groups (p>0.05). Mammary tumors from group II exhibited the lowest proliferation (p<0.05) and apoptotic indexes. The mainly positive effect of the inhibition of mast cell degranulation seems to be the reduction of tumor proliferation when the mast cell degranulation was inhibited before tumor development.

Acknowledgments: This work was supported by National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the project UID/AGR/04033/2019 and by the project PTDC/DTP-DES/6077/2014.

Gonadoblastoma ovárico canino coberto por disgerminoma numa cadela

Ana R. Flores^{1,2,3}, João Lobo^{1,4,5}, Francisco Nunes^{1,6,7}, Alexandra Rêma¹, Paula Lopes⁴, Luís Carvalho⁷, Carla Bartosch^{4,5}, Irina Amorim^{1,2,8}, Fátima Gartner^{1,2,8}

¹Department of Pathology and Molecular Immunology of the Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto. Rua Jorge Viterbo Ferreira nr.228, 4050-313 Porto, Portugal. ²Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto (IPATIMUP); Rua Dr. Roberto Frias s/n, 4200-465 Porto, Portugal. ³Center of Animal and Veterinary Sciences (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta dos Prados, apartado 1013, 5001-801, Vila Real, Portugal ⁴Department of Pathology, Portuguese Oncology Institute of Porto (IPO Porto), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072, Porto, Portugal. ⁵Cancer Biology and Epigenetics Group, Research Center (CI-IPOP) of Portuguese Oncology Institute of Porto (IPO Porto), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072, Porto, Portugal. ⁶Epidemiology Research Unit, Institute of Public Health of the University of Porto (ISPUP); Rua das Taipas nº135, 4050-600, Porto, Portugal. ⁷Marinha Grande Veterinary Hospital, Rua D. João Pereira Venâncio nr. 7, 2430-291 Marinha Grande, Portugal. ⁸Institute for

Research and Innovation in Health, (i3S), University of Porto. Rua Alfredo Allen, 4200-135 Porto, Portugal
fgartner@ipatimup.pt

O gonadoblastoma (GB) é um tumor misto de células germinativas e cordões sexuais/estromal raro, descrito pela primeira vez em seres humanos, que é comumente encontrado em gónadas disgenéticas, de pacientes intersexuais que possuem um cromossoma Y. No entanto, esta entidade não é reconhecida na classificação da OMS de tumores do sistema genital dos animais domésticos. Aqui, descrevemos um caso de GB ovárico com proliferação de disgerminoma e componentes de tumor dos cordões sexuais/estroma, numa cadela fenotípica e citogeneticamente normal. Apresentação do caso: uma cadela cruzada de 17 anos de idade apresentava uma massa multinodular, cinza-branca e firme no ovário esquerdo. O tumor foi submetido a exame histopatológico e o cromossoma Y foi detetado por meio de análise de cariótipo e estudos de PCR. Microscopicamente, o parênquima ovário foi quase substituído por uma neoplasia irregular composta por três elementos distintos: disgerminoma, tumor misto de células germinativas e cordões sexuais/estroma, assemelhando-se ao GB humano e componente proliferativo de tumor dos cordões sexuais/estroma. As células germinativas dos componentes GB e disgerminoma foram imunorreativas para c-KIT. As células dos cordões sexuais/estroma do GB foram imunorreativas para α -inibina. O tumor dos cordões sexuais/estroma foi imunorreativo para AE1/AE3, ocasionalmente para α -inibina e negativo para o antígeno membranar epitelial (EMA). O cariótipo foi de 78, XX e a análise de PCR confirmou a ausência do cromossomo Y. Conclusão: com base nestes achados, foi feito o diagnóstico de GB com proliferação de disgerminoma e tumor dos cordões sexuais/estroma. Este é o primeiro caso de GB ovárico numa cadela.

Canine ovarian gonadoblastoma with dysgerminoma overgrowth in a bitch

Ana R. Flores^{1,2,3}, João Lobo^{1,4,5}, Francisco Nunes^{1,6,7}, Alexandra Rêma¹, Paula Lopes⁴, Luís Carvalho⁷, Carla Bartosch^{4,5}, Irina Amorim^{1,2,8}, Fátima Gartner^{1,2,8}

¹Department of Pathology and Molecular Immunology of the Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto. Rua Jorge Viterbo Ferreira nr.228, 4050-313 Porto, Portugal. ²Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto (IPATIMUP); Rua Dr. Roberto Frias s/n, 4200-465 Porto, Portugal. ³Center of Animal and Veterinary Sciences (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta dos Prados, apartado 1013, 5001-801, Vila Real, Portugal ⁴Department of Pathology, Portuguese Oncology Institute of Porto (IPO Porto), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072, Porto, Portugal. ⁵Cancer Biology and Epigenetics Group, Research Center (CI-IPOP) of Portuguese Oncology Institute of Porto (IPO Porto), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072, Porto, Portugal. ⁶Epidemiology Research Unit, Institute of Public Health of the University of Porto (ISPUP); Rua das Taipas nº135, 4050-600, Porto, Portugal. ⁷Marinha Grande Veterinary Hospital, Rua D. João Pereira Venâncio nr. 7, 2430-291 Marinha Grande, Portugal. ⁸Institute for Research and Innovation in Health, (i3S), University of Porto. Rua Alfredo Allen, 4200-135 Porto, Portugal
fgartner@ipatimup.pt

Gonadoblastoma (GB) is a rare mixed germ cell-sex cord-stromal tumour, first described in humans, commonly found in dysgenetic gonads of intersex patients that have a Y chromosome. However, this entity is not recognized in the WHO classification of tumours of genital system of domestic animals. Herein, we describe a case of ovarian GB with proliferation of dysgerminoma and sex cord-stromal tumour components, in a phenotypically and cytogenetically normal bitch. Case presentation: A 17-year-old cross-breed bitch had a firm, grey-white multinodular mass in the left ovary. The tumour was submitted to histopathological examination and Y chromosome

detected through karyotype analysis and PCR studies. Microscopically, the ovary was almost replaced by an irregular neoplasm composed of three distinct, intermixed elements: dysgerminoma, mixed germ cell-sex cord-stromal tumour resembling human GB and a proliferative sex cord-stromal tumour component. The germ cells of GB and dysgerminoma components were immunoreactive for c-KIT. Sex cord-stromal cells of GB were immunoreactive for α -inhibin. The sex cord-stromal tumour was immunoreactive for AE1/AE3, occasionally for α -inhibin and negative for epithelial membrane antigen (EMA). The karyotype was 78, XX and PCR analysis confirmed the absence of the Y chromosome. Conclusion: Based on these findings, a diagnosis of GB with proliferation of dysgerminoma and sex cord-stromal tumour was made. This is the first case of ovarian GB in a female dog.

Antigénio Sialil-Tn- um preditor doce na progressão do cancro gástrico em cães

Ana R. Flores^{1,2,3}, Isabel Lemos¹, Alexandra Rêma¹, Ana L. Saraiva^{1,3}, Marian Taulescu⁴, Fernanda Seixas³, Celso A. Reis^{1,2,5}, Fátima Gärtner^{1,2,5}, Irina Amorim^{1,2,5}

¹Department of Pathology and Molecular Immunology of the Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto. Rua Jorge Viterbo Ferreira nr.228, 4050-313 Porto, Portugal. ²Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto (IPATIMUP); Rua Dr. Roberto Frias s/n, 4200-465 Porto, Portugal. ³Center of Animal and Veterinary Sciences (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta dos Prados, apartado 1013, 5001-801, Vila Real, Portugal. ⁴Pathology department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Romania. ⁵Institute for Research and Innovation in Health, (i3S), University of Porto. Rua Alfredo Allen, 4200-135 Porto, Portugal
iamorim@ipatimup.pt

A glicosilação é uma modificação pós-tradução complexa nas proteínas de superfície celular e secretadas. A glicosilação anormal das glicoproteínas pode interferir com a regulação da adesão, migração e proliferação celular. Uma das alterações de glicosilação mais comuns no cancro é a síntese incompleta de oligossacarídeos ligados às mucinas levando à expressão dos antígenos Tn e sialil-Tn (STn). Evidências crescentes associam a expressão desses carboidratos com o desenvolvimento e a progressão de diferentes tipos de cancro humanos, incluindo cancro gástrico. No presente estudo, a expressão de antígenos Tn e STn foi avaliada por imunohistoquímica numa série de amostras de tecido gástrico canino, incluindo mucosa gástrica normal (n = 3), pólipos gástricos (GPs; n = 9) e carcinomas gástricos (GCs; n = 25), assim como embolos neoplásicos (n = 12) e lesões metastáticas (n = 8). Nas amostras gástricas normais, o antigénio Tn foi detectado nas estruturas epiteliais gástricas, mas o antigénio STn estava completamente ausente. Da mesma forma, todos os GPs expressaram o antígeno Tn, mas nenhum apresentou imunomarcagem do antígeno STn. Nos GCs, o antigénio Tn foi expresso em 96% dos casos e o antigénio STn em 68% das neoplasias. A expressão do antigénio STn foi significativamente superior nos carcinomas em comparação com a mucosa normal (P = 0,0227). Não foi encontrada associação significativa entre a expressão de Tn e STn, classificação da OMS e diferenciação tumoral. Todos os embolos neoplásicos expressaram antigénio Tn e STn; Além disso, a expressão foi sempre semelhante ou superior à do tumor primário. Estes resultados ligam a expressão do antigénio STn à transformação neoplásica e sugerem que o antigénio STn pode ser um marcador útil da progressão do cancro gástrico em cães.

Sialyl-Tn antigen- a sweet predictor of gastric cancer progression in dogs.

Ana R. Flores^{1,2,3}, Isabel Lemos¹, Alexandra Rêma¹, Ana L. Saraiva^{1,3}, Marian Taulescu⁴, Fernanda Seixas³, Celso A. Reis^{1,2,5}, Fátima Gärtner^{1,2,5}, Irina Amorim^{1,2,5}

¹Department of Pathology and Molecular Immunology of the Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto. Rua Jorge Viterbo Ferreira nr.228, 4050-313 Porto, Portugal. ²Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto (IPATIMUP); Rua Dr. Roberto Frias s/n, 4200-465 Porto, Portugal. ³Center of Animal and Veterinary Sciences (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta dos Prados, apartado 1013, 5001-801, Vila Real, Portugal. ⁴Pathology department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Romania. ⁵Institute for Research and Innovation in Health, (i3S), University of Porto. Rua Alfredo Allen, 4200-135 Porto, Portugal
iamorim@ipatimup.pt

Glycosylation is a complex posttranslational modification in cell-surface and secreted proteins. Abnormal glycosylation of glycoproteins may interfere with regulation of cell adhesion, migration and proliferation. One of the most common glycosylation changes in cancer is the incomplete synthesis of O-linked oligosaccharide in mucins leading to the expression of Tn and sialyl-Tn (STn) antigens. There is a growing body of evidences that associate the expression of these carbohydrates with development and progression of different types of human cancers, including gastric cancer. In the present study Tn and STn antigens expression was examined immunohistochemically in a serie of canine gastric tissue specimens including, normal gastric mucosa (n=3), gastric polyps (GPs; n=9) and gastric carcinomas (GCs; n=25), as well as neoplastic emboli (n=12) and metastatic lesions (n=8). In normal gastric samples, Tn antigen was detected in gastric epithelial structures, but STn antigen was completely absent. Similarly, all GPs expressed Tn antigen but none displayed STn antigen immunostaining. In GCs, Tn antigen was expressed in 96% of the cases and STn antigen in 68% of the neoplasms. STn antigen expression was significantly higher in carcinomas compared with normal gastric mucosa (P=0.0227). No significant association was found between Tn and STn expression, WHO classification nor tumour differentiation. All neoplastic emboli expressed Tn and STn antigens; furthermore the expression was always similar or higher than that of the primary tumour. These findings link the expression of STn antigen to neoplastic transformation and suggest that STn antigen may be a useful marker of gastric cancer progression in dogs.

Identificação de larvas de *Phyllobothrium* spp. (Phyllobothriidae) durante a necropsia de um golfinho comum (*Delphinus delphi*) da costa Portuguesa

Antonieta Alvarado^{1,2}, Ana Maria Munhoz¹, Rute Noiva³, José Catarino¹, Pedro Faísca¹

¹CBIOS - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, Campo Grande, 1749-024 Lisboa - Portugal. ²Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-801 Vila Real- Portugal. ³Veterinary School of Bristol University Langford House, Langford, UK

Phyllobothrium delphini é um cestode que pertence à família Phyllobothriidae e cuja forma larvar parasita os mamíferos marinhos. Por norma, a larva é encontrada no tecido subcutâneo e, apesar do seu ciclo de vida ainda não estar bem definido, os cetáceos são descritos como hospedeiros intermediários ou paraténicos. Neste trabalho descrevemos o caso de um Golfinho comum (*Delphinus delphi*), proveniente da costa Portuguesa, que foi sujeito a exame de necropsia e cuja causa de morte foi laceração da musculatura abdominal com evisceração de ansas intestinais e consequente peritonite. Durante a esfola, foram identificadas entre o tecido subcutâneo e a musculatura

adjacente, estruturas parasitárias capsuladas, em forma de lágrima, com 1cm de comprimento e coloração amarelada que formavam cavitações. Apesar do avançado estado de autólise postmortem do cadáver, as larvas ainda apresentavam motilidade. Foram extraídas 10 larvas para observação e identificação utilizando-se um microscópio estereoscópico. Após estudo parasitológico, os parasitas foram identificados como estadio larvar de cestodes do género *Phyllobothrium*. Diferentes espécies deste género foram descritas previamente em zonas costeiras da América e Europa, sendo a costa mediterrânica uma delas, parasitando diferentes espécies de cetáceos, incluindo golfinhos. Apesar dos estudos recentes não serem esclarecedores sobre o impacto desta parasitose nestes hospedeiros, este caso sublinha a importância da realização de necropsias de maneira sistemática nestas espécies de mamíferos marinhos, sinalizando para a identificação deste tipo de parasitose e o seu impacto na saúde do hospedeiro.

Identification of larvae of *Phyllobothrium* spp. (Phyllobothriidae) during a necropsy of a common dolphin (*Delphinus delphi*) from the Portuguese coast

Antonieta Alvarado^{1,2}, Ana Maria Munhoz¹, Rute Noiva³, José Catarino¹, Pedro Faísca¹

¹CBIOS - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, Campo Grande, 1749-024 Lisboa – Portugal. ²Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-801 Vila Real- Portugal. ³Veterinary School of Bristol University Langford House, Langford, UK

Phyllobothrium delphini is a cestode of the Phyllobothriidae's family and whose larval form parasitizes marine mammals. Larvae are commonly found in the subcutaneous tissue and, although their life cycle is still not well defined, cetaceans are described as intermediate or paratenic hosts. In this work we describe the case of a common dolphin (*Delphinus delphi*), brought from the Portuguese coast, which was subjected to post-mortem examination and whose cause of death was laceration of the abdominal musculature with evisceration of intestinal loops and peritonitis. During the removal of the skin, teardrop-shaped, 1 cm long and yellow parasitic structures were identified between the subcutaneous tissue and the adjacent musculature, forming small cavities. Despite advanced state of postmortem autolysis of the corpse, the larvae still presented motility. Ten larvae were extracted for observation and identification using a stereoscopic microscope. After parasitological study, they were identified as the larval stage of cestodes belonging to the *Phyllobothrium* genus. Different species of this genus have been described previously in coastal zones of America and Europe, being the Mediterranean coast one of them, parasitizing different species of cetaceans, including dolphins. Although recent studies do not explain the impact of this parasite on these hosts, this case underlines the importance of performing necropsies in a systematic way in these species of marine mammals, signaling the identification of this type of parasite and its impact on host health.

Seroprevalência de *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Rickettsia* spp. em cães do distrito de Aveiro, Portugal

Beatriz S. Rego^{1*}, Patrícia F. Barradas¹, Hugo Vilhena^{2,3,4}, Irina Amorim^{1,5,6}, Fátima Gärtner^{1,5,6}

¹Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, Porto, Portugal. ²Animal and

Veterinary Research Centre (CECAV), School of Agrarian and Veterinary Sciences, UTAD, Vila Real, Portugal. ³Department of Veterinary Medicine, Escola Universitária Vasco da Gama, Coimbra, Portugal. ⁴Hospital Veterinário do Baixo Vouga, Águeda, Portugal. ⁵Institute of Research and Innovation in Health, University of Porto, R. Alfredo Allen, Porto, Portugal (i3S). ⁶Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto (IPATIMUP), Rua Júlio Amaral de Carvalho, Porto, Portugal
beatriz_rego_3@hotmail.com

Os cães são sentinelas importantes para identificar agentes patogénicos transmitidos por carraças que circulam numa região geográfica específica. Estes animais são hospedeiros de carraças e podem ser usados para avaliar quais os agentes infecciosos transmitidos por carraças e que podem infetá-los. Não existem dados serológicos disponíveis sobre estes agentes que infetam cães do distrito de Aveiro. Para avaliar o risco de exposição deste grupo de cães, foi realizado um ensaio sorológico para investigar a prevalência de *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Rickettsia* spp. As amostras de soro foram testadas para anticorpos IgG contra *Babesia canis* e *Ehrlichia canis* usando kits comerciais ELISA (Babesia-ELISA dog (AFOSA GmbH) e MagaELISA® EHRlichia canis, respetivamente) e o grupo de febres exantemáticas foi testado por IFA (In-House Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge). De um total de 67 amostras de soro testadas por um kit comercial ELISA, 4 cães (6,0%) apresentaram-se soro-reativos a *Babesia canis* e 1 cão (1,5%) a *Ehrlichia canis*. Das 62 amostras testadas por IFA, 35 cães (56,5%) mostraram a presença de anticorpos IgG reativos contra *Rickettsia* spp. A deteção serológica específica de anticorpos contra mais de um agente patogénico registou que 27% dos cães, contendo 9% reação positiva a *B. canis* + *R. spp.*, 4% a *E. canis* + *B. canis*, 2% a *E. canis* + *R. spp.* e 13% para os três agentes. Estes resultados revelam uma elevada ocorrência de agentes transmitidos por carraças em cães da região de Aveiro e destacam a necessidade de manter uma profilaxia regular para reduzir o contacto entre cães, carraças e agentes patogénicos que os infetam.

Serological prevalence of *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs from Aveiro region, Portugal

Beatriz S. Rego^{1*}, Patrícia F. Barradas¹, Hugo Vilhena^{2,3,4}, Irina Amorim^{1,5,6}, Fátima Gärtner^{1,5,6}

¹Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, Porto, Portugal. ²Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), School of Agrarian and Veterinary Sciences, UTAD, Vila Real, Portugal. ³Department of Veterinary Medicine, Escola Universitária Vasco da Gama, Coimbra, Portugal. ⁴Hospital Veterinário do Baixo Vouga, Águeda, Portugal. ⁵Institute of Research and Innovation in Health, University of Porto, R. Alfredo Allen, Porto, Portugal (i3S). ⁶Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto (IPATIMUP), Rua Júlio Amaral de Carvalho, Porto, Portugal
beatriz_rego_3@hotmail.com

Dogs are important sentinels to identify tick-borne pathogens circulating in a specific geographic region. This animal species are hosts of ticks and can be used to assess which tick-borne infectious agents can infect them. No serological data have been available on tick-borne pathogens that infect dogs from Aveiro district. In order to assess the risk of exposure of this group of dogs, a serological assay was performed to investigate the prevalence of *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp.. Serum samples were tested for IgG antibodies to *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* using a commercial ELISA (Babesia-ELISA dog (AFOSA GmbH) and MagaELISA® EHRlichia canis, respectively) and spotted fever group of *Rickettsia* was tested by IFA (In-House Nacional Institute of Health Dr. Ricardo Jorge). From a total of 67 serum samples tested by a commercial ELISA, 4 dogs (6.0%) were

seroreactives to *Babesia canis* and 1 dog (1.5%) to *Ehrlichia canis*. Out of 62 samples tested by IFA, 35 dogs (56.5 %) showed the presence of reactive IgG antibodies against *Rickettsia* spp.. Serological specific antibody detection against more than one pathogenic agent was recorded in 27% of the dogs, comprising 9% with positive reaction to *B. canis* + *R. spp.*, 4% to *E. canis* + *B. canis*, 2% to *E. canis* + *R. spp.* and 13% to the three agents. These results reveal a high occurrence of tick-borne agents in dogs from Aveiro region and highlight the need to maintain a regular prophylaxis to reduce the contact between dogs, ticks and pathogens that infect them.

Caracterização histopatológica das lesões coloreticais induzidas por azoximetano e dextran sulfato de sódio em murganhos FVBn

Bruno Mendes¹, Eduardo Rosa^{2,3}, Adelina Gama^{1,4}, Paula. A. Oliveira^{1,2*}

¹Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal. ²Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal. ³Department of Agronomy, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal. ⁴The Animal and Veterinary Research Centre, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal
*pamo@utad.pt

Os compostos azoximetano (AOM) e dextran sulfato de sódio (DSS) são utilizados frequentemente para a indução de cancro coloretal em roedores. O agente carcinogénico AOM causa danos no ADN e o DSS é um composto pro-inflamatório que altera o epitélio do cólon e induz colite. O objectivo deste trabalho foi a caracterização histopatológica de lesões coloreticais induzidas pela administração de AOM/DSS em murganhos fêmeas FVBn (DGAV, número de aprovação 010535). Neste protocolo, foram utilizados 22 murganhos com 5-6 semanas, divididos em dois grupos: grupo controlo (Grupo I, n=9) e grupo exposto a AOM/DSS (Grupo II; n=13). Os murganhos do Grupo II receberam uma única administração de AOM (7,5 mg/kg) por via intraperitoneal. Uma semana após indução, o composto DSS foi administrado por via oral na água de bebida a 1,5%, durante 7 dias em três ciclos, com intervalos de 7 dias. Os animais tiveram acesso ad libitum a água e ração. Durante o protocolo experimental, foi registado o peso do animal e o consumo de ração e água. Nenhum animal mostrou alterações comportamentais ou sinais clínicos de doença. Treze semanas após a indução procedeu-se ao sacrifício dos animais e os tecidos foram colhidos para histopatologia. À observação macroscópica do intestino, não foram observadas lesões. A avaliação histopatológica revelou a presença de um carcinoma no reto num animal e de lesões de displasia focal do epitélio do cólon em quatro animais, pertencentes ao Grupo II. Foi observada inflamação leve a moderada nos animais de ambos os grupos, sem alteração da arquitetura. Estes resultados não confirmam este protocolo como eficiente na indução de cancro coloretal na estirpe FVBn, apesar de descrito na literatura científica.

Histopathological characterization of colorectal lesions induced by azoxymethane and dextran-sodium sulfate in female FVBn mice

Bruno Mendes¹, Eduardo Rosa^{2,3}, Adelina Gama^{1,4}, Paula. A. Oliveira^{1,2*}

¹Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal. ²Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal. ³Department of Agronomy, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal. ⁴The Animal

and Veterinary Research Centre, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, 5001-811 Vila Real, Portugal
*pamo@utad.pt

Azoxymethane (AOM) with dextran-sodium sulfate (DSS) are commonly used to induce colorectal tumors in laboratory rodents. The AOM carcinogen agent causes DNA damage, whereas DSS is an inflammatory compound that damages colon epithelium and induces colitis. In this research it was intended to make a histological characterization of colorectal lesions induced by the AOM/DSS administration in FVBn female mice (approval number 010535, DGAV). To achieve this goal, it was set an experiment with 22 female mice divided into a control group (Group I, n=9) and a group exposed to AOM/DSS (Group II; n=13). Animals with 5-6 weeks old (Group II) received a single intraperitoneal injection of AOM (SIGMA®) (7.5 mg/kg) on the first day of the experiment. One week later, 1.5% DSS was administered in drinking water for 7 days followed by 7 days interruption; this cycle was repeated 3 times. All animals had ad libitum access to water and food; during the experimental protocol, body weight, food and water consumption were registered weekly. Thirteen weeks after protocol initiation, all animals were humanely sacrificed and tissues were collected for histopathology. None of these animals showed behavior changes or clinical signs of disease during the experimental protocol. One mouse died due to external factors and was excluded. No macroscopic colorectal lesions were observed. Regarding the histopathological analysis, in the AOM/DSS group, one animal presented a carcinoma in the rectum and four animals presented focal dysplasia in colonic epithelium. In both groups, a mild to moderate inflammation was observed, with no disruption of architectural structure. Our results are in contrast with published reports describing this protocol as successful for colorectal induction with this exposure time in this animal model.

Achados histológicos em amostras de músculo de javalis (*Sus scrofa*) infetados por *Sarcocystis miesheriana*

Coelho C^{1,2,3*}, Vala H^{2,3}, Nóbrega C^{2,3}, Esteves F^{3,4}, Mega AC^{2,3}, Santos C^{3,4}, Mesquita JR⁵, Cruz R³, Pires, I¹, Vieira-Pinto, M¹

¹Animal and Veterinary Research Centre, CECAV, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Vila Real, Portugal. ²Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Vila Real, Portugal. ³Agrarian School of Viseu, Polytechnic Institute of Viseu, Portugal. ⁴Centre for Studies in Education, and Health Technologies (CI&DETS), Polytechnic Institute of Viseu, Viseu, Portugal. ⁵Epidemiology Research Unit (EPIUnit), Institute of Public Health, University of Porto, Porto, Portugal
*ccoelho@esav.ipv.pt

Sarcocystis miesheriana é um protozoário de distribuição mundial, sendo a espécie mais prevalente e patogénica que infecta o javali. As técnicas histológicas podem ser muito úteis, não apenas para caracterizar os quistos em amostras de músculo, mas também para descrever achados histológicos coexistentes. A literatura descreve miosite, mionecrose, inflamação perivascular e intersticial, vasculite e miosite eosinofílica como associadas à sarcocistose. Apesar de bem descritos noutras espécies são escassas as informações dos achados histopatológicos disponíveis em javali. Objetivos: foi realizado um estudo retrospectivo para investigar os achados histopatológicos de javalis infectados por *Sarcocystis miesheriana* analisando amostras musculares. Material e Métodos: amostras de músculo (esófago, diafragma, coração) de 66 javalis infectados com *Sarcocystis miesheriana* (PCR positivo e confirmado por sequenciação) foram colhidas. Após fixação em formol neutro a 10%, por um período

máximo de 48h, as amostras foram processadas para o diagnóstico histopatológico de rotina e examinadas por microscopia óptica (Microscope Zeiss Mod. Axioplan 2) por dois patologistas experientes (ensaio cego). Resultados: 83,33% das amostras apresentaram lesões histopatológicas, 66,66% revelaram infiltrado inflamatório discreto (mononuclear, 68,18%; misto, 31,81%) e 16,66% apresentaram infiltrado inflamatório moderado misto. Outros achados histológicos incluíram miosite, mionecrose e vasculite. Discussão e Conclusões: Os resultados obtidos indicam que a presença de infiltrado inflamatório é a lesão histológica mais frequente, tendo sido o tipo misto o predominante. Contudo, a ausência de correlação direta entre a presença de quistos e as lesões encontradas, justifica o desenvolvimento de novos estudos.

Agradecimentos: Este trabalho é financiado por Fundos Europeus de Investimento através do FEDER/COMPETE/POCI - Programa de Competitividade e Internacionalização, no âmbito do projeto POCI-01-0145-FEDER-006958, do projeto UID/Multi/04016/2016 e Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto UID/AGR/04033/2013, bem como projeto Ovislab ICT-2013-05-004-5314 ID-64757.

Histological findings in muscle samples from wild boar (*Sus scrofa*) infected with *Sarcocystis miesheriana*

Coelho C^{1,2,3*}, Vala H^{2,3}, Nóbrega C^{2,3}, Esteves F^{3,4}, Mega AC^{2,3}, Santos C^{3,4}, Mesquita JR⁵, Cruz R³, Pires, I¹, Vieira-Pinto, M¹

¹Animal and Veterinary Research Centre, CECAV. University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real. Portugal. ²Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB). University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real. Portugal. ³Agrarian School of Viseu, Polytechnic Institute of Viseu, Portugal. ⁴Centre for Studies in Education, and Health Technologies (CI&DETS). Polytechnic Institute of Viseu. Viseu. Portugal. ⁵Epidemiology Research Unit (EPIUnit), Institute of Public Health, University of Porto. Porto, Portugal
ccoelho@esav.ipv.pt

Sarcocystis miesheriana is spread worldwide and is the most prevalent and pathogenic species of cyst-forming protozoa infecting wild boar. Histology is useful, not only to characterize *Sarcocystis* in muscle samples, but also, to describe coexisting histological findings. Associated with sarcocystosis, literature has described histopathological findings, such as, myositis, myonecrosis, perivascular and interstitial inflammation, vasculitis, and eosinophilic myositis. These lesions are well described in other species, but scarce information is available in the wild boar. Objectives: A retrospective case study was carried out, in which muscle samples from wild boar, infected with *Sarcocystis miesheriana*, were analysed to investigate histopathological lesions. Material and Methods: Muscle samples (oesophagus, diaphragm, heart) from 66 wild boars, infected with *Sarcocystis miesheriana* (PCR positive and confirmed by sequencing), were collected. After fixation in neutral buffered formalin 10%, for a maximum of 48h, samples were processed for routine histopathological diagnosis and examined by light microscopy, in a single blinded fashion (Microscope Zeiss Mod. Axioplan 2) by two pathologists. Results: Histopathology revealed lesions in 83.33% of all analysed samples, 66.66% presented mild inflammatory infiltrate (mononuclear, 68,18%; mixed, 31,81%) and 16,66% exhibited a moderate mixed infiltrate. Myositis, myonecrosis and vasculitis were also found. Discussion and Conclusions: These results indicate the presence of inflammatory infiltrate as the most frequent histological lesion, showing predominance of the mixed type. More studies are needed in order to clarify this issue. More studies will be needed to deepen the direct relationship between the lesions and the presence of the cysts.

Acknowledgments: this work is supported by National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the project UID/AGR/04033/2019, as well as Ovislab ICT-2013-05-004-5314 ID-64757.

Hipovitaminose A como causa de morte perinatal em canários de fator vermelho

Fernanda Seixas¹, Roberto Sargo², Luís Sousa², Maria A. Pires¹, Isabel Dias²

¹CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real. ²Serviço de Clínica de Animais Exóticos do Hospital Veterinário da UTAD, Vila Real, Portugal

A hipovitaminose A é, na clínica aviária, uma doença comum mas evitável. As aves de estimação que apresentam uma dieta exclusivamente à base de sementes, estão predispostas a desenvolver deficiente desta vitamina. A vitamina A é essencial à saúde das aves. Em situações de hipovitaminose A ocorre metaplasia escamosa da orofaringe, coanas e seios, dos tratos gastrointestinal, urogenital, reprodutor e hiperqueratose dos pés. As alterações no trato reprodutor causam fraca performance reprodutiva: diminuição da ovopostura, aumento do tempo entre posturas, baixa taxa de crescimento dos pintos, etc. Aqui apresentamos um caso de hipovitaminose A associado a alta mortalidade perinatal. Um criador de canários (*Serinus canaria*) de competição consultou o Serviço de Clínica de Animais Exóticos do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD) devido a morte embrionária recorrente. Os adultos reprodutores estão aparentemente saudáveis, mas pintos não eclodem. Os ovos foram abertos por rotina; os embriões estavam bem desenvolvidos, em posição normal, apresentando apenas alguns detritos nas aberturas nasais. Amostras de albumina e vitelo foram submetidos a cultura microbiológica, tendo sido negativos. Cinco destes embriões foram enviados para o Laboratório de Histologia e Anatomia Patologia da UTAD. À observação microscópica os embriões não apresentavam alterações significativas, exceto metaplasia escamosa do epitélio dos cornetos nasais sugerindo hipovitaminose A. A falha na eclosão e aumento da mortalidade embrionária secundária à hipovitaminose A tem sido relatada em galinhas. Este caso evidencia a importância da vitamina A em canários reprodutores

Hypovitaminosis A as a cause of increased perinatal mortality in red-factor canaries

Fernanda Seixas¹, Roberto Sargo², Luís Sousa², Maria A. Pires¹, Isabel Dias²

¹CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real. ²Serviço de Clínica de Animais Exóticos do Hospital Veterinário da UTAD, Vila Real, Portugal

The most common preventable avian disease in clinical practice is hypovitaminosis A. Pet (ornamental) birds that eat only seeds are most prone to this condition because of its low content in vitamin A. Vitamin A is vital in avian health and is crucial for a healthy immune system. Hypovitaminosis A causes squamous metaplasia of epithelium within the oropharynx, choana, sinuses, gastrointestinal, urogenital and reproductive tracts, and hyperkeratosis of the feet. The metaplastic changes on the reproductive tract cause low reproductive performance: decreased egg-laying, increased length of time between clutches, low growth rates of the chicks, etc. Here we report a case of hypovitaminosis A associated with high perinatal mortality. A competition canary (*Serinus canaria*) breeder consulted the Exotic Clinic of the Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD) Veterinary Teaching

Hospital due to a recurrent embryonic death during egg incubation. Breeding adults seemed healthy but chicks failed to hatch up. Eggs were opened routinely and embryos were well developed, in a normal position, presenting small amount of debris in the nasal openings. Albumen and yolk samples were sent for microbiological culture that rendered negative results. Five embryos were sent to the Histology and Anatomical Pathology Laboratory of UTAD. Microscopically they showed no significant alterations except for squamous metaplasia of the epithelium of nasal turbinates, suggesting hypovitaminosis A. Decreased hatchability and increased embryonic mortality secondary to hypovitaminosis A has been reported in hens. This report highlights the importance of vitamin A in breeding canaries.

Teratoma maligno com carcinomatose peritoneal: relato de caso

Fernanda Seixas^{1*}, Adelina Gama¹, Ana M. Calado¹, Mário Ginja², Paula A. Oliveira², Rui Gil da Costa³

¹CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real, Portugal. ²CITAB, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real, Portugal. ³Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Av. dos Portugueses, S. Luís, Brasil
fseixas@utad.pt

Os teratomas espontâneos são incomuns nos animais mas têm sido descritos ocasionalmente em estirpes "inbred" de murganho. Estes tumores têm usualmente origem em células germinativas totipotenciais do ovário ou testículo e podem apresentar diferenciação em células de dois ou mais folhetos embrionários (ectoderme, mesoderme e endoderme). Neste trabalho descrevemos um caso de teratoma espontâneo em murganho FVB/n. Um murganho fêmea de 26 semanas apresentando distensão abdominal e emagrecimento progressivo foi sacrificado e submetido a exame post mortem. O exame de necrópsia revelou uma massa ligada ao corno uterino direito, que ocupava toda a cavidade abdominal, com 20,6g e 5,5x3,5x2,8 cm nas suas maiores dimensões, constituída por vários quistos e áreas sólidas, brancas. À observação microscópica, a massa apresentava áreas de diferenciação epidermóide com queratina laminada e glândulas sebáceas, áreas de epitélio respiratório e digestivo, cartilagem, osso e extensas áreas de diferenciação em tecido nervoso. A lesão apresentava fenótipo invasor com presença de células neoplásicas na serosa de órgãos abdominais. Com base nos achados macro e microscópicos foi efetuado o diagnóstico de teratoma maligno com carcinomatose peritoneal.

Agradecimentos: Este trabalho foi suportado pelos fundos de Investimento Europeu FEDER/COMPETE/POCI – sob o Projeto POCI-01-0145-FEDER-016728 e Fundos da Fundação para a Ciência e Tecnologia PTDC/DTP-DES/6077/2014.

Spontaneous malignant teratoma with peritoneal carcinomatosis: a case report

Fernanda Seixas^{1*}, Adelina Gama¹, Ana M. Calado¹, Mário Ginja², Paula A. Oliveira², Rui Gil da Costa³

¹CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real, Portugal. ²CITAB, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real, Portugal. ³Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Av. dos Portugueses, S. Luís, Brasil
fseixas@utad.pt

Spontaneous teratomas are generally uncommon in animals but have occasionally been reported in inbred strains of mice. These tumors originate in totipotential ovary or testicular germ cells and may differentiate into cells of two or more embryonic layers (ectoderm, mesoderm, and endoderm). In this work we describe a

case of spontaneous teratoma in a FVB/n mouse. A 26-week-old female FVB/n mouse presenting abdominal distension and progressive weight loss was sacrificed and submitted to post mortem examination. The necropsy revealed a mass attached to the right uterine horn, occupying the abdominal cavity, with 20.6g and 5.5x3.5x2.8 cm, consisting of several cysts and solid, whitish areas. Microscopically, the mass presented areas of epidermoid differentiation with keratin and sebaceous glands, areas of respiratory and digestive epithelium, cartilage, bone and extensive areas of differentiation in nervous tissue. The lesion presented invasive phenotype with presence of neoplastic cells in the serosa of abdominal organs. Based on these findings, a diagnosis of malignant teratoma with peritoneal carcinomatosis was made.

Acknowledgments: This work was supported by European Investment Funds by FEDER/COMPETE/POCI- Operational Competitiveness and Internationalization Program, Project POCI-01-0145-FEDER-016728 and by the FCT- Portuguese Foundation for Science and Technology, project PTDC/DTP- DES/6077/2014.

Um caso de pediculose in extremis

Vala H^{1,2*}, Esteves F^{2,3}, Mega AC^{1,2}, Santos C^{2,3}, Coelho C^{1,2,4}, Nóbrega C^{1,2}, Cruz R², Mesquita JR⁵

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB). University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real. Portugal. ²Agrarian School of Viseu, Polytechnic Institute of Viseu, Portugal. ³Centre for Studies in Education, and Health Technologies (CI&DETS). Polytechnic Institute of Viseu. Viseu. Portugal. ⁴Animal and Veterinary Research Centre, CECAV. University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real. Portugal. ⁵Epidemiology Research Unit (EPIUnit), Institute of Public Health. University of Porto. Porto. Portugal
hvala@esav.ipv.pt, +351 933256484

Os piolhos sugadores são ectoparasitas hematófagos obrigatórios, específicos de hospedeiro de mamíferos, incluindo caprinos. Apesar da sua distribuição mundial, descrições de casos extremos de pediculose, com elevadas perdas económicas em explorações de caprinos na Europa, são escassas na literatura. Objetivos: Descrição de um caso de pediculose severa em caprinos na região Serra da Estrela, Portugal, diagnosticado por necrópsia, documentado por imagens macro e microscópicas. História Clínica: Efetivo de 500 animais em que 20 apresentavam magreza e debilidade. Material e Métodos: Realizou-se a necrópsia e colheita de tecidos para histopatologia. Realizou-se a observação dos ectoparasitas através de lupa binocular e de microscópio ótico. Resultados: As lesões mais notórias, observadas no exame post mortem, incluíram anemia e uma infestação intensa e generalizada de piolhos de cor azulada. O exame macroscópico mais detalhado revelou a presença de adultos e de ovos mais concentrados na pele do pescoço e dorso. A observação dos exemplares recolhidos em lupa binocular e microscópio ótico, revelou tratarem-se de piolhos de 2 mm de comprimento, com características compatíveis com piolhos sugadores do género *Linognathus*.

Discussão e conclusões: Em caprinos, os piolhos sugadores mais comuns são o *Linognathus stenopsis* e o *L. africanus*. A mortalidade por anemia tem sido descrita em infestações intensas, tal como verificado no presente caso. Do nosso conhecimento, é a primeira descrição de infestação intensa e generalizada de *Linognathus* spp. nesta região, onde os caprinos têm importância económica, justificando-se o delineamento de estudos futuros para estimar as perdas económicas causadas por estes ectoparasitas, de forma a estabelecer medidas profiláticas eficazes.

Agradecimentos: Este trabalho é financiado por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito

do projeto UID/AGR/04033/2019, bem como projeto Ovislab ICT-2013-05-004-5314 ID-64757.

A case of caprine pediculosis in extremis

Vala H^{1,2*}, Esteves F^{2,3}, Mega AC^{1,2}, Santos C^{2,3}, Coelho C^{1,2,4}, Nóbrega C^{1,2}, Cruz R², Mesquita JR⁵

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB). University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real. Portugal. ²Agrarian School of Viseu, Polytechnic Institute of Viseu, Portugal. ³Centre for Studies in Education, and Health Technologies (CI&DETS). Polytechnic Institute of Viseu. Viseu. Portugal. ⁴Animal and Veterinary Research Centre, CECAV. University of Trás-os-Montes and Alto Douro. Vila Real. Portugal. ⁵Epidemiology Research Unit (EPIUnit), Institute of Public Health. University of Porto. Porto. Portugal
*hvala@esav.ipv.pt, +351 933256484

Sucking lice are host-specific, obligate, hematophagous ectoparasites of mammals, such as goats. Although their distribution is worldwide, reports of extreme cases of pediculosis, with serious economic loss in European goat herds, are scarce in the literature. Objectives: Description of a case of severe pediculosis in the Serra da Estrela region, Portugal, diagnosed by necropsy, documented with macro and microscopic figures. Medical History: Herd of 500 goats presenting 20 debilitated and emaciated animals. Material and Methods: Standard necropsy procedure was performed, with thorough *post mortem* examination and tissue sample collection for histopathology. Binocular magnifying glass and light microscopic exam of lice. Results: Notorious lesions exposed by the *post mortem* macroscopic exam included anaemia, along with intense and generalized infestation of bluish-coloured lice. Close macroscopic examination revealed adult lice and eggs, localized more abundantly on the skin of neck and dorsum. Binocular magnifying glass and light microscopic exam showed 2 mm long lice presenting characteristics compatible with sucking lice from *Linognathus* genera.

Discussion and conclusion: In goats, the most common sucking lice are *Linognathus stenopsis* and *L. africanus*. Mortality by exsanguination anaemia has been reported with heavy infestations, as were found in our study. To our knowledge, this is the first time that an intense and generalized infestation of *Linognathus* spp. has been documented in this region. The economic value of goat farming justifies further studies to estimate economic losses caused by these parasites and to establish effective control measures.

Acknowledgments: This work is supported by National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the project UID/AGR/04033/2019, as well as Ovislab ICT-2013-05-004-5314 ID-64757.

Intoxicação por Cobre em Caprinos na região de Santarém, Portugal

Joana Freitas^{1*}, Patrícia Simões¹, Miguel S. Lima¹, Ticiania N. França², Maria C. Peleteiro¹, Paulo V. Peixoto²

¹CIISA, Interdisciplinary Centre of Research in Animal Health, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Av. da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal. ²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil
joana.fs.freitas@gmail.com

Descreve-se a ocorrência de intoxicação por cobre em caprinos Saanen em Santarém, ocorrida entre novembro de 2018 e abril de 2019. De um total de 1600 caprinos, cinco fêmeas foram vítimas de processo de evolução muito rápida. No único exemplar observado em vida registou-se prostração, mucosas pálidas, desidratação e diarreia. À necrópsia dos animais identificou-se icterícia, rins enegrecidos, urina castanho escuro e fígado de coloração esverdeada.

Microscopicamente verificou-se vacuolização dos hepatócitos, colestase canalicular, material granular levemente acastanhado nas células de Kupffer (negativo com o Perls), pequenos agregados de neutrófilos aleatoriamente dispersos no parênquima, necrose individual de hepatócitos e megalócitos. No rim identificou-se nefrose hemoglobinúrica com hemoglobina (pigmento castanho negativo com o Perls) no lume dos tubos corticais e em algumas células tubulares, necrose tubular cortical e cilindros granulares e hialinos. A concentração de cobre analisada no Instituto Ricardo Jorge foi de 557 mg/Kg no fígado e 273 mg/kg no rim (valores de referência: 25-150mg/Kg e 3-6mg/Kg, respetivamente). A coloração rodanina revelou finos grânulos positivos no seio do material acastanhado nas células de Kupffer. O diagnóstico final baseou-se no quadro clínico, na necrópsia e nas lesões histopatológicas típicas da intoxicação por cobre em ruminantes, confirmada pelos elevados níveis de cobre no fígado e rim e pela coloração positiva à rodanina. O estudo determinar se a intoxicação se deveu apenas à ingestão de níveis elevados de cobre, alteração do rácio Cu:Mo na ração, ou se houve coparticipação de alguma hepatotoxina, caracterizando uma intoxicação secundária por cobre.

Copper Poisoning in goats in the Santarém district, Portugal

Joana Freitas^{1*}, Patrícia Simões¹, Miguel S. Lima¹, Ticiania N. França², Maria C. Peleteiro¹, Paulo V. Peixoto²

¹CIISA, Interdisciplinary Centre of Research in Animal Health, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Av. da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal. ²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil
joana.fs.freitas@gmail.com

A case of copper intoxication is described in Saanen goats after sudden death occurring between November 2018 and April 2019 in an intensive farm in the Santarém district. Out of 1600 animals, five females died suddenly. Clinical signs identified in the only goat examined alive were apathy, pale mucosae, dehydration and diarrhea. Necropsy findings in the five goats included icterus, dark brown kidneys, dark brown urine and greenish discoloration of the liver. Microscopic examination revealed diffuse vacuolization of hepatocytes, intralobular cholestasis, small neutrophil aggregates randomly dispersed, light brownish pigment in Kupffer cells (negative with Perls') individual hepatocytes necrosis and megalocytes. In the kidney there was hemoglobinuric nephrosis with hemoglobin granules (negative with Perls') in the lumen of cortical tubules and in the cytoplasm of tubular cells and frequent tubular necrosis and granular and hyaline cylinders. Copper concentration determined by Instituto Ricardo Jorge, reached values of 557 mg/Kg in the liver and 273 mg/kg in the kidney (reference values: 25-150 mg/Kg and 3-6 mg/Kg, respectively). Rodanin staining revealed very fine positive granules within the brownish material in the Kupffer cells. The final diagnosis of copper intoxication was based upon clinical examination, necropsy and microscopic findings typical of copper intoxication in ruminants, together with the very high copper values identified in liver and kidney. Additional studies are being carried out to determine if there were concurrent factors such as hepatotoxins, indicating that the copper intoxication was secondary or if these cases were due to dietary formulation including the Cu:Mo ratio.

Complexo gengivite-estomatite felino: estudo-piloto sobre o impacto dos macrófagos M2 na doença

José Catarino¹, Pedro Faísca^{1,4}, Lígia Lourenço^{2,3}, Carlos Viegas^{3,5}, João Requicha³, Maria dos Anjos Pires^{2,3*}

¹CBIOS Faculty of Veterinary Medicine, Lusófona University, Lisbon, Portugal. ²CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ³Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁴DNAtch – Laboratório Veterinário, Lisboa, Portugal. ⁵3B's Research Group – Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, Department of Polymer Engineering, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark – Parque da Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal *pires@utad.pt

O complexo gengivite-estomatite felino (CGEF) é uma doença crónica das gengivas e mucosa oral caracterizada pela perda de imunotolerância e resposta inflamatória exagerada a um estímulo antigénico contínuo. A sua etiologia é multifatorial e não gera consenso, envolvendo fatores ambientais e sistémicos. Microscopicamente, caracteriza-se pelo infiltrado inflamatório linfoplasmocitário com extensão variável. Os macrófagos são uma das populações celulares características dos processos crónicos e podem diferenciar-se em M1 (pró-inflamatórios) ou M2 (associados a reações de tolerância, reparação e neoplasias). O objetivo deste trabalho foi estudar a população M2 na mucosa oral afetada por CGEF. Foram selecionados 52 casos de CGEF diagnosticados por histopatologia. Realizou-se, por imunohistoquímica, a marcação com CD163 (clone EPR19518) para identificar macrófagos M2, de modo a caracterizar a presença destas células na mucosa oral afetada. De cada caso foram fotografados cinco campos hotspot com objetiva de 40x e utilizou-se o plugin "cell-counter" do software ImageJ (NIH, EUA) para contabilizar o número de células marcadas. Os resultados são apresentados como número médio de células positivas por caso. Como controlo, foi utilizada uma amostra de mucosa oral saudável. Não se observou qualquer macrófago no controlo de mucosa normal. As mucosas com CGEF apresentaram uma média de 384,81±146,11 M2 nos cinco campos avaliados. Os resultados obtidos permitem concluir que a população de macrófagos M2 contribui para a patogenia desta doença, sendo importante no futuro delinear-se terapias direcionadas tendo como alvo estas células para o tratamento mais eficaz do CGEF.

Feline chronic gingivostomatitis: pilot-study on the impact of M2 macrophages on the disease

José Catarino¹, Pedro Faísca^{1,4}, Lígia Lourenço^{2,3}, Carlos Viegas^{3,5}, João Requicha³, Maria dos Anjos Pires^{2,3*}

¹CBIOS Faculty of Veterinary Medicine, Lusófona University, Lisbon, Portugal. ²CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ³Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁴DNAtch – Laboratório Veterinário, Lisboa, Portugal. ⁵3B's Research Group – Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, Department of Polymer Engineering, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark – Parque da Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal *pires@utad.pt

The feline chronic gingivostomatitis (FCG) is a chronic condition of oral mucosa characterized by the loss of immunotolerance and exaggerated inflammatory response against a continuous antigenic stimulus. Its etiology is multifactorial and does not generate

consensus, involving environmental and systemic factors. Microscopically, it is characterized by a chronic lymphoplasmacytic inflammation with variable extension. Macrophages are one of the characteristic cells involved in this process and can be differentiated into M1 (proinflammatory) or M2 (associated with tolerance, repair and neoplasia). The objective of this work was to study the M2 population in the oral mucosa affected by FCG. Fifty-two cases of histopathology diagnosed CGEF were selected. The identification of M2 macrophages positive CD163 (clone EPR19518) was performed by immunohistochemistry. Five hotspot fields were evaluated from each case, with a 40x objective, using the "cell-counter" plugin of the ImageJ software (NIH, USA). Results are presented as mean number of positive cells per case. A healthy oral mucosa sample was used as a control. No M2 macrophage was observed in the normal mucosal control. In the FCG mucosa a mean of 384.81±146.11 labeled cells per case was counted. The obtained results allow us to conclude that the population of M2 macrophages contributes to the pathogenesis of this condition and it will be important in the future to define cells targeted therapies, for the best effective treatment of FCG.

Defeito cardíaco congénito numa Arara-vermelha (*Ara chloropterus*)

Luís Sousa¹, Roberto Sargo¹, Susana Mendes¹, Carlos Venâncio^{2,3}, Isabel Dias^{1,4}, Maria de Lurdes Pinto^{5,6}

¹Serviço de Clínica de Exóticos do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Departamento de Zootecnia, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias (ECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. ³Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Vila Real, Portugal. ⁴Departamento de Ciências Veterinárias, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias (ECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. ⁵Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica (LHAP), UTAD, Vila Real, Portugal. ⁶Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. lpinto@utad.pt, +351 259350177

As doenças cardíacas congénitas em aves estão claramente subdiagnosticadas. Tal pode ser atribuído às dificuldades na avaliação imagiológica do sistema cardiovascular das aves, devido ao seu pequeno tamanho, altas frequências cardíacas, presença de sacos aéreos, existência do osso da quilha, entre outras. Este trabalho descreve um caso onde coexistem dois defeitos cardíacos congénitos: persistência do forâmen subaórtico e estenose subaórtica, numa Arara-vermelha (*Ara chloropterus*). A arara, com 3 meses de idade, apresentou-se à consulta com história clínica de regurgitação e dispneia. Ao exame físico estava deprimida, desidratada, hipotérmica e com o pulso paradoxal fraco. As radiografias evidenciaram uma cardiomegalia com perda do contraste celómico, compatível com ascite. Na necropsia, a ave apresentava desidratação e abdómen distendido. A abertura da cavidade celómica, revelou edema generalizado, ascite e gota visceral. O exame detalhado do coração demonstrou a presença de forâmen oval persistente, com dilatação de ambos os átrios, mais pronunciada no direito, acompanhada por um desvio à esquerda da silhueta cardíaca secundário a uma hipertrofia ventricular concêntrica e estenose subaórtica. As lesões de gota visceral sistémica foram consideradas secundárias e uma consequência das alterações cardíacas. Este caso remete para a necessidade de melhorar a capacidade de diagnóstico imagiológico do sistema cardiovascular das aves, de modo a estabelecer precocemente um diagnóstico correto das doenças cardíacas, que apesar de pouco descritas em aves, podem conduzir a sérios problemas de saúde. Ademais, as doenças cardíacas congénitas devem ser consideradas como possíveis causas de morbidade em aves jovens.

Congenital heart defect in a Red-and-green macaw (*Ara chloropterus*)

Luís Sousa¹, Roberto Sargo¹, Susana Mendes¹, Carlos Venâncio^{2,3}, Isabel Dias^{1,4}, Maria de Lurdes Pinto^{5,6}

¹Serviço de Clínica de Exóticos do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Departamento de Zootecnia, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias (ECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. ³Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Vila Real, Portugal. ⁴Departamento de Ciências Veterinárias, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias (ECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. ⁵Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica (LHAP), UTAD, Vila Real, Portugal. ⁶Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal
¹lpinto@utad.pt, +351 259350177

Cardiac developmental disorders in birds are clearly underdiagnosed. This may be attributed, at least to some extent, to the difficulties on imaging the cardiovascular system of birds, which is complicated due to the size of the patients, the fast heart rates, the presence of air sacs, and the presence of the keel bone, among others. In this work, a congenital heart defect involving persistent foramen ovale and subaortic stenosis in a Red-and-green macaw (*Ara chloropterus*) is described. The animal, 3 months old, was admitted to the veterinary practice with a history of regurgitation and respiratory distress. The physical exam showed depression, dehydration, hypothermia and a paradoxical weak pulse. X-rays showed cardiomegaly and ascites. At necropsy, the bird was dehydrated, and the abdomen dilated. The opening of the thoraco-abdominal cavity revealed generalized oedema and severe visceral gout. Detailed examination of the heart showed the presence of persistent foramen ovale, accompanied by dilation of both left and right atria, more pronounced in the later, as well as a left deviation of the cardiac silhouette with concentric left ventricular hypertrophy and subaortic stenosis. The lesions of visceral gout were considered as secondary, and as consequence of the bird's heart condition. This case point towards the need of improving diagnostic imaging of the cardiovascular system in order to establish an accurate diagnosis of heart conditions that can have significant health implications, but are poorly characterized in birds. Furthermore, heart development pathology must be considered as a possible cause of morbidity in young birds.

Aterosclerose: uma doença nutricional? A propósito de um caso em *Amazona aestiva*

Manuel Zambujo¹, Roberto Sargo¹, Luís Sousa¹, Isabel Dias^{1,2}, Filipe Silva^{1,4}, Isabel Pires^{3,4*}

¹Serviço Clínica de Exóticos do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Vila Real, Portugal. ³Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica (LHAP), UTAD, Vila Real, Portugal. ⁴Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal
¹ipires@utad.pt, Phone: +351 25935064, Fax: +351 259350480

A aterosclerose é uma doença vascular comum em psitacídeos, embora muitas vezes subdiagnosticada. Apesar de todos os psitacídeos serem suscetíveis, é mais comum em papagaios amazónicos (*Amazonas* spp.), Papagaios-cinzentos-africanos (*Psittacus erithacus*), araras (*Ara* spp.), cacatuas (*Cacatua* spp.) e caturras (*Nymphicus hollandicus*). A prevalência e a gravidade das lesões aumenta com a idade do animal e está diretamente relacionada com a alimentação baseada em dietas ricas em lípidos, usualmente, sementes oleaginosas como o girassol. Um papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*), macho, com 33 anos, foi admitido no Serviço de Clínica de Animais Exóticos do Hospital Veterinário da UTAD (HVUTAD) com história de colapso súbito. Ao exame físico, encontrava-se

hipotérmico, hipotenso, hipoglicémico e com convulsões. Após estabilização, foi realizado um exame radiográfico que evidenciou o aumento de radiopacidade de porções das paredes da aorta, em todo o trajeto visível na projeção laterolateral. Apesar da instituição de terapêutica para melhorar o débito cardíaco, a ave faleceu. Na necropsia, observou-se cardiomegalia e espessamento da parede dos grandes vasos cardíacos e aorta abdominal que, à abertura, revelaram placas amarelas, elevadas, com diminuição do lume arterial. Após processamento histológico de rotina do material colhido e fixado em formol a 10% tamponado, observaram-se placas de ateroma, com espessamento da túnica média e íntima das artérias, presença de macrófagos espumosos, fendas de colesterol, áreas de calcificação e metaplasia condroide. De acordo com as lesões macroscópicas e microscópicas o diagnóstico foi de aterosclerose. Este caso reforça a necessidade do rastreio de doenças cardiovasculares adquiridas, em psitacídeos.

Atherosclerosis: A nutritional disease? About a case in *Amazona aestiva*

Manuel Zambujo¹, Roberto Sargo¹, Luís Sousa¹, Isabel Dias^{1,2}, Filipe Silva^{1,4}, Isabel Pires^{3,4*}

¹Serviço Clínica de Exóticos do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Vila Real, Portugal. ³Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica (LHAP), UTAD, Vila Real, Portugal. ⁴Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal
¹ipires@utad.pt, Phone: +351 25935064, Fax: +351 259350480

Atherosclerosis is a common vascular disease in psittacine birds, often underdiagnosed. Although all parrots are susceptible, it is more common in Amazonian parrots (*Amazonas* pp.), African grey parrots (*Psittacus erithacus*), macaws (*Ara* spp.), cockatoos (*Cacatua* spp.) and cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). Its prevalence and severity of lesions increases with the age of the animal and is directly related to lipid-rich diets, usually oleaginous seeds such as sunflower. A 33-year-old male true parrot (*Amazona aestiva*) was admitted to the Exotic Animal Clinic of the UTAD Veterinary Hospital (HVUTAD) with history of sudden collapse. Upon physical examination, the bird was hypothermic, hypotensive, hypoglycaemic and convulsive. After stabilization, the radiographic evaluation was performed and showed increased radiodensity of portions of the aortic walls, throughout the visible path in the laterolateral projection. Despite the therapeutics to improve cardiac output, the bird died. Post mortem examination revealed cardiomegaly and thickening of the wall of the large cardiac vessels and abdominal aorta, which at the opening revealed yellow plaques, with a decrease in arterial lumen. After routine histological processing of the material collected and fixed in 10% buffered formalin, atheromatous deposits were observed, with thickening of the media and intima tunics of the arteries, presence of foam macrophages, cholesterol clefts, areas of calcification and chondroid metaplasia. According to macroscopic and microscopic lesions, the diagnosis was atherosclerosis. This case reinforces the need for the screening of acquired cardiovascular diseases in parrots.

Ocorrência do ácaro *Knemidocoptes mutans* em uma ave ornamental (*Gallus gallus*).

Duque de Araújo A.M., Salvador B.M.C., Alvarado, A., Catarino, J., Faísca, P.

Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona, Campo Grande, 477 Lisboa, Portugal
¹ana.munhoz@ulusofona.pt

O ácaro *Knemidocoptes mutans* pertence à ordem Sarcoptiforme, família Knemidocoptidae sendo o agente etiológico da sarna das patas das aves. É o único género de ácaro da sarna que produz escavação na pele das aves domésticas, assemelhando-se ao género *Sarcoptes* em muitos aspectos. Possui pequena dimensão, é esférico e localiza-se sob as escamas das patas e na pele dos dedos. A fêmea fertilizada escava um túnel sinuoso nas camadas superiores da epiderme, alimentando-se de exsudados dos tecidos danificados. As fêmeas são ovovíparas, dão origem a larvas que migram para a superfície da pele e penetram nas camadas superficiais originando pequenas "bolsas de muda", nas quais realizam mudas para protoninfas, tritonymfas e adultos. O ciclo de vida no hospedeiro é concluído entre 17 a 21 dias. A infestação pode permanecer latente por um longo período com uma pequena população de ácaros até que fatores de stress contribuam para o aumento da população. As aves criadas no solo são as mais afetadas sendo a parasitose altamente contagiosa. No presente estudo o ácaro foi identificado numa ave reprodutora (*Gallus gallus*), macho, da raça Kriel de cor lavander que apresentava hiperqueratose difusa nas patas e dedos, com formação de crostas e consequente alteração da conformação dos dedos. Para a identificação do ácaro foram realizadas raspagens profundas da pele e removidos fragmentos das crostas. As amostras foram clarificadas com lactofenol de Amann e observadas ao microscópio óptico. Sendo sarna knemidocóptica uma ectoparasitose de grande importância nas aves, a apresentação deste caso tem como objetivo a sensibilização para relevância da adoção de medidas profiláticas como a quarentena das aves recém-adquiridas que deve ser procedimento a ser implementado de modo a evitar a introdução desta parasitose numa criação.

The occurrence of the *Knemidocoptes mutans* mite in ornamental chicken (*Gallus gallus*)

Duque de Araújo A.M., Salvador B.M.C., Alvarado, A., Catarino, J., Faísca, P.

Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona, Campo Grande, 477 Lisboa, Portugal
ana.munhoz@ulusofona.pt

Knemidocoptes mutans is a mite belonging to the Sarcoptiform order and Knemidocoptidae family being the etiological agent of bird paw mange. It is the only genus of mange mite excavates the skin of poultry, resembling the *Sarcoptes* genus in many aspects. It has a small dimension, is spherical and can be found under the scales of the feet and in the skin of the fingers. The fertilized female digs a sinuous tunnel into the upper layers of the epidermis, feeding on exudates from damaged tissues. The females are ovoviviparous, giving rise to larvae that migrate to the surface of the skin and penetrate the superficial layers constructing short burrows called "molting pouches" in which they molt protonymphs, tritonymphs and adults. The life cycle in the host is completed between 17 to 21 days. Infestation may remain latent for a long time with a small population of mites until stress factors contribute to population growth. Birds raised in the soil are the most commonly affected. It is considered a highly contagious disease. In the present case, the mite was identified in a male reproductive bird (*Gallus gallus*), of the Kriel breed of lavender color, which presented diffuse hyperkeratosis on the feet and toes, with crust formation and consequent alteration of the of the fingers' conformation. In order to identify the mite, deep scraping of the skin was performed, and fragments of the scabs were removed. The samples were clarified with Amann's lactophenol and observed under an optical microscope. Being a knemidocoptic mange, an

ectoparasitosis of great importance in birds, the presentation of this case has the objective of shedding light to the relevance of this disease and the importance of the adoption of prophylactic measures as quarantine of newly acquired in order to avoid the introduction of this parasitosis on a breeders farm.

Relato de caso: infecção cutânea sugestiva de *Dirofilaria* spp. em cão

Ana C.J. Moura¹, Pâmela C.G.L. Valente^{2*}

¹Assessoria Científica Veterinária, Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, Av. das Nações, 2448 – Portaria A, Unidade Corporativa, Minas Gerias, Brasil. ²CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, Lisboa, Portugal
pampam6@gmail.com, +351 935575602

As afecções cutâneas parasitárias não constituem primeira escolha dentre os diagnósticos diferenciais de lesões tegumentares de cães. No Brasil, relatos de filarídeos infectando cães se limitam a *Dirofilaria immitis*, *Acanthocheilonema reconditum* e *Cercopithifilaria binae*, constituindo achado acidental na maioria dos casos, principalmente em regiões não litorâneas, onde as filarídeos não são comumente descritas. Um cão macho, SRD, de 13 anos, foi atendido em clínica veterinária em Contagem, Minas Gerais (Brasil), apresentando nódulo cutâneo firme, ulcerado, com 3,0 cm de diâmetro, na região do osso frontal. Como suspeita clínica, foram sugeridas neoplasia maligna ou leishmaniose tegumentar. O exame citopatológico da lesão revelou presença de células sanguíneas, debris, células mesenquimais, e microfilárias. Estas também foram visualizadas em amostra de sangue periférico. O teste sorológico para diagnóstico de *Dirofilaria immitis* mostrou-se negativo. O exame morfométrico do parasito realizado através do teste de Knott modificado apontou características sugestivas de *D. immitis*: comprimento e largura médios de 242,34µm ±7,41, e 6,15 µm ±0,18, apresentando amplo espaço cefálico. Amostras de sangue foram encaminhadas para identificação molecular do parasito, mas o diagnóstico definitivo ainda não foi apresentado. O achado acidental de filárias na lesão descrita aponta para a importância de se realizar exame citopatológico, incluindo as afecções por nematoides no diagnóstico diferencial das lesões cutâneas de cães. Aponta também para possibilidade de subdiagnóstico de dirofilariose, nos casos de resultados sorológicos negativos. A identificação correta do parasita é necessária pela sua importância em saúde pública, pelo seu potencial zoonótico e gravidade da doença em cães e seres humanos.

Agradecimentos: este trabalho foi realizado em parceria com o Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, Minas Gerais – Brasil, representado na pessoa de Cid Bastos Fóscolo, Médico Veterinário, Responsável Técnico.

Case report: skin infection suggestive of *Dirofilaria* spp. in dog

Ana C.J. Moura¹, Pâmela C.G.L. Valente^{2*}

¹Assessoria Científica Veterinária, Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, Av. das Nações, 2448 – Portaria A, Unidade Corporativa, Minas Gerias, Brasil. ²CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, Lisboa, Portugal
pampam6@gmail.com, +351 935575602

Parasitic cutaneous conditions are not common among the differential diagnoses of tegumentary lesions in dogs. In Brazil, reports of filaridae infecting dogs are limited to *Dirofilaria immitis*, *Acanthocheilonema reconditum* and *Cercopithifilaria binae*, being an accidental finding in most cases, mainly in non-coastal

regions where filariasis is not commonly described. A male dog, undefined breed, 13-years-old, was treated at a veterinary clinic in Contagem, Minas Gerais, Brazil, presenting a firm and ulcerated nodule, with 3.0 cm diameter on the frontal bone region. As a clinical suspicion, malignant neoplasm or tegumentary leishmaniasis were suggested. The cytopathological examination revealed the presence of blood cells, debris, typical mesenchymal cells and microfilariae. These were also visualized in a peripheral blood sample. The serological test for diagnosis of *Dirofilaria immitis* was negative. Morphometric analysis of the parasite using the modified Knott test showed features suggestive of *D. immitis*: mean length and width of $242,34\mu\text{m} \pm 7,41$ and $6,15\mu\text{m} \pm 0,18$, presenting a wide cephalic space. Blood samples were sent for molecular identification of the parasite, but the definitive diagnosis has not yet been presented. The accidental finding of filariasis in the lesion points to the importance of cytopathological examination, including nematode affections in the differential diagnosis of cutaneous lesions in dogs. It also indicates the possibility of underdiagnosis of heartworm disease, in cases of negative serological results. The correct identification of the parasite is necessary because of its importance in public health, its zoonotic potential and the severity of the disease in dogs and in humans.

Acknowledgments: This work was carried out in partnership with the Hermes Pardini Institute, Vespasiano, Minas Gerais - Brazil, represented in the person of Cid Bastos Fóscolo, Veterinarian, Technical Officer.

Patologia oral em ruminantes silvestres

Paula Mendonça¹, Paulo Carvalho¹, Leonor Orge¹, Narciso Lapão², Rui Bernardino², Teresa Fernandes², Madalena Monteiro¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Laboratório de Patologia, Oeiras, Portugal. ²Jardim Zoológico de Lisboa, Estrada de Benfica, 158-160, 1549-004 Lisboa, Portugal

A patologia oral é uma situação recorrente em ruminantes, de que não são excepção os ruminantes silvestres. Por serem dificilmente detectadas constituem frequentemente uma surpresa de necropsia. Os autores elaboraram uma compilação de algumas afecções da cavidade oral e glândulas anexas mais exuberantes e representativas das que foram observadas nas necropsias realizadas nestas espécies no período decorrido entre 2010-2019.

Oral pathology in wild ruminants

Paula Mendonça¹, Paulo Carvalho¹, Leonor Orge¹, Narciso Lapão², Rui Bernardino², Teresa Fernandes², Madalena Monteiro¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Laboratório de Patologia, Oeiras, Portugal. ²Jardim Zoológico de Lisboa, Estrada de Benfica, 158-160, 1549-004 Lisboa, Portugal

Oral pathology is a recurrent finding in ruminants, of which wild ruminants are no exception. Because those lesions are difficult to notice, they are often a post-mortem surprise during necropsy. The authors elaborated a compilation of the most relevant affections of the oral cavity and annexed glands observed in wild ruminant's necropsies from 2010 to 2019.

Alterações patológicas associadas à presença de ovos e larvas de *Huffmanella* sp. em fanecas, *Trisopterus luscus* da costa Atlântica Portuguesa

Paula Ramos^{1*}, Raquel Carvalho², Alexandra Esteves², Fernanda Seixas², Fernanda Rosa³

¹Laboratório de Patologia de Animais Aquáticos. Instituto Português do Mar e da Atmosfera, IPMA, I.P. Rua Alfredo Magalhães Ramalho, 1449-006 Lisboa, Portugal. ²Centro de Estudos em Ciências Animal e Veterinária, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Apartado 1013, 5001-801 Vila Real, Portugal. ³Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa; Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal pramos@ipma.pt

Em Portugal, o consumo de produtos da pesca é elevado e faz parte da dieta tradicional dos portugueses. A prevenção das zoonoses parasitárias e a necessidade de comercializar produtos da pesca com qualidade e segurança assentam no cumprimento da legislação comunitária. Parasitas dos peixes como o nemátodo *Huffmanella* sp., embora não sendo zoonóticos, têm importância económica especialmente quando a rejeição do peixe infectado é feita pelo consumidor final. Fanecas, *Trisopterus luscus* da nossa costa têm sido retiradas da comercialização devido à cor escura da pele e do músculo. Assim, o presente estudo tem por objectivo caracterizar histologicamente as alterações provocadas por *Huffmanella* sp. em fanecas da costa Portuguesa. O estudo histopatológico revelou a presença de ovos bipolares dispostos ao longo das fibras musculares e permitiu estabelecer uma relação directa entre a intensidade da infecção e o consequente escurecimento do músculo. No músculo infectado observaram-se alterações degenerativas, presença de granulomas multifocais envolvendo os ovos e a calcificação distrófica dos tecidos como provável indicador de necrose muscular. A presença de um grande número de granulomas no músculo de peixes com ligeiro escurecimento do músculo, coloca a possibilidade de estar a ser comercializado peixe com granulomas, o que pode levar à sua rejeição durante o consumo, por irregularidades na textura. As alterações observadas contribuem para reduzir a qualidade do peixe parasitado e a relutância do consumidor em adquirir este tipo de produto da pesca.

Pathological changes associated with eggs and larvae of *Huffmanella* sp. in pouting (*Trisopterus luscus*) from the Atlantic coast of Portugal

Paula Ramos^{1*}, Raquel Carvalho², Alexandra Esteves², Fernanda Seixas², Fernanda Rosa³

¹Laboratório de Patologia de Animais Aquáticos. Instituto Português do Mar e da Atmosfera, IPMA, I.P. Rua Alfredo Magalhães Ramalho, 1449-006 Lisboa, Portugal. ²Centro de Estudos em Ciências Animal e Veterinária, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Apartado 1013, 5001-801 Vila Real, Portugal. ³Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa; Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal

In Portugal, the fishery products consumption is high and included in the traditional diet. The prevention of parasitic zoonoses and the need to market quality and safety fishery products are based on compliance with Community legislation. Fish parasites such as the nematode *Huffmanella* sp. aren't zoonotic parasites, but with economic importance, especially when the final consumer rejects the infected fish. Pouting, *Trisopterus luscus* from the portuguese coast have been removed from commercialization because of the dark color of skin and muscle. Thus, the present study aims to characterize histologically the changes caused by *Huffmanella* sp. in pouting of the Portuguese coast. The histopathological study revealed the presence of bipolar eggs of the nematode arranged along the muscular fibers and allowed to establish a direct relation between the intensity of the infection and the consequent darkening of the muscle. In the infected muscle, degenerative changes were observed, the presence of multifocal granulomas involving the eggs and

dystrophic calcification of the tissues as a probable indicator of muscle necrosis. The presence of a large number of granulomas in the muscle of fish with slight darkening of the muscle, raise the possibility of fish with granulomas are being commercialized, which can lead to its rejection during the consumption, due to irregularities in the texture. The observed changes contribute to reducing the quality of parasitized fish and consumer reluctance to purchase this type of fishery product.

Lesões hepáticas induzidas experimentalmente em sargo, *Diplodus sargus*, após períodos de exposição e de eliminação ao lantânio

Paula Ramos^{1*}, Sandra Branco², Luísa Fialho², Clara Lopes¹, Joana Raimundo¹

¹Laboratório de Patologia de Animais Aquáticos. Instituto Português do Mar e da Atmosfera, IPMA, I.P. Rua Alfredo Magalhães Ramalho, 1449-006 Lisboa, Portugal. ²Departamento de Medicina Veterinária. Escola de Ciências e Tecnologia. Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora. Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal
pramos@ipma.pt

O lantânio (La) é o primeiro elemento dos metais de terras raras e tem especial interesse pois é um dos principais lantanídeos encontrado em efluentes industriais. O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade do La no sargo branco, *Diplodus sargus*, através da histopatologia do fígado. Os peixes foram aclimatados duas semanas antes do ensaio e os períodos de exposição a 60 ngL⁻¹ La através da água foram de 14 dias (T1 a T14). O período de eliminação foi entre T14 e T28. Amostras de cinco peixes foram recolhidas nos dias 0, 1, 3, 7, 14 e 28 nos grupos controlo e experimental. Os resultados mostraram um pico de concentração em T1 e decréscimo acentuado até T3. De T3 a T14 não houve acumulação. Lesões hepáticas foram observadas a partir do final do primeiro dia de exposição e gradualmente mais severas até aos 14 dias de exposição. Observamos células tumefactas com citoplasmas nebulosos e granulares. No 14º dia, gotículas eosinofílicas hialinas estavam presentes no citoplasma, mas o núcleo manteve a forma normal. No final da fase de eliminação (T28), as células assemelhavam-se às do início do ensaio, apresentando diminuição do tamanho e do número de gotículas no citoplasma. Neste estudo, a toxicidade do La é presumivelmente explicada pelo mecanismo de transporte de iões La através das biomembranas. A tumefação celular deve-se à lesão das membranas, que afeta a transferência iónica fazendo com que o citoplasma pareça granuloso e a água se acumule entre as células.

Hepatic lesions induced experimentally in white seabream, *Diplodus sargus* after the exposure and elimination periods to lanthanum

Paula Ramos^{1*}, Sandra Branco², Luísa Fialho², Clara Lopes¹, Joana Raimundo¹

¹Laboratório de Patologia de Animais Aquáticos. Instituto Português do Mar e da Atmosfera, IPMA, I.P. Rua Alfredo Magalhães Ramalho, 1449-006 Lisboa, Portugal. ²Departamento de Medicina Veterinária. Escola de Ciências e Tecnologia. Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora. Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal
pramos@ipma.pt

Lanthanum (La) is the first element of the rare earth elements and is of specific interest as one of the major lanthanides in industrial effluents. The aim of the study was to determine the toxicity of La on white seabream, *Diplodus sargus* through the histopathology of the liver. Fish were acclimatized two weeks before the assay and the exposure periods to 60 ngL⁻¹ La through water was 14 days (T1 to T14). The elimination period was

between T14 and T28. Samples of livers from five fish were collected at days 0, 1, 3, 7, 14 and 28 at the control and experimental groups. The results showed one La peak of concentration at T1 and sharp decrease until T3. From T3 to T14 there was no accumulation. Hepatic lesions were observed from the end of the first day of exposition and gradually more severe until the 14 days of exposure. We observed swollen cells with cloudy and granular cytoplasm's. At the 14th day, eosinophilic hyaline droplets were present at the cytoplasm but the nucleus retain the normal shape. At the end of the elimination phase (T28), the cells resembled those at the beginning of the assay, showing a decrease in the size and number of droplets in the cytoplasm. In this study, La toxicity is presumably explained by the mechanism of transport of La ions through the biomembranes. Cell swelling is explained by membrane damage, affecting ion transfer and causing the cytoplasm to appear granular and water accumulating between the cells.

Estudo das proteínas plasmáticas da coruja-do-mato (*Strix aluco*) por eletroforese capilar de zona

Roberto Sargo^{1*}, Filipe Silva^{1,3}, Ana Silvestre-Ferreira^{2,3}

¹Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da UTAD (CRAS-HVUTAD), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ²Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UTAD, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ³CECAV, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal
roberto.sargo@gmail.com, +351 250350615

A eletroforese de proteínas plasmáticas, é um fator chave na diferenciação entre processos inflamatórios agudos e crónicos na prática clínica dos Centros de Recuperação de Animais Selvagens. A eletroforese capilar de zona oferece melhor resolução na interpretação do proteinograma do que as técnicas convencionais baseadas em gel. Amostras de sangue heparinizadas de 46 Corujas-do-mato (*Strix aluco*) admitidas no Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, entre janeiro de 2015 e julho de 2017, foram analisadas por eletroforese capilar de zona, de forma à obtenção de intervalos de referência (IR) das diferentes frações proteicas do plasma nesta espécie, em Portugal. Todos os animais foram considerados saudáveis, após exame clínico rigoroso. O estudo seguiu as diretrizes da Sociedade Americana de Patologia Clínica Veterinária para a determinação de IR, em animais. Nenhuma amostra foi recolhida propositadamente para este fim. Os IR das proteínas totais (2,8-4,3 g/dl), albumina (1,2-2,4 g/dl), α 2-globulinas (0,1-1,2 g/dl), β -globulinas (0,1-1,4), γ -globulinas (0-0,6 g/dl) e rácio A/G (0,6-1,9) foram calculados por métodos de estatística robusta, para a fração das α 1-globulinas (0-0,5 g/dl) foram usados métodos não paramétricos. Foram encontradas diferenças estaticamente significativas entre os resultados de machos e fêmeas na fração das α 1-globulinas e entre ninhadas e filhotes, ou adultos na fração das γ -globulinas. Os IR obtidos foram comparados com os da literatura, para a mesma espécie, podendo ser utilizados como guia na avaliação do estado de saúde de Corujas-do-mato selvagens, em Portugal.

Study of the plasma proteins of tawny owl (*Strix aluco*) by capillary zone

Roberto Sargo^{1*}, Filipe Silva^{1,3}, Ana Silvestre-Ferreira^{2,3}

¹Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da UTAD (CRAS-HVUTAD), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real,

Portugal. ²Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UTAD, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ³CECAV, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal
[†]roberto.sargo@gmail.com, +351 250350615

In the clinical setting of the Wildlife Rehabilitation Centers (WRC), plasma protein electrophoresis is a key factor in the differentiation between acute and chronic inflammatory processes. Capillary zone electrophoresis offers a better resolution for proteinogram interpretation than gel-based techniques. Heparinized blood samples from 46 healthy Tawny owls (*Strix aluco*) admitted to the Wildlife Recuperation Centre of the Veterinary Hospital of the University of Trás-os-Montes and Alto Douro between January 2015 and July 2017 were analyzed by capillary zone electrophoresis, in order to obtain reference ranges (RR) of the different plasma protein fractions in this species, in Portugal. All animals were considered healthy, after rigorous clinical examination. This study followed the guidelines of the American Society of Veterinary Clinical Pathology for the determination of RR in animals. RRs of total proteins (2.8-4.3 g / dl), albumin (1.2-2.4 g / dl), α 2-globulins (0.1-1.2 g / dl), β - (0.1-0.4), γ -globulins (0-0.6 g / dl) and A / G ratio (0.6-1.9) were calculated using robust statistical methods. For the fraction of the α 1-globulins (0-0.5 g / dl), non-parametric methods were used. Statistically significant differences were found between males and females in the fraction of α 1-globulins and between nestlings and juveniles or adults for the fraction of γ -globulins. The RRs obtained in this study were compared with those of the literature, for the same species, and can be used as a guide in the evaluation of the health status of wild Tawny owls in Portugal.

Primeiro caso de *Straelensia cynotis* em raposa (*Vulpes vulpes*)

Roberto Sargo¹, Stephanie Mota¹, Filipa Loureiro¹, Luís Sousa¹, Filipe Silva¹, Justina Prada^{2*}

¹Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da UTAD (CRAS-HVUTAD), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ²CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica da UTAD, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal
[†]jprada@utad.pt, + 351 259350615

A *Straelensiose* é uma doença parasitária da derme de cães e gatos causada pela forma larvar do ácaro de vida livre *Straelensia cynotis*. Especula-se que o hospedeiro natural desta larva seja a raposa (*Vulpes vulpes*), mas a infestação de raposas nunca foi demonstrada. Um caso de *Straelensiose* em raposa foi diagnosticado numa cria de raposa admitida no Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (CRAS-HVUTAD). Durante a admissão do animal, foram identificadas pápulas e pústulas, que por vezes coalesciam, na cabeça e região cervical dorsal. Estas não apresentavam prurido associado. O animal foi sedado e foram realizadas biópsias de pele de espessura total, com recurso a um punch de biópsia de 6 mm, com incidência nas pápulas e pele envolvente. As amostras de pele foram processadas rotineiramente e coradas com hematoxilina e eosina. A análise histopatológica demonstrou a presença de folículos pilosos dilatados contendo larvas de ácaros bem preservadas e envolvidas por um tubo eosinofílico, identificadas como pertencentes ao género *Straelensia* (Acari: *Leeuwenhoekidae*). As lesões foliculares eram multifocais, consistindo numa marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa e abundante mucinose

perifolicular. As larvas apresentavam uma morfologia oval, quelíceras típicas apontando para a derme e uma cutícula estriada clara. A epiderme sobrejacente demonstrava acantose, com hiperqueratose esponjosa focal e crostas serocelulares. As lesões identificadas são semelhantes às descritas anteriormente em cães. O caso aqui apresentado demonstra que as raposas são, de facto, um possível hospedeiro natural da forma larvar de *Straelensia cynotis*.

First report of *Straelensia cynotis* in red fox (*vulpes vulpes*)

Roberto Sargo¹, Stephanie Mota¹, Filipa Loureiro¹, Luís Sousa¹, Filipe Silva¹, Justina Prada^{2*}

¹Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da UTAD (CRAS-HVUTAD), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ²CECAV, Laboratório de Histologia e Anatomia Patológica da UTAD, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal
[†]jprada@utad.pt, + 351 259350615

Straelensiosis is a parasitic disease of the dermis of dogs and cats, caused by the larva of the free-living mite *Straelensia cynotis*. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are the supposed natural host of this parasite but there are no reports of infestation in this species. A red fox admitted to the Wildlife Rehabilitation Center of the Veterinary Hospital of the University of Trás-os-Montes e Alto Douro (CRAS-HVUTAD) facilities was diagnosed with *Straelensiosis*. At arrival papules and pustules were identified in the skin of the head and dorsal cervical area. Under sedation, full thickness skin biopsies were taken, with a 6 mm skin punch, focusing in retrieving papules and surrounding skin. Skin samples were routinely processed and stained with haematoxylin-eosin. Histopathology revealed the presence of dilated follicles that contained a well-preserved larval mite, identified as belonging to the *Straelensia* genus *Straelensia* (Acari: *Leeuwenhoekidae*), surrounded by an eosinophilic tube. Follicles lesions were multifocal and consisted of a marked pseudoepitheliomatous follicular hyperplasia and a perifollicular mucinosis expanding the dermis locally. Larvae were oval, with typical chelicerae pointing to the dermis and a clear striated cuticle. Overlying epidermis showed acanthosis, with spongy focal hyperkeratosis and serocellular crusts. The lesions identified are similar to those described previously in dogs. The case presented here demonstrates that foxes are in fact a possible natural host of the larval form of *Straelensia cynotis*.

O caso peculiar de varíola aviária de dois ostraceiros Europeus (*Haematopus ostralegus*, Linnaeus, 1758)

Andreia Garcês^{1,2*}, Vanessa Soeiro³, Sara Lóio³, Isabel Pires^{2,4}

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environment and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²Veterinary Science Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ³Parque Biológico de Gaia/Município de Vila Nova de Gaia, Rua da Cunha, 152, Avintes, Portugal. ⁴CECAV- University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal
[†]andreiamvg@gmail.com, +351 918510495

Dois Ostraceiros Europeus juvenis (*Haematopus ostralegus*, Linnaeus 1758) da mesma ninhada pertencentes à coleção zoológica do Parque Biológico de Gaia apresentavam em simultâneo uma formação nodular, localizada na região distal do bico, na rinoteca. A maior media 3.5x2 cm e a outra 2x1,7 cm. As formações apresentavam depressões na superfície dorsal e crostas húmidas escuras aderentes, com algumas áreas de ulceração epitelial. Ambas causavam

deformação no bico e difícil alimentação aos animais. Após a remoção cirúrgica, os nódulos foram enviados para exame histopatológico. Observou-se acantose, hiperqueratose e várias células com espongiose bem como presença de grandes corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos (Corpúsculos de Bollinger) nas células epiteliais. As lesões eram compatíveis com varíola aviária (poxvirus). Infelizmente ambos os animais acabaram por morrer após a cirurgia devido a diversas complicações. É a segunda vez que esta doença é descrita nesta espécie e trata-se de um caso peculiar devido à sua localização no bico.

A peculiar case of smallpox of two Eurasian oystercatcher (*Haematopus ostralegus*, Linnaeus, 1758)

Andreia Garcês^{1,2*}, Vanessa Soeiro³, Sara Lóio³, Isabel Pires^{2,4}

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environment and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²Veterinary Science Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ³Parque Biológico de Gaia/Município de Vila Nova de Gaia, Rua da Cunha, 152, Avintes, Portugal. ⁴CECAV- University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal
andreiamvq@gmail.com, +351 918510495

Two juvenile Eurasian Oystercatchers (*Haematopus ostralegus*, Linnaeus, 1758), belonging to the zoological collection of Parque Biológico de Gaia, presented a nodular formation located in the distal region of the rhinotheca. The nodule ranged between 3.5x2 cm and 2x1.7 cm. The formations were ulcerated with adherents' crusts. Both caused a deformity of the beaks and inability the birds to feed correctly. After the surgical excision, the nodules were sent for histopathological examination. Acanthosis and hyperkeratosis were observed, and various cells presented large intracytoplasmic eosinophilic inclusion bodies (Bollinger corpuscles) in the epithelial cells. The lesions were compatible with avian pox (poxvirus). Unfortunately, the animals died short after surgery due to various complications. It is the second time this disease is described in this species and this is a peculiar case due to its location in the beak.

Nefrite crónica bacteriana numa espécie vulnerável de cágado Mediterrâneo (*Mauremys leprosa*, Schweigger, 1812)

Andreia Garcês^{1,2*}, Vanessa Soeiro³, Sara Lóio³, Justina Prada^{2,4}, Isabel Pires^{2,4}

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environment and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²Veterinary Science Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ³Wildlife Rehabilitation Centre in Parque Biológico de Gaia, Rua da Cunha, 152, Avintes, Portugal. ⁴CECAV- University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal
andreiamvq@gmail.com, +351 918510495

Um cágado-mediterrâneo, *Mauremys leprosa* (Schweigger, 1812), foi admitido no Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Parque Biológico de Gaia com sintomatologia de doença renal. No exame post-mortem, o animal apresentava rins pálidos e aumentados com cavidades císticas contendo um exsudado mucopurulento. O diagnóstico histopatológico foi de nefrite crónica. A análise microbiológica do exsudado identificou *Enterococcus faecalis* como o agente responsável pela infeção. Os autores pretendem com este trabalho, contribuir para aumentar o conhecimento das doenças renais em quelônios particularmente nesta espécie vulnerável.

Bacterial chronic nephritis reported in a vulnerable Mediterranean pond turtle (*Mauremys leprosa*, Schweigger, 1812)

Andreia Garcês^{1,2*}, Vanessa Soeiro³, Sara Lóio³, Justina Prada^{2,4}, Isabel Pires^{2,4}

¹Centre for the Research and Technology of Agro-Environment and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²Veterinary Science Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ³Wildlife Rehabilitation Centre in Parque Biológico de Gaia, Rua da Cunha, 152, Avintes, Portugal. ⁴CECAV- University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal
andreiamvq@gmail.com, +351 918510495

A Mediterranean Pond Turtle, *Mauremys leprosa* (Schweigger, 1812), was admitted to the Wildlife Rehabilitation Centre in Parque Biológico de Gaia with renal disease symptomatology. In post-mortem examination, the animal presented pale and enlarged kidneys with cystic cavities containing a mucopurulent exudate. The histological examination confirmed the diagnosis of chronic nephritis. A microbiological analysis of the exudate identified *Enterococcus faecalis* as the responsible agent for the infection. It is the authors' goal with this report to contribute to understand renal diseases in this vulnerable species.

Lesões neuropatológicas observadas em espécies animais silvestres

Leonor Orge, Paulo M. Carvalho, Paula Mendonça, Madalena Monteiro

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Laboratório de Patologia, Oeiras, Portugal

O desenvolvimento das Neurociências e a emergência das encefalopatias espongiformes transmissíveis animais têm contribuído para um maior interesse pelas doenças do foro neurológico, conduzindo a um incremento do estudo da neuropatologia veterinária especialmente em espécies animais domésticas. As espécies silvestres também podem ser afetadas por várias doenças neurológicas, algumas com impacto na saúde pública como a raiva, a febre do Nilo, gripe aviária, a toxoplasmose. No entanto, o conhecimento e a distribuição das afeções neurológicas nesta população, considerada muitas vezes como reservatório de agentes zoonóticos, são ainda incipientes. Este trabalho tem como objetivo a descrição e a sistematização das alterações neuropatológicas observadas em 46 animais silvestres, entre 1992 e 2018, no laboratório de Patologia do INIAV. O exame neuropatológico incluiu a análise anatomohistopatológica e a deteção por imunohistoquímica de marcadores celulares específicos. As doenças foram categorizadas nas seguintes entidades nosológicas: doenças vasculares, inflamatórias, traumáticas, anomalias/malformações, metabólicas-tóxicas, neoplasias e degenerativas. As afeções inflamatórias foram as mais frequentemente identificadas, embora por vezes sem definição do agente etiológico. Tais agentes, potencialmente zoonóticos, podem constituir um problema de saúde pública, suscitando assim a necessidade de uma vigilância efetiva.

Neuropathological lesions observed in wild animals

Leonor Orge, Paulo M. Carvalho, Paula Mendonça, Madalena Monteiro

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal, Laboratório de Patologia, Oeiras, Portugal.

The development of neurosciences and the emergence of transmissible spongiform encephalopathies have contributed to a greater interest in neurological diseases, leading to an increase in the study of veterinary neuropathology especially in domestic animal species. Wild species may also be affected by several neurological diseases, some with a public health impact such as rabies, West-Nile fever, avian influenza, toxoplasmosis. However, the knowledge and distribution of neurological affections in this population, often considered a reservoir of zoonotic agents, are still incipient. This work aims to describe and systematize the neuropathological changes observed in 46 wild animals, between 1992 and 2018, in the Laboratory of Pathology of INIAV. The neuropathological examination included the anatomohistopathological analysis and the detection by immunohistochemistry of specific cellular markers. The diseases were categorized into the following nosological entities: vascular, inflammatory, traumatic, anomalous/malformations, metabolic-toxic, neoplastic and degenerative diseases. Inflammatory lesions were the most frequently identified, although sometimes without definition of the etiologic agent. Such potentially zoonotic agents may constitute a public health problem, thus raising the need for effective surveillance.

Problema na deteção de *Huffmanella* sp. (Nematoda: Trichosomoididae) em azevias (*Microchirus azevia*) em Inspeção Sanitária

Alexandra Esteves¹, Ana Carvalho¹, Nuno Nazário², Paula Ramos³, Fernanda Seixas¹

¹CECAV-UTAD, Vila Real, Portugal. ²DGAV, Lisboa, Portugal. ³IPMA, Lisboa, Portugal.

A azevia, *Microchirus azevia*, é uma espécie abundante na costa atlântica. Exemplares de azevia evidenciando coloração anómala da massa muscular têm sido observados na lota. Estes peixes, quando detectados, são rejeitados pelo seu aspecto repugnante.

Este trabalho visa verificar se existe correlação entre a intensidade de descoloração muscular e a ocorrência de infestação parasitária à observação microscópica.

Foram analisadas 44 amostras de *Microchirus azevia*, das quais 75% apresentavam coloração negra anormal na musculatura das zonas dorsal e ventral e 25% não apresentavam qualquer tipo de alteração de cor. As amostras foram classificadas numa escala de zero a dois, baseada no grau de alteração de cor observada, quer antes quer depois da remoção da pele da face ventral. As amostras foram então submetidas a exame histológico. A reclassificação após remoção da pele da face ventral deu origem a algumas modificações na classificação original. 45% das amostras classificadas como não apresentando alterações de cor, antes da remoção da pele, foram reclassificadas como apresentando alteração de cor após a sua remoção.

O exame histológico mostrou que havia uma correlação entre a intensidade de descoloração macroscópica e as alterações musculares associados à presença dos ovos de *Huffmanella*; demonstrou ainda que amostras macroscopicamente sem alteração de cor, apresentavam ovos de *Huffmanella* entre as fibras musculares mesmo que em quantidades reduzidas.

Estes resultados sugerem o consumo de azevias parasitadas por *Huffmanella*, aprovadas durante a inspeção, uma vez que não apresentam alterações macroscopicamente visíveis.

Problem in detecting *Huffmanella* sp. (Nematoda: Trichosomoididae) in azevias (*Microchirus azevia*) in Sanitary Inspection

Alexandra Esteves¹, Ana Carvalho¹, Nuno Nazário², Paula Ramos³, Fernanda Seixas¹

¹CECAV-UTAD, Vila Real, Portugal. ²DGAV, Lisboa, Portugal. ³IPMA, Lisboa, Portugal.

Azevia, *Microchirus azevia*, is an abundant species along the Atlantic shores. Samples of azevia showing discoloration of the muscle tissue have been observed at the fish auction. These fish, when detected, are rejected based on their repugnant appearance. This work aims to verify whether there is any correlation between the muscle discoloration intensity and the occurrence of parasite infestation at microscopic exam. The analysed samples were 44 *Microchirus azevia*, from which 75% exhibited unusual discoloration on the dorsal and ventral musculature, and 25% didn't exhibit any discoloration change. All specimens were classified in a three degree scale system, based on the observed discoloration, before and after the removal of ventral skin. The samples were then subjected to histological examination. The reclassification after the removal of the fish's ventral skin resulted in some changes on the previous classification. 45% of fish specimens classified as no skin colour change, before skin removal, were reclassified as presenting colour change after skin removal.

The microscopic exam showed an association between the macroscopic degree of muscle discoloration and the muscular alterations due to *Huffmanella* infection; it also showed that samples macroscopically with no colour change presented *Huffmanella* eggs between muscle fibres, even if in small numbers.

These results suggest that azevia with *Huffmanella* eggs, approved during inspection, may be consumed, as they show no visible macroscopically changes.

Litíase ureteral em porquinho-da-Índia (*Cavia porcellus*)

Camila Cardoso, Luis Sousa, João Machado, Isabel Pires, João Requicha, Carlos Viegas, Isabel Dias, Filipe Silva*

Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

*fsilva@utad.pt, +351 25935064

A formação de cálculos urinários é comum em porquinhos-da-Índia (*Cavia porcellus*), afetando animais adultos a idosos, a partir de dois anos e meio de idade. A sua etiologia não está ainda totalmente esclarecida. Um porquinho-da-Índia (*Cavia porcellus*) macho, inteiro, com 2 anos de idade foi atendido no Hospital Veterinário da UTAD. Este pesava 455 g e apresentava letargia, caquexia, anorexia, hipotermia, desidratação, distensão abdominal e hematuria.

O exame estomatológico-dentário permitiu identificar a presença de todas as peças dentárias e sobrecrescimento dentário com presença de espículas de esmalte, em particular, nos dentes pré-molares e primeiros molares mandibulares.

No exame radiográfico, destacou-se a presença de grande quantidade de gás dentro do estômago compatível com quadro de cólica e uma estrutura radiopaca compatível com cálculo ureteral. O exame ecográfico confirmou a presença de um cálculo no ureter direito a 4 mm da sua inserção vesical associado a hidroureter e ligeira pielectasia ipsilateral.

Na impossibilidade de efetuar o tratamento recomendado, por cistotomia, a detentora optou pela eutanásia. No exame post mortem, confirmou-se a presença de hidroureter e dilatação pélvica do rim direito. O cálculo ureteral observado próximo ao triângulo vesical era de consistência firme, amarelo, irregular, com cerca de 4 mm. Apesar de não ter sido possível realizar análise qualitativa do cálculo, esta teria sido importante para compreender a etiologia desta doença e, assim, poderem explorar-se futuras opções terapêuticas.

Ureterolithiasis in a guinea pig (*Cavia porcellus*)

Camila Cardoso, Luis Sousa, João Machado, Isabel Pires, João Requicha, Carlos Viegas, Isabel Dias, Filipe Silva¹

Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

¹fsilva@utad.pt, +351 25935064

Ureterolithiasis is common in guinea pigs (*Cavia porcellus*), affecting adult to old animals, older than 2,5 years old. Its aetiology has not yet been fully understood. A 2-years-old male (*Cavia porcellus*) was attended at the UTAD Veterinary Hospital: The animal weighed 455 g and presented lethargy, cachexia, anorexia, dehydration, hypothermia, abdominal distension and haematuria. Dental examination allowed the identification of all teeth and the presence of tooth overgrowth associated with enamel spikes, particularly, on the premolar teeth and first mandibular molars. Radiographic examination revealed the presence of a large amount of gas within the stomach compatible with colic and a radiopaque structure in the caudal abdominal region, compatible with ureteral calculus, was detected. Ultrasound examination confirmed the presence of a right ureter calcification at 4 mm of its bladder insertion with hydroureter and slight ipsilateral renal pyelectasis. Failure to perform the recommended treatment, surgical removal, the owner decided for euthanasia.

In the post mortem examination, the presence of hydroureter and pelvic dilation of the right kidney was confirmed. The urethral calculus observed near the bladder trigone was of firm, yellow, irregular, with 4 mm. Although calculus analysis was not possible, it would have been important to understand the aetiology of this disease paving the way to explore future therapeutic options.

Análise histológica de um modelo animal para o estudo de cancro de pênis

Medeiros-Fonseca, B.¹, Mestre, V.¹, Colaço, B.¹, Pires, M.J.¹, Brito, H.O.⁴, Brito, L.M.O.⁵, Medeiros, R.², Bastos, M.M.S.M.³, Oliveira, P.A.^{1*}, Gil da Costa, R.^{1,2,3}

¹CITAB, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal. ²Grupo de Oncologia Molecular e Patologia Viral, CI-IPOP, Instituto Português de Oncologia do Porto, Porto, Portugal. ³Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia (LEPABE) Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto (FEUP), Porto, Portugal. ⁴Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil. ⁵Departamento de Medicina III, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil

^{*}pamo@utad.pt, phone +351 259350000, fax: +351 259325058

O cancro do pênis é uma doença rara na América do Norte e na Europa, sendo mais comum em países da Ásia, África e América do Sul. Existem vários fatores de risco associados ao seu desenvolvimento, tal como o tabagismo, condições inflamatórias e a infeção pelo vírus do papiloma humano (HPV). Foi objetivo deste trabalho proceder a uma análise histológica de amostras penianas, num modelo animal transgénico para o HPV16 e exposto ao agente cancerígeno dimetilbenzenoantraceno (DMBA), com conhecida atividade promotora. Foram utilizados quatro grupos experimentais de murganhos macho FVB/n com 9 a 11 semanas de idade: Grupo 1 (n=15) - controlo wild type; Grupo 2 (n=30) - wild type com aplicação de DMBA; Grupo 3 (n=31) - transgénico controlo e Grupo 4 (n=27) -transgénico com aplicação de DMBA. As aplicações de DMBA foram realizadas topicamente uma vez por semana durante 17 semanas, seguidas de seis semanas sem tratamento. Histologicamente, os grupos

1 e 2 não apresentaram lesões. No grupo 3, 9,7% dos animais não apresentaram lesões, 77,4% apresentaram lesões hiperplásicas e 12,9% apresentaram lesões displásicas. Já no grupo 4, 33,3% apresentaram lesões hiperplásicas e 66,7% apresentaram lesões displásicas. Cerca de 7,4% dos animais desenvolveram focos de SCC (carcinoma de células escamosas) num contexto de displasia. Estes resultados permitem confirmar que o HPV16 e agentes carcinogénicos químicos podem cooperar na génese do carcinoma do pênis. O presente modelo deverá ser uma ferramenta útil para estudar este tipo de lesões.

Histological analysis of an animal model for the study of penile cancer

Medeiros-Fonseca, B.¹, Mestre, V.¹, Colaço, B.¹, Pires, M.J.¹, Brito, H.O.⁴, Brito, L.M.O.⁵, Medeiros, R.², Bastos, M.M.S.M.³, Oliveira, P.A.^{1*}, Gil da Costa, R.^{1,2,3}

¹CITAB, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal. ²Grupo de Oncologia Molecular e Patologia Viral, CI-IPOP, Instituto Português de Oncologia do Porto, Porto, Portugal. ³Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia (LEPABE) Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto (FEUP), Porto, Portugal. ⁴Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil. ⁵Departamento de Medicina III, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil

^{*}pamo@utad.pt, phone: +351 259350000, fax: +351 259325058

Penile cancer is a rare disease in North America and Europe, being more common in countries of Asia, Africa and South America. There are several risk factors associated with its development, such as smoking, inflammatory conditions and infection by the human papilloma virus (HPV). The objective of this work was to carry out a histological analysis of penile samples, in an animal model transgenic for HPV16 and exposed to the carcinogen dimethylbenzenoanthracene (DMBA), with known promoter activity. Four experimental groups of 9 to 11-week-old FVB / n male mice were used: Group 1 (n = 15) - wild type control; Group 2 (n = 30) - wild type with DMBA application; Group 3 (n = 31) - transgenic control and Group 4 (n = 27) -transgenic with application of DMBA. DMBA applications were topically performed once a week for 17 weeks, followed by six weeks without treatment. Histologically, groups 1 and 2 showed no lesions. In group 3, 9.7% of the animals had no lesions, 77.4% had hyperplastic lesions and 12.9% had dysplastic lesions. In group 4, 33.3% had hyperplastic lesions and 66.7% had dysplastic lesions. About 7.4% of the animals developed foci of SCC (squamous cell carcinoma) in a context of dysplasia. These results enable us to confirm that HPV16 and chemical carcinogens may cooperate in the genesis of penile carcinoma. The present model should be a useful tool to study this type of lesions.

Murganhos transgénicos para HPV16 desenvolvem cancro na base da língua: uma análise histológica

Mestre, V.F.^{1*}, Medeiros-Fonseca, B.¹, Gil da Costa, R.M.^{1,3,4}, Oliveira, P.A.^{1,2*}

^{*}Os autores contribuíram de igual forma para a realização deste trabalho

¹Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. ²CITAB- Centro de Investigação e Tecnologias de Agro-Ambientais e Biológicas, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. ³LEPABE- Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia, Universidade do Porto ⁴ Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD), Universidade Federal do Maranhão, Brasil

^{*}pamo@utad.pt, phone: +351 259350000, fax: +351 259325058

Globalmente, o cancro da orofaringe afeta aproximadamente 92.000 pessoas por ano. Para além do consumo de álcool e tabaco, a infeção pelo vírus do papiloma humano (HPV) é reconhecida como um

agente causador de um subgrupo de carcinoma das células escamosas da orofaringe (OPSCC). Os OPSCCs são classificados como HPV-negativos ou HPV-positivos, pois esses grupos apresentam características clinicopatológicas distintas. Geralmente, o OPSCC HPV-positivo afeta a base da língua e as amígdalas. Com o objetivo de criar um modelo animal capaz de reproduzir as lesões observadas em pacientes com OPSCC HPV-positivos, foram utilizados murganhos transgênicos para HPV16 (K14HPV16). Os murganhos fêmea foram divididos em dois grupos: Grupo 1 (G1): Wild type (n = 10) e Grupo 2 (G2): K14HPV16 (n = 90). Os animais foram mantidos em condições adequadas até completarem 30 semanas de idade. Nesta altura, os murganhos foram sacrificados humanamente através do uso de xilazina e ketamina. A língua foi recolhida e as lesões foram avaliadas através da coloração com hematoxilina e eosina. Como esperado, todos os animais do grupo wild type tinham uma língua normal. No grupo transgênico houve uma incidência de lesões intraepiteliais de baixo grau na base da língua de 44,4%, 19,8% de lesões intraepiteliais de alto grau, 12,3% de papilomas e 23,5% de carcinomas das células escamosas. Para concluir, os murganhos K14HPV16 poderão potencialmente ser utilizados como modelo animal para o estudo de OPSCC HPV-positivo, uma vez que estes desenvolveram lesões espontâneas similares às observadas em pacientes com cancro da orofaringe.

HPV16-transgenic mice develop tongue base cancer: a histological analysis

Mestre, V.F.^{1*}, Medeiros-Fonseca, B.^{1*}, Gil da Costa, R.M.^{1,3,4}, Oliveira, P.A.^{1,2*}

*Os autores contribuíram de igual forma para a realização deste trabalho

¹Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. ²CITAB- Centro de Investigação e Tecnologias de Agro-Ambientais e Biológicas, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. ³LEPABE- Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia, Universidade do Porto 4 Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD), Universidade Federal do Maranhão, Brasil
pamo@utad.pt, phone: +351 259350000, fax: +351 259325058

Oropharyngeal cancer affects approximately 92.000 persons globally every year. Besides alcohol and tobacco consumption, human papilloma virus (HPV) infection is recognized as a causal agent of a subgroup of oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC). OPSCCs are classified into HPV-negative and HPV-positive as these groups present different clinicopathologic characteristics. Generally, HPV-positive OPSCC affects the base of the tongue and the tonsils. HPV16 transgenic (K14HPV16) mice were used in order to create an animal model capable of reproducing the lesions observed in patients with HPV-positive OPSCC. Female mice were divided into two groups: Group 1 (G1): wild type (n=10) and Group 2 (G2): K14HPV16 (n=90). The animals were maintained in appropriated conditions until the age of 30 weeks. At this point, the mice were humanly sacrificed using xylazine and ketamine. The tongue was collected, and the lesions were assessed using a hematoxylin and eosin staining. As expected, all animals from the wild type group had a normal tongue. In the transgenic group there was a 44,4% incidence of tongue base low grade intraepithelial lesions, 19,8% of high grade intraepithelial lesions, 12,3% of papillomas and 23,5% of squamous cell carcinomas. To conclude, K14HPV16 mice can be a potential animal model to study HPV-positive OPSCC since these mice developed spontaneously lesions resembling those observed in cancer patients.

Reação inflamatória ao implante PLLA-super-hidrofóbico em rato (*Rattus norvegicus*): estudo preliminar

Samuel S. Garcia¹, Nicole L. L. Amaral¹, Maria I. R. Dias^{1,2}, Maria A. Pires^{1,3*}

¹Veterinary Sciences Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²3B's Research Group – Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, Department of Polymer Engineering, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark – Parque da Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal. ³Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal
apires@utad.pt

Os implantes de PLLA são largamente usados para tratar lesões osteocondrais pelas suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade. Neste trabalho procurámos avaliar a resposta inflamatória ao PLLA-Super-hidrofóbico por imunohistoquímica para identificar os linfócitos T (anti-CD3), macrófagos totais (anti-CD68) e macrófagos M2 (anti-CD163). Foi implantado PLLA-Standard/hidrofóbico em 6 ratos (*Rattus norvegicus*) em 3 localizações do lado direito e PLLA-Superhidrofóbico no lado esquerdo do mesmo animal, totalizando assim seis locais diferentes em cada um. Os animais foram eutanasiados ao fim de uma semana (7 dias), três com PLLA-Standard/hidrofóbico e três com PLLA-Superhidrofóbico. As amostras de pele e músculo foram fixadas em formol tamponado e processadas por rotina para parafina. Cada uma das amostras foi sujeita a imunohistoquímica indireta para avaliar a resposta inflamatória ao implante com os anticorpos referidos. Foram feitas 5 fotografias de campos distintos por implante e usado o software ImajeJ® para contagem de células positivas, na área de cada lesão e expresso em média de células por caso. Verificámos que a reação inflamatória nos implantes musculares entre PLLA-Standard/hidrofóbico e PLLA-Superhidrofóbico apresentam grande diferença para os 3 tipos celulares, sendo que o segundo apresenta menor reação. Os implantes subcutâneos não apresentam grande diferença, verificando-se ligeiramente um maior número de macrófagos (quer CD68 quer CD163) no PLLA-Superhidrofóbico que de linfócitos T (CD3). Este é um estudo preliminar em que observámos, ao fim de uma semana, uma menor reação inflamatória no músculo quando em presença de PLLA-Superhidrofóbico. A presença de ambos os implantes na zona subcutânea manifesta reação inflamatória idêntica.

Inflammatory reaction in rat (*Rattus norvegicus*) to PLLA-super-hydrophobic implant: a preliminary study

Samuel S. Garcia¹, Nicole L. L. Amaral¹, Maria I. R. Dias^{1,2}, Maria A. Pires^{1,3*}

¹Veterinary Sciences Department, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal. ²3B's Research Group – Biomaterials, Biodegradables and Biomimetics, Department of Polymer Engineering, University of Minho, Headquarters of the European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, AvePark – Parque da Ciência e Tecnologia, Zona Industrial da Gandra, 4805-017 Barco, Guimarães, Portugal. ³Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal
apires@utad.pt

PLLA implants are widely used to treat osteochondral lesions due to their biocompatibility and biodegradability characteristics. In this work, we sought evaluate the inflammatory response to PLLA-super-hydrophobic by immunohistochemistry identifying T lymphocytes (anti-

CD3), total macrophages (anti-CD68) and M2 (anti-CD163) macrophages. PLLA-Standard/hydrophobic was implanted in 6 animals in 3 locations on the right side and PLLA-Superhydrophobic on the left side of the same animal, totalizing six different sites in each. The rat (*Rattus norvegicus*) were euthanized after one week, three with PLLA-Standard / hydrophobic and three with PLLA-Superhydrophobic implants. The skin and muscle samples were fixed in buffered formalin and routinely processed into paraffin. Samples were subjected to indirect immunohistochemistry to evaluate the inflammatory response to the implant with the referred antibodies. Images of five different fields per implant were analyzed in ImageJ® software for counting positive cells in the area of each lesion and expressed in mean cells per case. We found that great difference in the inflammatory cells analyzed in the muscular implants between PLLA-Standard/hydrophobic and PLLA-Superhydrophobic having the second one a smaller reaction. Subcutaneous implants do not show differences, with a superior counting for macrophages (either CD68 or CD163), than in T-lymphocytes (CD3) for PLLA-Superhydrophobic implant. We present a preliminary study of a one-week inflammatory response to PLLA-Superhydrophobic. The inflammation for PLLA-Superhydrophobic in the muscle is less intense than the control and in the subcutaneous localization shows an identical inflammatory reaction.

Avaliação de um novo modelo de murgancho de tumores pancreáticos neuroendócrinos

Gaspar, T.B.^{1,2,3,4*}, Macedo, S.^{1,2,3,4}, Mendes, N.^{1,2}, Gärtner, F.^{1,3}, Canberk, S.^{1,2,3,4}, Lopes, J.M.^{1,2,4,5}, Vinagre J.^{1,2,4}, Soares, P.^{1,2,4}

¹IS – Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto. ²IPATIMUP – Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto. ³ICBAS – Instituto de Ciências Abel Salazar, Universidade do Porto. ⁴FMUP – Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. ⁵Departamento de Patologia e Oncologia, CHUSJ – Centro Hospitalar Universitário de São João, Portugal tgaspar91@ipatimup.pt

Os tumores pancreáticos neuroendócrinos (PNETs) constituem um subgrupo de neoplasias raro e heterogêneo associado a uma taxa de sobrevida aos 10 anos inferior a 30% dos pacientes humanos. O seu respetivo perfil genético tem sido explorado de forma crescente na última década. Sensivelmente 90% dos PNETs surgem espontaneamente na população, sendo que até 43% podem ser desencadeados por mutações inativas nos genes supressores tumorais ATRX e DAXX. Desenvolvemos um novo modelo condicional de knockout de murgancho, com recurso ao sistema Cre-loxP, com o objetivo de gerar indivíduos com disrupção do ATRX nas células β pancreáticas.

Mais de 300 murganchos foram eutanasiados ao longo dos últimos 4 anos, e parte deles sujeitos retrospectivamente a uma avaliação histopatológica detalhada. Apenas uma pequena fração dos animais desenvolveu neoplasia no pâncreas, enquanto a maioria apresentou diferentes graus de inflamação crónica. De modo a caracterizar corretamente e estratificar as alterações no tecido pancreático, um score de avaliação foi criado, considerando os seguintes parâmetros: fibrose, edema, perda do padrão lobular, atrofia acinar, dilatação ductal/vascular, necrose, e também o tipo de infiltrado inflamatório encontrado por localização no pâncreas (ácinos, ilhotas, periductal/perivasculares e tecido peripancreático). A hiperplasia das ilhotas pancreáticas foi também observada com frequência na população de estudo e avaliada. Durante o último ano colocámos em prática um estudo longitudinal prospetivo em cerca de 50 murganchos, que compreende avaliação de hemograma e glicemia numa base mensal para cada animal, e ecografia abdominal periódica.

O valor do score da inflamação crónica e da hiperplasia das ilhotas pancreáticas aumentou com o envelhecimento dos animais, mas não mostrou associação com o seu genótipo. O perfil tumoral do modelo animal precisa ainda de ser determinado, tanto no pâncreas como noutros órgãos metastizados. O estudo longitudinal foi desenvolvido para melhor caracterizar e clarificar o papel preponderante da inflamação com avaliações programadas no tempo, sendo que os primeiros resultados preliminares revelaram um aumento significativo do número e percentagem de linfócitos nos indivíduos floxed comparativamente aos controlos, com idade inferior a 4 meses. Futuramente, com o presente estudo pretende-se validar o nosso modelo animal como um modelo tumoral, através da realização do estudo prospetivo durante 24 meses para todos os animais, de modo a esclarecer o efeito quer da deleção do gene ATRX quer do próprio sistema RIPCre.

Agradecimentos: Este trabalho é financiado pela bolsa de doutoramento da FCT ao TBG, com referência SFRH/BD/129431/2017.

Evaluation of a novel mouse model of pancreatic neuroendocrine tumors

Gaspar, T.B.^{1,2,3,4*}, Macedo, S.^{1,2,3,4}, Mendes, N.^{1,2}, Gärtner, F.^{1,3}, Canberk, S.^{1,2,3,4}, Lopes, J.M.^{1,2,4,5}, Vinagre J.^{1,2,4}, Soares, P.^{1,2,4}

¹IS – Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto. ²IPATIMUP – Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto. ³ICBAS – Instituto de Ciências Abel Salazar, Universidade do Porto. ⁴FMUP – Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. ⁵Departamento de Patologia e Oncologia, CHUSJ – Centro Hospitalar Universitário de São João, Portugal tgaspar91@ipatimup.pt

Pancreatic neuroendocrine tumors (PNETs) consist of a rare and heterogeneous sub-group of neoplasms linked to a 10-year survival rate of less than 30%. Its genetic profile has been increasingly explored in the past decade. Roughly 90% of PNETs spontaneously occur in population, while up to 43% of them are driven by inactivating mutations ATRX or DAXX tumor suppressor genes. We developed a novel conditional knockout mouse model of PNETs using the Cre-loxP system aiming at generating individuals with disrupted ATRX in pancreatic β-cells.

Over 300 mice were euthanized over the last four years and part of them were retrospectively subjected to a detailed histopathological evaluation. Only a small subset developed pancreatic neoplasia, while the majority presented different grades of chronic inflammation. In order to correctly characterize and stratify the alterations in the pancreatic tissue, a grading score was recently updated to concern the following parameters: fibrosis, edema, loss of lobular pattern, acinar atrophy, ductal/vessel dilation, necrosis, and also the type of inflammatory infiltrate by location in pancreas (acini, islets, periductal/perivasculares and peripancreatic tissue). Pancreatic islet hyperplasia was also commonly seen in the study group and evaluated. Since last year we also enrolled a prospective longitudinal study of about 50 mice, including hemogram and glycemia assessment on a monthly-basis, and periodic abdominal ultrasonography.

Scoring value of chronic inflammation and pancreatic islet hyperplasia increased with animal aging, but not within genotype groups. The tumor profile of the animal model is still to be analyzed both in pancreas and in other organ systems. The longitudinal study was designed to better characterize and clarify the prominent role of inflammation with time-specific evaluations, and these preliminary results unveiled significantly increased lymphocyte number and

percentage in floxed versus control animals up to 4 months of age.

The future purpose of the current study is to validate our mouse model as tumor model, as the prospective work will be carried on during a 24 months' time course for all animals, to clarify the effect of the ATRX deletion and the RIPCre system.

Acknowledgements: The work is funded by a PhD grant from FCT to TBG with the reference SFRH/BD/129431/2017.

Lesões do lobo anterior da próstata do rato num modelo de indução química e hormonal

Elisabete Gonçalves^{1,2*}, Fernanda Seixas^{1,3}, Bruno Colaço^{2,4}, Rita Ferreira⁵, Paula A. Oliveira^{1,2}

¹Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal. ³Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁴Departamento de Zootecnia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro(UTAD), Vila Real, Portugal. ⁵Química Orgânica, Produtos Naturais e Agroalimentares (QOPNA), Aveiro, Portugal.

*elisabete.nascimento.g@gmail.com

O cancro da próstata (CP) é o mais identificado no Homem, atingindo aproximadamente 1,3 milhões de homens no mundo inteiro. Os modelos animais são amplamente usados para estudar a biopatologia do CP contribuindo também para o desenvolvimento de novas terapias. O objetivo deste trabalho é caracterizar as lesões no lobo anterior da próstata num modelo de indução de CP com recurso a agentes químicos em ratos. Vinte e cinco ratos da estirpe Wistar-Unilever com 12 semanas de idade foram aleatoriamente divididos em dois grupos: controlo (n=10) e induzido (n=15) (Autorização da Direção Geral de Alimentação e Veterinária, nº021326). O cancro da próstata foi induzido por administração de N-metil-N-nitrosourea (Sigma; 30 mg/kg) e colocação de implantes de testosterona. Os animais foram sacrificados às 61 semanas de idade. A massa corporal foi registada semanalmente. Durante a necropsia, todos os órgãos foram recolhidos, pesados e processados para análise histológica. Os dados foram analisados usando o SPSS 25. Os animais do grupo induzido mostraram uma média de massa corporal inferior aos animais do grupo controlo (p<0,05) e a média da massa da próstata foi superior no grupo induzido (p<0,05). Os animais do grupo induzido desenvolveram várias lesões no lobo anterior da próstata: hiperplasia atípica (92,9%), carcinoma in situ (PIN) (28,6%) e carcinoma micro-invasor (21,4%). O espectro de lesões identificados nos ratos é similar ao observado na próstata humana. O protocolo de indução CP utilizado promoveu a carcinogénese na próstata anterior e permite aumentar os conhecimentos acerca da tumorigénese deste órgão.

Agradecimentos: Este trabalho foi suportado pelos fundos de Investimento Europeu FEDER/COMPETE/POCI – sob o Projeto POCI-01-0145-FEDER-016728, POCI-01-0145-FEDER006958 e Fundos da Fundação para a Ciência e Tecnologia sob o projecto UID/AGR/04033/2013, PTDC/DES/114122/2009, PTDC/DTP-DES/6077/2014 e a bolsa de doutoramento SFRH/BD/136747/2018.

Rat's anterior lobe prostate lesions identified in a chemical and hormonal induction model

Elisabete Gonçalves^{1,2*}, Fernanda Seixas^{1,3}, Bruno Colaço^{2,4}, Rita Ferreira⁵, Paula A. Oliveira^{1,2}

¹Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal. ³Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁴Departamento de Zootecnia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro(UTAD), Vila Real, Portugal. ⁵Química

Orgânica, Produtos Naturais e Agroalimentares (QOPNA), Aveiro, Portugal

*elisabete.nascimento.g@gmail.com

Prostate cancer is the most frequently tumor in men, affecting approximately 1.3 million men worldwide. Rat models are widely used to study prostate cancer biology and contribute to develop new therapeutic approaches. With this work we intended to characterize anterior prostate lesions chemically induced in a rat model of prostate cancer. Twenty-five male Wistar Unilever rats with twelve weeks of age were randomly divided into two groups: control (n=10) and induced (n=15). The prostate cancer was induced by the administration of N-methyl-N-nitrosourea (Sigma Chemical Co.) (30 mg/kg) and testosterone implants. Animals were sacrificed at 61 weeks of age. Body weight was measured weekly. At necropsy, all organs were collected, weighed and processed for histological analysis. Data were analysed using SPSS 25. The Portuguese Ethics Committee for Animal Experimentation approved all the procedures carried out (Direcção Geral Alimentação e Veterinária, no. 021326). Induced animals showed lower mean body weight compared to control animals (p<0.05) and the prostate average weights were higher in induced group than in control group (p<0.05). Animals from induced group developed lesions on anterior prostate, namely: atypical hyperplasia (92.9%), in situ carcinoma (PIN) (28.6%) and micro-invasive carcinoma (21.4%). The spectrum of prostate lesions identified in rats are similar to those identified in human prostate. The experimental protocol used promoted anterior prostate tumorigenesis and brings new insights on prostate tumorigenesis.

Acknowledgements: This work was supported by European Investment Funds by FEDER/ COMPETE/POCI - Operational Competitiveness and Internationalization Program, under Project POCI-01-0145-FEDER006958 and National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the project UID/AGR/04033/2013, the project PTDC/DES/114122/2009 and the project PTDC/DTP-DES/6077/2014 and post-graduation grant SFRH/BD/136747/2018.

EpCAM: expressão em neoplasias mamárias malignas em cadelas

Aline Alvarenga da Rocha¹, Fátima Gartner^{1,2,3*}

¹Institute of Biomedical Science Abel Salazar, University of Porto, Porto, Portugal; Rua Jorge de Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal. ²IPATIMUP, Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto; Rua Júlio Amaral de Carvalho 45, 4200-135, Porto, Portugal. ³i3S, University of Porto, i3S, Instituto de Investigação e Inovação, Rua Alfredo Allen 208, 4200-135, Porto, Portugal

*fgartner@ipatimup.pt

A molécula de adesão celular epitelial (EpCAM) é uma glicoproteína expressa em células epiteliais. EpCAM é altamente expressa em carcinomas humanos, onde a expressão é membranar e/ou citoplasmática. Existem poucos estudos com foco na expressão de EpCAM em tecidos mamários caninos. O objetivo do presente estudo foi caracterizar a expressão de EpCAM em neoplasias mamárias malignas em cadelas.

MATERIAIS E MÉTODOS: Vinte e cinco neoplasias mamárias malignas em cadelas foram incluídas e analisadas no presente estudo. O anticorpo EpCAM (Abcam/71916) foi avaliado por meio da técnica de imuno-histoquímica.

RESULTADOS: Todos os casos incluídos no presente estudo foram positivos para o anticorpo EpCAM. A expressão foi classificada como membranar nas células epiteliais luminiais em mais de 80% dos casos. Menos de 20% dos casos foram classificados como membranar e citoplasmático.

CONCLUSÕES: EpCAM pode ser uma ferramenta confiável para estudar o mecanismo de adesão celular e a transição mesenquimal epitelial (EMT) em tecidos mamários caninos.

EpCAM expression in female canine mammary malignant tumors

Aline Alvarenga da Rocha¹, Fátima Gartner^{1,2,3*}

¹Institute of Biomedical Science Abel Salazar, University of Porto, Porto, Portugal; Rua Jorge de Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal. ²PATIMUP, Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto; Rua Júlio Amaral de Carvalho 45, 4200-135, Porto, Portugal. ³i3S, University of Porto, i3S, Instituto de Investigação e Inovação, Rua Alfredo Allen 208, 4200-135, Porto, Portugal

*fgartner@ipatimup.pt

Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) is a glycoprotein expressed in epithelial cells. EpCAM is highly expressed in human carcinomas, where the expression is diffusely membranous and/or cytoplasmic. There are few studies focusing on the expression of EpCAM in canine mammary tissues.

OBJECTIVE: The aim of the study was to characterize the expression of EpCAM in malignant mammary tumors in female dogs.

MATERIAL AND METHODS: Twenty-five mammary malignant tumors from female dogs were included and analyzed in this study. The antibody EpCAM (Abcam/71916) was assessed by the immunohistochemistry technique.

Results: All the cases included in this study were positive for EpCAM. Immunoreactivity was classified as membranous in the luminal epithelial cells in more than 80% of the cases. Less than 20% of the cases were classified as membranous and cytoplasmic.

Conclusions: EpCAM could be a reliable antibody to study the cell-adhesion mechanism and the epithelial mesenchymal transition (EMT) in canine mammary tissues.

Empiema torácico secundário a abscesso mandibular em coelho

João Requicha, Luis Sousa, Roberto Sargo, Isabel Pires, Isabel Dias, Carlos Viegas*

Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal.

*cviegas@utad.pt, phone: +351 259350632, fax: +351 259350480

Um coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) macho com 2 anos de idade apresentou-se à consulta, no Serviço de Animais Exóticos e Selvagens do Hospital Veterinários da UTAD, anorético e dispneico e com uma massa na região intermandibular com três dias de evolução. O exame estomatológico-dentário revelou uma tumefação com consistência firme no corpo da mandíbula esquerda e, com recurso a um otoscópio, observou-se a presença espículas de esmalte na face lingual dos dentes mandibulares. O exame radiográfico completo à cabeça permitiu identificar sinais de reabsorção dentária, em particular, dos pré-molares mandibulares associados a deformação óssea mandibular e osteólise da cortical. A lesão era suspeita de abscesso mandibular e, como tal, foi proposta a inspeção cirúrgica da mesma e realização de odontoplastia, após estabilização do animal. Apesar da terapia de suporte, o coelho morreu. No exame post mortem, confirmou-se a presença de uma tumefação localizada no corpo da mandíbula esquerda, com presença de exsudado necrótico-purulento, de coloração castanha, nos tecidos moles envolventes. O exsudado, seguindo um trajeto fistuloso, estendeu-se caudalmente e em profundidade, atingindo a cavidade torácica por contiguidade. Observou-se, assim, um empiema torácico, com cerca de 5 ml, e colapso parcial dos pulmões. Os restantes órgãos apresentavam lesões próprias de septicemia. A patologia estomatológica-dentária em coelhos, pela sua frequência e impacto reconhecido na saúde e no bem-

estar animal, é alvo de crescente interesse na prática clínica. O presente relato permite ilustrar um caso clínico com desfecho fatal, realçando a importância da prevenção e do diagnóstico precoce destas doenças em lagomorfos.

Thoracic empyema secondary to a mandibular abscess in rabbit

João Requicha, Luis Sousa, Roberto Sargo, Isabel Pires, Isabel Dias, Carlos Viegas*

Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

*cviegas@utad.pt, phone: +351 259350632, fax: +351 259350480

A 2-year-old male domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) arrived at the Exotic Animal and Wildlife Service of the UTAD Veterinary Hospital presenting anorexia, dyspnoea and a mass in the intermandibular region with three days of evolution. The physical examination revealed a swelling with firm consistency on the body of the left mandible and, the use of an otoscope allowed the observation of enamel spikes present on the lingual aspect of the mandibular teeth. Complete radiographic examination of the head revealed signs of tooth resorption, particularly on mandibular premolars, associated with mandible body deformation and cortical osteolysis. It was proposed to perform odontoplasty and inspection of the lesion, suspected of mandibular abscess, after stabilization of the animal. Notwithstanding supportive therapy, the rabbit died. The *post mortem* examination confirmed a localized swelling of the left mandible and the presence of necrotic-purulent exudate with a brown color in the surrounding soft tissues. The exudate extended caudally and in depth, following a fistulous path, reaching the thoracic cavity by contiguity. A thoracic empyema of about 5 ml and partial collapse of the lungs was observed. The remaining organs revealed septicemia-like lesions. Dental pathology in rabbits, because of its frequency and the recognized impact on health and animal welfare, is a field of burgeoning interest in clinical practice. The present report allowed to illustrate a clinical case that proved fatal, emphasizing the importance of the prevention and early diagnosis of these conditions in lagomorphs.

Fasciite necrosante num Bútio-vespeiro (*Pernis apivorus*)

Susana Mendes¹, Roberto Sargo¹, Luís Sousa¹, Maria L. Pinto^{2,3,4}, José M. Almeida^{1,2}, Isabel Dias^{1,2}, Patrícia Poeta^{5,6}, Filipe Silva^{1,2}

¹Wildlife Rehabilitation Center, Veterinary Teaching Hospital, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ³Center of Studies of Animal and Veterinary Sciences (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁴Histology and Pathology Laboratory (LHAP), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁵MicroART – Microbiology and Antibiotic Resistance Team, Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁶Associated Laboratory for Green Chemistry (LAQV-REQUIMTE), University NOVA of Lisboa, Lisboa, Caparica, Portugal

A fasciite necrosante é uma doença rara que consiste na infeção bacteriana da fáscia com necrose secundária do tecido subcutâneo, não se encontrando descrita em espécies de ave. Este caso refere-se a um Bútio-vespeiro (*Pernis apivorus*) ingressado no Centro de Recuperação de Animais Selvagens do HV-UTAD. Na admissão, apresentava uma fratura da diáfise do fémur esquerdo exposta medialmente a nível inguinal, e foi instaurada terapêutica com enrofloxacin, clindamicina, tramadol e carprofeno. O animal foi submetido a cirurgia ortopédica para estabilização da fratura. No período pós-cirúrgico ocorreu deiscência

repetida da sutura, marcada pela produção de exsudado sero-purulento em quantidade incremental ao longo do tempo. Acrescentou-se ao plano terapêutico amoxicilina e gentamicina, além de lavagem com solução iodada, sob pressão. Apesar da alteração na antibioterapia, verificou-se a necrose isquêmica da pele e fásia muscular em torno das suturas com ulceração profunda dos tecidos e exposição do periosteio. Face a isto, o animal foi submetido a limpeza cirúrgica profunda da lesão, colhendo-se amostras para cultura microbiológica. Esta revelou o crescimento de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente. Iniciou-se crioterapia, meropenem e cimetidina, conduzindo ao cessar da exsudação e à formação de tecido de granulação saudável. Apesar da reepitelização ser completa, uma anquilose da articulação coxofemoral, com dor crônica, tornou o animal inapto para regressar à Natureza. Por razões humanitárias, a ave foi eutanasiada. Durante a necropsia, o exame macroscópico revelou um espessamento do tecido subcutâneo, degenerescência articular e atrofia muscular. No local da fratura, ocorreu formação de calo ósseo exuberante com um sequestro ósseo.

Necrotizing fasciitis in a Honey-buzzard (*Pernis apivorus*)

Susana Mendes¹, Roberto Sargo¹, Luís Sousa¹, Maria L. Pinto^{2,3,4}, José M. Almeida^{1,2}, Isabel Dias^{1,2}, Patrícia Poeta^{5,6}, Filipe Silva^{1,2}

¹Wildlife Rehabilitation Center, Veterinary Teaching Hospital, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ³Center of Studies of Animal and Veterinary Sciences (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁴Histology and Pathology Laboratory (LHAP), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁵MicroART – Microbiology and Antibiotic Resistance Team, Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ⁶Associated Laboratory for Green Chemistry (LAQV-REQUIMTE), University NOVA of Lisboa, Lisboa, Caparica, Portugal

Necrotizing fasciitis is a rare disease consisting of bacterial infection of the fascia with secondary necrosis of subcutaneous tissue, not having been described in avian species. This case report concerns a Honey Buzzard (*Pernis apivorus*) admitted to UTAD Veterinary Teaching Hospital's Wildlife Rehabilitation Center. Upon admission, the animal presented a left femoral diaphysis fracture, exposed medially at an inguinal level, and therapeutic treatment with enrofloxacin, clindamycin, tramadol and carprofen was established. The animal underwent orthopedic surgery to stabilize the fracture. In the post-surgical period, repeated suture dehiscence, marked by the production of a seropurulent exudate in incremental amount over time. Amoxicillin and gentamycin, as well as pressured cleaning using an iodine solution, were added to the therapeutic plan. Despite the changes in antibiotherapy, the skin and muscular fascia around the sutures suffered ischemic necrosis, with profound ulceration of the tissues and periosteum exposure. As such, a deep surgical cleansing of the wound was performed, and samples were collected for microbiological culture. This revealed growth of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Cryotherapy, meropenem and cimetidine were introduced, causing cease of exudation and formation of healthy granulation tissue. Despite the complete reepithelization, coxofemoral articulation ankylosis with chronic pain, made this animal inept for reintroduction in nature. For humanitarian reasons, the bird was euthanized. During the necropsy, macroscopic examination revealed subcutaneous tissue thickening, articular degenerescence and muscular atrophy. On the fracture site, an exuberant bone callus was formed, with a sequestrum.

Identificação de *Spirocerca vulpis* em raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*) no Norte de Portugal

Adelina Gama^{1,2*}, Alicia Rojas³, Isabel Pires^{1,2}, Teresa Coutinho¹, Fernanda Seixas^{1,2}, Filipe Silva^{1,2}, Ana Patrícia Lopes^{1,2}, Luís Cardoso^{1,2}, Gad Baneth³

¹Departamento de Ciências Veterinárias, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. ³Koret School of Veterinary Medicine, Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel
agama@utad.pt

Spirocerca lupi é um nematode parasita do cão (*Canis lupus familiaris*), cuja presença tem sido associada com a formação de nódulos esofágicos que podem progredir para sarcoma em situações crônicas. Esta espécie também foi descrita em nódulos gástricos de raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*); no entanto, estudos morfológicos e filogenéticos recentes identificaram um novo parasita: *Spirocerca vulpis*. Neste estudo, descrevemos as alterações post mortem observadas em sete casos de espirocercose diagnosticados em raposa-vermelha no norte de Portugal, entre 2010 e 2017, assim como a análise morfológica e molecular dos parasitas recolhidos. Todos os animais apresentaram lesões nodulares únicas ou múltiplas na parede gástrica, associadas à presença de vermes. A análise histopatológica destes nódulos revelou a presença de lesões inflamatórias granulomatosas, centradas por nematodes. A análise morfológica revelou a presença de seis estruturas bocais triangulares, semelhantes a dentes, que estão ausentes em *S. lupi*. A identificação molecular, baseada na sequência parcial (551 bp) de COI ("cytochrome oxidase subunit 1"), revelou sequências 99% idênticas a *S. vulpis* de raposas-vermelhas de Espanha e da Bósnia e Herzegovina (85% "coverage"), e da Dinamarca (99% "coverage"). De acordo com a bibliografia consultada, esta é a primeira descrição de *S. vulpis* em raposa-vermelha em Portugal.

Identification of *Spirocerca vulpis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from northern Portugal

Adelina Gama^{1,2*}, Alicia Rojas³, Isabel Pires^{1,2}, Teresa Coutinho¹, Fernanda Seixas^{1,2}, Filipe Silva^{1,2}, Ana Patrícia Lopes^{1,2}, Luís Cardoso^{1,2}, Gad Baneth³

¹Departamento de Ciências Veterinárias, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ²Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal. ³Koret School of Veterinary Medicine, Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel
agama@utad.pt

Spirocerca lupi is a parasitic nematode of domestic dogs (*Canis lupus familiaris*), associated with the formation of oesophageal nodules that may progress to sarcoma. This nematode species has also been reported in gastric nodules of red foxes (*Vulpes vulpes*), but recent morphometric and phylogenetic studies have revealed a new separate species, named *Spirocerca vulpis*. In the present study, we describe the necropsy and histopathological findings of seven cases of spirocercosis found in red foxes of northern Portugal, between 2010 and 2017, as well as the morphological and molecular analysis of the collected worms. All animals presented single or multiple nodular lesions at the gastric wall, associated with the presence of red worms. Histopathological analysis of the gastric nodules of four red foxes revealed the presence of granulomatous inflammatory lesions, centered by worms. Morphological assessment of the nematodes revealed the presence of six triangular teeth-like buccal capsule structures, which are absent in *S. lupi*. The

molecular identification, based on the mitochondrial COI (cytochrome c oxidase subunit 1) partial sequence (551 bp), revealed sequences 99% identical to *S. vulpis* of red foxes from Spain and Bosnia and Herzegovina (85% coverage), and from Denmark (99% coverage). To the best of our knowledge, this is the first report of *S. vulpis* in red foxes in Portugal.

Vigilância serológica de vírus West Nile e diagnóstico molecular de vírus West Nile, vírus Usutu, gripe aviária e vírus da doença de Newcastle em aves selvagens de Portugal

Catarina Costa¹, Teresa Fagulha², Susana Mendes³, Maria Casero⁴, Inês Caetano⁵, Filipe Silva³, Luís Tavares¹, Sílvia Barros², Ana Duarte¹

¹CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, ULisboa, Avenida da Universidade Técnica 1300-477, Lisboa, Portugal. ²National Institute for Agrarian and Veterinary Research, Virology Laboratory, Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal. ³Wildlife Rehabilitation Centre, Veterinary Teaching Hospital, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ⁴Wildlife Rehabilitation and Investigation Center (RIAS) – Ria Formosa Natural Park, Rua do Parque Natural da Ria Formosa, 8700-194 Olhão, Portugal. ⁵Wildlife Rehabilitation Centre of Lisbon (LxCRAS), Parque Florestal de Monsanto, Estrada do Barçal, 1500 Lisboa, Portugal

Este trabalho focou-se na vigilância de quatro agentes zoonóticos - vírus West Nile (WNV), vírus Usutu (USUV), vírus influenza A e avulavirus aviário tipo-1 (AAv-1) em aves selvagens de Portugal. Foram colhidas amostras de sangue e de tecidos de 177 animais (64 vivos e 113 mortos) em três centros de recuperação de Portugal: Centro de Recuperação e Investigação de Animais selvagens da Ria Formosa (15 de Agosto de 2018 a 23 de Fevereiro de 2019), Centro de Recuperação de Animais Silvestres de Lisboa (11 de Junho de 2018 a 18 de Maio de 2019) e Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (18 de Dezembro de 2018 a 16 de Maio de 2019). As amostras de tecidos foram testadas para WNV (n=167) e USUV (n=168) por RT-PCR em tempo real e RT-PCR, para vírus influenza A (n=148) por RT-PCR tempo real e para AAv-1 (n=168) por RT-PCR em tempo real e RT-PCR. Duas rolas-turcas (*Streptopelia turtur*) (1.13%) e uma gaivota-d'asa-escura (*Larus fuscus*) (0.56%) testaram positivo para AAv-1. As rolas-turcas foram capturadas no Algarve e a gaivota-d'asa-escura no Seixal. O AAv-1 presente numa das rolas-turcas tinha uma sequência RRQKR*F no sítio de clivagem da proteína de fusão, sendo potencialmente altamente patogénico para galinhas (*Gallus gallus domesticus*). As amostras de tecidos foram todas negativas para WNV, USUV e vírus influenza A. Amostras de plasma foram testadas para presença de anticorpos WNV por teste de seroneutralização. Onze (18.33%) das 60 amostras foram positivas.

Serological surveillance of West Nile virus and molecular diagnostic of West Nile virus, Usutu virus, avian influenza and Newcastle disease virus in wild birds of Portugal

Catarina Costa¹, Teresa Fagulha², Susana Mendes³, Maria Casero⁴, Inês Caetano⁵, Filipe Silva³, Luís Tavares¹, Sílvia Barros², Ana Duarte¹

¹CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, ULisboa, Avenida da Universidade Técnica 1300-477, Lisboa, Portugal. ²National Institute for Agrarian and Veterinary Research, Virology Laboratory, Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal. ³Wildlife Rehabilitation Centre, Veterinary Teaching Hospital, University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ⁴Wildlife Rehabilitation and Investigation Center (RIAS) – Ria Formosa Natural Park, Rua do Parque Natural da Ria Formosa, 8700-194 Olhão, Portugal. ⁵Wildlife Rehabilitation Centre of Lisbon (LxCRAS), Parque Florestal de Monsanto, Estrada do Barçal, 1500 Lisboa, Portugal

This work focuses on surveillance of four zoonotic pathogens - West Nile virus (WNV), Usutu virus (USUV), avian Influenza virus and avian avulavirus 1 (AAv-1), in wild birds of Portugal. Blood and tissues samples of 177 animals (64 live and 113 dead) were collected in three wildlife rehabilitation centres of Portugal: Wildlife Rehabilitation and Research Centre of Ria Formosa (between 15th August 2018 and 23th February 2019), Wildlife Rehabilitation Centre of Lisbon (between 11th June 2018 and 18th May 2019) and University of Trás-os-Montes and Alto Douro Veterinary Teaching Hospital – Wildlife Rehabilitation Centre (between 18th December 2018 and 16th May 2019). Tissue samples were tested for WNV (n=167) and USUV (n=168) by real-time RT-PCR and RT-PCR, for influenza A virus (n=148) by real-time RT-PCR and for AAv-1 (n=168) by RT-PCR and RT-PCR. Two Eurasian collared doves (*Streptopelia turtur*) (1.13%) and one Lesser black-backed gull (*Larus fuscus*) (0.67%) were positive for AAv-1. All the Eurasian collared doves mentioned before were caught in Algarve region and the Lesser black-backed gull was caught in Seixal. The AAv-1 present in one of the Eurasian collared doves had a RRQKR*F sequence in the fusion protein cleavage site, having the potential to be highly virulent for chickens (*Gallus gallus domesticus*). The tissue samples were all negative for WNV, USUV and influenza A viruses. Plasma samples were tested for WNV antibodies by seroneutralization test. Eleven (18.33%) out of 60 samples were positive for WNV neutralizing antibodies.