

Tumori trasmissibili: cosa sono e con quali meccanismi agiscono?

Solitamente siamo soliti attribuire al cancro una causa di tipo genetica con modalità "nascita, sviluppo, azione" direttamente derivata da mutazioni non controllate delle stesse cellule dell'organismo interessato, limitata pertanto al singolo individuo; tuttavia, esistono anche casi che possono essere definiti "trasmissibili". Pur non esistendo una definizione univoca e consolidata di "tumore trasmissibile", si intende in linea generale una neoplasia che possa appunto propagarsi da un individuo affetto ad un altro individuo (solitamente della stessa specie), attraverso diversi meccanismi di trasmissione, come "inoculazione" di cellule contenenti oncogeni che resistono al sistema immunitario dell'ospite, oppure contagio con virus che possono condurre ad uno stadio cellulare di tipo tumorale. Si tratta di fatto di patologie relativamente nuove per la medicina, ma come si differenziano dai tumori autogeni e quali sono i meccanismi coinvolti che si attivano in questo processo?

Iniziamo con il dire che (a data attuale) tali neoplasie non sono state osservate come fenomeno endemico nei primati e tantomeno nell'uomo: a titolo accademico si documentano rarissimi casi sospetti, come un istiocitoma fibroso maligno trasmesso da un paziente al chirurgo ferendosi la mano durante un'operazione (uno studio del 1996 ha dimostrato che i due tumori erano geneticamente identici), o una altrettanto sospetta trasmissione di cellule cancerogene da madre con patologia oncologica al suo feto. In base a questi casi si presume che una neoplasia possa, in condizioni eccezionali, migrare anche negli esseri umani. Si tratta comunque di situazioni a data attuale ritenute uniche, pertanto il rischio di una trasmissione tumorale "occasionale" diretta umana da individuo a individuo è sicuramente da scartare.

Diversamente accade per altre specie animali: infatti, anche se rimane un fenomeno raro, sono state rilevate sintomatologie che hanno portato all'individuazione di neoplasie trasmissibili in specie come canidi, alcuni felini, Chelonidae (tartarughe marine), cervi e *Sarcophilus harrisii* (il cosiddetto "Diavolo della Tasmania"). Tuttavia, la causa dei tumori trasmissibili varia da specie a specie: ad esempio, il tumore venereo dei cani si trasmette attraverso il contatto sessuale, mentre il tumore facciale del Diavolo della Tasmania si diffonde attraverso il contatto fisico diretto. In tutti questi casi la ricerca scientifica ha diviso in due gruppi tali patologie:

- L'agente trasmissivo del cancro è costituito da cellule tumorali, che riescono a "migrare" da un animale ad un altro. Si può quindi definire trasmissione di malattia in modo diretto, ovvero un individuo "malato" trasferisce cellule tumorali che ad un altro durante il contatto.

- L'agente trasmissivo tumorale è costituito da un virus, che per molteplici fattori riesce ad indurre condizioni degenerative nelle cellule con cui è a contatto. Si può parlare in questo caso di trasmissione indiretta, ovvero l'individuo "infetto" non trasmette di per sé la malattia, ma solo l'agente patogeno che però determina un decorso di tipo oncologico.

Una differenziazione dovuta, poiché cambiano sostanzialmente i meccanismi d'azione. Come interesse scientifico, i casi più studiati sono stati quelli dei canidi e dei *Sarcophilus harrisii*, in quanto appartenenti alla categoria di cellule cancerogene migratorie.

Il “Canine Transmissible Veneral Tumor” nei canidi:

Nei canidi il CTVT può interessare tutte le sottospecie, ovvero anche le volpi, i coyote, i licaoni, i dingo, i lupi e altri canini selvatici, nonché i cani domestici. Infatti, una delle teorie riguardanti la sua origine suggerisce che questa malattia sia stata originariamente trasmessa da un antenato comune dei canidi, e si sia poi evoluta in una forma diversa in ciascuna specie attraverso le mutevoli condizioni ambientali, come habitat geografico, densità di popolazione, interazione del branco. Tuttavia si ritiene che i cani domestici siano stati esposti più frequentemente al CTVT rispetto ai canini selvatici, a causa del loro stretto contatto con altri cani e delle pratiche riproduttive.

Il CTVT è un tumore trasmissibile diretto causato da una singola linea cellulare tumorale, caratterizzata da mutazioni a livello genetico che la rendono resistente al sistema immunitario, tanto nell'organismo originario, quanto nell'ospite contagiato: come linea cellulare unica ci si riferisce a una popolazione di cellule tumorali che derivano da una singola cellula originale, ossia la cellula progenitrice che si è diffusa attraverso il contatto sessuale con un cane infetto. Le cellule del CTVT sono identiche morfologicamente e condividono gli stessi tratti genetici, in quanto sono tutte derivate da una singola cellula maligna.

Tra i geni coinvolti nel CTVT, è stato identificato il gene MHC (Major Histocompatibility Complex), che regola la risposta immunitaria del cane contro le cellule tumorali. Il fatto che i tumori CTVT siano in grado di eludere la risposta immunitaria dell'ospite suggerisce che queste cellule tumorali potrebbero essere in grado di sopprimere l'attività del sistema immunitario e quindi lasciando libera la massa tumorale di proliferare. Inoltre, è stato scoperto che i tumori CTVT presentano una maggiore espressione di geni coinvolti nella proliferazione cellulare, come il gene inibitore della chinasi ciclica 2A (CDKN2A). Questa maggiore attivazione dei geni della proliferazione potrebbe essere responsabile dell'elevata capacità di crescita dei tumori CTVT. Si presenta anche una mutazione specifica nel gene PDGFR- α (Platelet-Derived Growth Factor Receptor alpha), noto per regolare la crescita cellulare e la differenziazione. Questa mutazione potrebbe essere responsabile dello sviluppo di tale neoplasia proprio nei tessuti coinvolti nell'attività sessuale, o negli organi genitali, poiché il recettore PDGFR- α è espressamente attivo in queste zone. In base a quanto detto sopra, la malattia si trasferisce quindi sessualmente, tramite fluidi corporei che incorporano tale mutazione e riescono, evitando il sistema immunitario, a trasferirsi nell'ospite e continuare la loro riproduzione. Tuttavia il coinvolgimento specifico di questi geni nel progresso del CTVT non è ancora completamente noto e necessita di ulteriori studi.

A livello patologico si tratta di un tumore solitamente a carattere benigno, ovvero non presenta metastasi e raramente si diffonde in altre parti del corpo del cane. I sintomi del CTVT includono la comparsa di noduli nella zona genitale del cane, che possono diventare più grandi con il passare del tempo. Sebbene il CTVT sia una patologia che possa generare preoccupazione ed i noduli possono ingrossarsi al punto da divenire dolorosi, sanguinare o causare problemi di

urinazione o defecazione. La neoplasia può essere trattata con successo tramite chemioterapia o mediante rimozione chirurgica del tumore, determinando una prognosi generalmente buona, con un tasso di guarigione vicino al 90% normalmente senza recidiva. Tuttavia è importante che si adottino un sistema di controllo delle abitudini dell'animale nell'interazione con i suoi simili, volte alla prevenzione del verificarsi di nuove situazioni a rischio che possono riportare la patologia. A data attuale non è stato sviluppato alcun vaccino, anche in considerazione dell'efficacia che il trattamento chirurgico e chemioterapico offre.

Il “Devil Facial Tumour Disease” nei *Sarcophilus harrisii*:

Un altro caso noto di tumore trasmissibile diretto è quello del tumore facciale (DFTD) del *Sarcophilus harrisii*, o diavolo della Tasmania. Questo marsupiale, autoctono della Tasmania, ha subito un forte declino demografico a causa di tale patologia. In particolare, il DFTD colpisce il tessuto molle del viso, tramite proliferazione di una neoplasia aggressiva che impedisce meccanicamente all'animale di nutrirsi, al punto che la morte diviene spesso inevitabile. Anche in questo caso è causato da una singola linea cellulare tumorale che si replica all'interno dell'organismo dell'ospite: in particolare è caratterizzata da una regione genica mutata, che è stata identificata nella modifica del gene “TP53” ed anche in questo caso tale mutazione consente alle cellule tumorali di sopravvivere nonostante la risposta immunitaria dell'individuo ospite, impedendo così la loro distruzione. Nel dettaglio il gene “TP53” codifica per una proteina nota come p53, che in molti organismi promuove la morte programmata delle cellule (nota come apoptosi). Si ritiene che l'assenza di tale proteina renda quindi le cellule più resistenti alla morte, non eliminando più quelle danneggiate nell'organismo: tale mancanza compromette quindi la capacità del sistema immunitario di rilevare e distruggere le cellule tumorali, consentendo loro di diffondersi nel corpo e di essere trasmesse ad altri membri della colonia. Secondo i dati attuali è possibile che l'assenza della proteina p53 possa anche alterare l'espressione di altri geni coinvolti nella regolazione della divisione e morte cellulare, favorendo così proliferazioni tumorali, ma studi in merito sono ancora in corso. A differenza del CTVT, la mutazione consente alle cellule malate di continuare a replicarsi e a diffondersi, contribuendo così alla progressione del cancro tanto che il DFTD è diventato una malattia endemica della specie del diavolo della Tasmania, a tal punto da ridurre del 90% la sua popolazione.

Recentemente un vaccino sperimentale è stato sviluppato da un team di ricerca dell'Università della Tasmania in Australia. Tale procedura usa un adenovirus come vettore nel quale è stata aggiunta la sequenza virale specifica. Il vaccino è stato testato in laboratorio su cellule tumorali e su alcuni animali. Secondo gli scienziati, il vaccino ha dimostrato di attivare il sistema immunitario degli animali e di rendere le cellule tumorali vulnerabili al loro attacco. Ovviamente siamo ancora al primo stadio e ci vorranno anni per valutarne l'efficacia sia a breve che a lungo termine.

Il “Feline Leukemia Virus” nei felini:

il Virus del Tumore del Gatto, che da luogo a neoplasie nei felini, è stato identificato in tre specie di felidi selvatici: il gatto della giungla, il leone ed il giaguaro. Questo causa l'alterazione dei tessuti e la successiva proliferazione incontrollata di tali cellule tumorali. Il virus si trasmette principalmente attraverso il contatto salivare diretto, ma può anche essere trasmesso attraverso il latte materno e il sangue infetto. La patologia tumorale è stata ricondotta a mutazioni in alcune proteine cellulari importanti che regolano il processo di divisione cellulare. Ad esempio, nei gatti della giungla è stato associato alla già citata mutazione nel gene “TP53”, coinvolto nei processi di apoptosi e riparazione del DNA (analogamente a quanto accade al diavolo della Tasmania). Questa mutazione causa anche un aumento della suscettibilità agli agenti cancerogeni. Nel giaguaro, è stato associato ad una mutazione nel gene TMEM154 che codifica per una proteina coinvolta nella modulazione della risposta immunitaria. Questa mutazione causa una compromissione del sistema immunitario che aumenta la suscettibilità alla formazione di massa neoplasica. A lungo termine questa condizione clinica può causare diverse patologie, tra cui la formazione di tumori nel sistema nervoso centrale, nel tratto gastrointestinale, nei linfonodi e nella cute. In più la condizione può presentarsi asintomatica per lungo tempo, pertanto la diagnosi specifica si rivela a volte difficile.

A livello di prognosi esiste un vaccino disponibile per il Feline Leukemia Virus (FeLV). Il vaccino può essere somministrato a partire dalle 8 settimane di età e richiede un ciclo iniziale di due dosi distanziate di tre o quattro settimane l'una dall'altra. Dopo il ciclo iniziale, i felini devono essere vaccinati nuovamente ogni anno per mantenere l'immunità. Tuttavia, il vaccino non è efficace al 100% nella prevenzione dell'infezione e della trasmissione del virus. Alcuni esemplari possono ancora contrarre il FeLV nonostante la vaccinazione, ma l'infezione tende ad essere meno grave in questi casi.

Il “Turtle Tumor-Associated Virus - Chelonid herpesvirus 5” nelle tartarughe:

Il Chelonid herpesvirus 5 è un virus che causa tumori nella pelle e nei tessuti molli delle tartarughe marine. Sebbene gli studi siano ancora in corso, il ChHV5 sembra agire attraverso l'attivazione di una serie di oncogeni, come il gene v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog (MYC), il gene del fattore di crescita FGFR1 e il gene N-myc downstream-regulated 1 (NDRG1). Questi possono a loro volta interagire con altri fattori di trascrizione per regolare il ciclo vitale della cellula e contribuire alla crescita del tumore. Questo virus si trasmette attraverso il contatto diretto tra tartarughe e può causare la formazione di tumori sulla pelle, negli occhi, nelle pinne e in altri organi interni delle tartarughe marine, che poi vengono diffusi agli altri esemplari. Il contagio agisce infiltrandosi nelle cellule del sistema immunitario delle tartarughe, dove si replica e causa danni ai tessuti sani, compromettendo il sistema immunitario stesso e promuovendo la proliferazione di cellule tumorali nell'organismo.

Inoltre, il virus può diventare latente all'interno delle cellule e riattivarsi in seguito in momenti di stress o quando il sistema immunitario è debole, causando recidive.

Tra le specie a rischio, la malattia è stata osservata principalmente nella tartaruga verde (*Chelonia mydas*), ma può verificarsi anche in altre tartarughe marine come la tartaruga embricata (*Eretmochelys imbricata*) e, meno comunemente, nella Tartaruga dal becco di falco (*Caretta caretta*, presente anche nel mediterraneo).

I tumori causati dal virus ChHV5 sono generalmente molto aggressivi e possono diffondersi rapidamente in tutto il corpo dell'animale. Questo porta a una ridotta capacità di nutrirsi e muoversi correttamente, aumentando il rischio di infezioni e altre complicazioni. Pertanto, la prognosi per un animale affetto da ChHV5 non è molto favorevole ed in assenza di una terapia di supporto che garantisca una corretta alimentazione ed igiene le speranze di vita sono limitate.

Attualmente non esiste un vaccino disponibile per prevenire l'infezione da ChHV5, in quanto si tratta di un virus molto complesso e mutevole. A titolo accademico, il genoma del virus è stato sequenziato ed è composto da una molecola di DNA a doppio filamento circolare che contiene circa 200.000 paia di basi. La possibilità di realizzare un vaccino sembra ancora lontana, sebbene i ricercatori stiano lavorando attivamente nel comprendere a fondo tutti i processi di funzionamento ed attivazione del virus stesso.

Il "Chronic Wasting Disease" nei cervi:

Il tumore trasmissibile dei cervi (CWD) è causato da un prione anomalo, una proteina patogena presente nelle cellule del cervo. In particolare, tale proteina una conformazione alterata della proteina prionica (PrP) endogena del cervo. Una PrP è un tipo di proteina cellulare che si trova nella maggior parte dei tessuti mammiferi e svolge un ruolo importante nella fisiologia del sistema nervoso centrale. Questa viene prodotta dalle cellule dell'organismo in una forma "salvaguardata" e solitamente non causa alcun problema. Tuttavia, in alcuni casi rari, si verifica una mutazione o una anomalia, alterandone la conformazione, chiamata proteina prionica anormale o PrP^{Sc}. La forma mutata integra la proprietà di autoaggregazione e di resistenza alle normali difese cellulari. Quando entra in contatto con la sua controparte in forma non modificata, la proteina anomala ne induce un cambiamento di conformazione che, a sua volta, comporta la formazione di aggregati proteici anomali e dannosi per il sistema nervoso. La presenza delle proteine prioniche anormali è associata all'insorgenza di numerose patologie neurodegenerative, causando lesioni cerebrali anche estese.

La trasmissione avviene tramite contatto diretto con esemplari infetti durante gli accoppiamenti, la lotta nella stagione riproduttiva o il foraggiamento. La malattia può essere trasmessa attraverso i fluidi corporei, come la saliva, le feci e le urine, che possono contaminare il terreno e l'acqua, favorendone la diffusione: il CWD può infatti essere trasmesso anche attraverso il consumo di erba o piante contaminati. Si sospetta anche che la trasmissione del

CWD possa avvenire indirettamente attraverso vettori come zanzare, mosche, pulci e altri parassiti. La malattia può diffondersi rapidamente nelle popolazioni di cervi selvatici, con una trasmissione sostenuta che può persistere per anni anche in assenza di casi conclamati.

Non esiste attualmente una terapia o una cura, in quanto le proteine anomale che causano la patologia non rispondono ai normali trattamenti farmacologici. La prognosi per gli animali infetti dalla CWD è generalmente infausta, poiché la malattia progredisce lentamente ma inevitabilmente portando alla morte dell'animale. I sintomi della malattia possono includere perdita di peso, diminuzione dell'appetito, comportamento anormale, difficoltà con la deambulazione, tremori e altri problemi neurologici. Gli animali affetti dalla CWD generalmente muoiono entro uno o due anni dall'infezione. Attualmente non esiste un vaccino per prevenire la malattia del cervo trasmissibile o altre malattie da prioni, lasciando alla prevenzione l'unica strategia utile per la diffusione della malattia: questa si basa principalmente sulla sorveglianza delle popolazioni di cervi e l'implementazione di misure di bio-sicurezza, ovvero eliminazione di individui infetti e relativa decontaminazione del terreno a rischio.

Differenze ed analogie fra tumori autogeni e trasmissibili:

A questo punto si possono stilare più in dettaglio le principali differenze fra queste due tipologie tumorali: I tumori autogeni sono il risultato di mutazioni genetiche nelle cellule stesse degli organi o dei tessuti dell'organismo colpito. I tumori trasmissibili, invece sono per lo più tessuti tumorali che vengono poi trasmessi da un individuo ad un altro.

Nonostante le evidenti differenze nella loro eziologia, i tumori autogeni e trasmissibili presentano alcune analogie, specialmente riguardo alla loro fisiopatologia e gli effetti sulle cellule o sui tessuti dell'organismo. In primo luogo, entrambi sono caratterizzati dalla crescita cellulare incontrollata, con la differenza fondamentale che i tumori autogeni sono originati all'interno dell'organismo colpito da mutazioni genetiche o epigenetiche che alterano la crescita e la differenziazione delle cellule, mentre in quelli trasmessi la massa neoplasica viene "immessa" già mutata da un soggetto portatore ad un altro.

Analogie: in tutti i tipi di neoplasie le mutazioni possono essere causate da fattori interni, come l'etnia, l'età, il genere dell'individuo ed il proprio genoma, oppure da fattori esterni, come l'esposizione a radiazioni ionizzanti, sostanze tossiche o inquinamento ambientale. Fattori che agiscono danneggiando il DNA delle cellule, causando mutazioni genetiche che, in alcuni casi, possono portare alla formazione di tumori. La crescita cellulare può divenire incontrollata, portando quindi alla compressione o alla distruzione di tessuti e organi limitrofi, oltre all'ulteriore diffusione delle cellule tumorali, con la possibilità di infiammazioni croniche nelle zone interessate o nell'intero organismo colpito, nonché sviluppare adattamento e resistenza agli anticorpi. L'infiammazione è una risposta naturale dell'organismo a lesioni, infezioni o (nei casi oncologici) in risposta a tessuti riconosciuti "non compatibili" (come quelli costituiti da cellule tumorali non proprie dell'ospite), ma se diventa cronica può creare un ambiente

favorevole alla proliferazione delle cellule alterate stesse. I tumori in generale possono quindi innescare un'inflammatione continua producendo sostanze pro-infiammatorie, come le citochine, che attivano il sistema immunitario: nello specifico le citochine sono delle molecole proteiche che il sistema immunitario produce in risposta ad un'inflammatione o infezione. Esse hanno un ruolo comunicativo tra le cellule del sistema immunitario e sono coinvolte in molte funzioni dell'organismo, tra cui l'attivazione dei globuli bianchi e la regolazione della risposta immunitaria contro l'inflammatione. Esistono diverse tipologie di citochine, tra cui l'interleuchina (IL), il fattore di necrosi tumorale (TNF), l'interferone (IFN) e la chemochina (CXCL). Ognuna di esse ha un ruolo specifico nel coordinamento della risposta immunitaria. Le citochine possono essere prodotte da diversi tipi di cellule, tra cui i macrofagi, le cellule dendritiche, i linfociti T e B e diversi tipi di cellule stromali, regolando di fatto l'intero sistema immunitario per eliminare l'agente patogeno o il tessuto danneggiato. Tuttavia, anche l'eccesso di citochine può causare danni all'organismo: un'eccessiva produzione può infatti danneggiare i tessuti sani circostanti e portare a malattie autoimmuni (come avviene con l'artrite reumatoide o il morbo di Crohn).

Differenze: la principale differenza riguarda la genesi del tumore e la natura dell'agente causale. I tumori trasmissibili sono infatti generalmente causati dalla proliferazione cellulare incontrollata di un qualcosa proveniente dall'esterno (analogamente a quanto avviene con virus, batteri o parassiti). Come detto prima è sottile la linea divisoria se comparati con altri processi "infettivi", dato che il comportamento è analogo, ovvero non essendo proteine compatibili con la sequenza genetica dell'organismo in cui sono entrate, vengono attaccate dal sistema immunitario come un qualsiasi corpo biologico estraneo, scatenando in alcuni casi quindi una risposta immunitaria eccessiva e nociva, oppure inibendo per propria natura la risposta immunologica stessa. In tutti questi casi, quando una risposta immunitaria è inefficace, non si riesce a debellare l'agente patogeno (virale o tumorale che sia), il quale continua la sua riproduzione, propagandosi dove riesce. Questa fondamentale differenza è importante per capire che non è la sequenza genetica dell'organismo bersaglio ad essere a rischio, ma gli effetti della propagazione che questo corpo estraneo ha sui tessuti o negli organi con cui agisce.

Trattamenti in questo tipo di patologie:

Proprio per la diversità di formazione di tali neoplasie che quindi:

- non sono derivate dal patrimonio genetico dell'animale, ma da cellule tumorali "parassitarie" importate dall'esterno;
- sono a volte causate da virus che determinano stadi tumorali, per i quali si rende necessario un approccio ben diverso da quello classico oncologico;
- la trasmissione avviene attraverso il contatto fisico tra gli animali, come accade naturalmente in tutte le specie sopracitate, facendo ricadere in un circolo senza fine il soggetto a rischio, in

quanto anche se guarito con l'aiuto di terapie esterne, rimane continuamente a rischio di nuove ricadute, non essendo in grado autonomamente di debellare la malattia;

la ricerca scientifica si è quindi concentrata su altre strategie, che mirano a rafforzare il sistema immunitario dei soggetti interessati o a correggere i deficit causati da eventuali geni alterati nel tumore stesso: ad esempio nel caso del DFTD del diavolo della Tasmania si è provato ad utilizzare la proteina p53 che, come detto precedentemente, è spesso disattivata in questo quadro patologico. È stato ipotizzato che l'uso di questa proteina potrebbe stimolare il sistema immunitario a riconoscere e distruggere le cellule tumorali. Un'altra strategia di ricerca è stata quella di utilizzare il cosiddetto "trapianto immunitario", ovvero il trapianto di cellule immunitarie da animali resistenti ai tumori trasmissibili a quelli malati. Tuttavia, questa tecnica presenta problemi legati alla compatibilità dei tessuti e alla capacità delle cellule del donatore di eliminare completamente le cellule tumorali dell'ospite. La strada vaccinale è percorribile, come nel FeLV felino, ma non priva di ostacoli, come nel caso del diavolo della Tasmania.

Concludendo, non ci sono prove certe, a data attuale, se queste strade porteranno ai risultati sperati, anche per il fatto che si tratta di scoperte recenti, risalenti a poche decine di anni fa, il che le pone su un piano relativamente nuovo sia da un punto di vista biologico che farmaceutico.

Bibliografia:

- Hannah V Siddle, Jim Kaufman: "Tumour transmission studies reveal mechanisms of immunoevasion in Tasmanian devils and HLA diversity in humans"
- Chand Khanna: "Cancer in Dogs, Cats, and Domestic Animals: New Advances in Detection and Treatment"
- Murgia C, Pritchard JK, Kim SY, Fassati A, Weiss RA: "Clonal origin and evolution of a transmissible cancer"
- Katherine Belov: "Contagious cancer: lessons from the devil and the dog"
- Torres AN, Girard N, Tandon R: "Feline leukemia virus infection and associated diseases"
- Michael J. Metzger, Carol Reinisch, James Sherry, Stephen P. Goff: "Horizontal Transmission of Clonal Cancer Cells Causes Leukemia in Soft-Shell Clams"
- Stöhr, A.C., López-Bueno, A., Blahak, S., Caeiro, M.F., Rosa, G.M., Alves de Matos, A.P., Gjessing, M.C., Christoffersen, M., Alejo, A., & Marschang: "Phylogeny and differentiation of reptilian and amphibian alphaherpesviruses and comparison of their glycoprotein B to those of mammalian herpesviruses"
- Detwiler, L. A., Baylis, M., Greenlee, J.: "The epidemiology of chronic wasting disease: a brief overview and implications for wildlife and livestock"
- US Department of Agriculture (USDA): "Chronic Wasting Disease: A guide to hunters in the containment zone. Animal and Plant Health Inspection Service"

Trasmissibilmente vostro... Mike Yoshi